

Сравнительная эффективность аппликационных гемостатических средств местного действия при остановке экспериментального паренхиматозного и артериального кровотечения

В.В. ДАВЫДЕНКО¹, Т.Д. ВЛАСОВ¹, И.Н. ДОБРОСКОК¹, Е.Н. БРАЖНИКОВА²,
Н.М. ЗАБИВАЛОВА²

Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, ул. Льва Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, 197089, Российская Федерация¹

ООО «Инмед», ул. Киришская, д. 2А, Санкт-Петербург, 195299, Российская Федерация²

Актуальность Остановка кровотечения при ранениях и оперативных вмешательствах на паренхиматозных органах и кровеносных сосудах - важная проблема хирургии. Инновационный подход в решении этой задачи - использование аппликационных гемостатических средств местного действия. Такие средства представлены в России зарубежными производителями и отечественными разработками, но сравнительная оценка их эффективности мало изучена, что делает актуальным исследование в этом направлении.

Цель исследования Сравнить в эксперименте на моделях паренхиматозного и артериального кровотечений эффективность отечественного аппликационного гемостатического средства «Гемофлекс® Про» с зарубежными аналогами

Материалы и методы На моделях экспериментального паренхиматозного и артериального кровотечений у крыс проведён сравнительный анализ эффективности действия гемостатического средства «Гемофлекс® Про» (ООО «Инмед», РФ) и средств «Surgicel® Nu-knit» (Johnson & Johnson, США), «TachoComb®» (Nycomed Austria GmbH, Австрия), «Celox™ Gauze Hemostat» (MedTrade Products Ltd, Великобритания).

Результаты и их обсуждение Проведённый в работе сравнительный анализ действия гемостатических средств в эксперименте на животных указывает на близкие показатели времени кровотечения и массы кровопотери отечественного и зарубежных аппликационных гемостатиков при моделировании экспериментального паренхиматозного кровотечения. Средство «Гемофлекс® Про» обладало лучшим гемостатическим эффектом при моделировании экспериментального артериального кровотечения из раны брюшного отдела аорты. Так же доказано выраженное бактерицидное действие «Гемофлекс® Про», его быстрая биодеградация, отсутствие влияния на образование спаечного процесса при использовании его в брюшной полости.

Выводы Отмечен схожий гемостатический эффект при сравнении действия «Гемофлекс® Про» с гемостатическими средствами «Surgicel® Nu-knit», «TachoComb®» и «Celox™ Gauze Hemostat». Кроме того, зарегистрировано бактерицидное действие гемостатического средства «Гемофлекс® Про» по отношению к *E.coli*, *S.aureus*, *S.pyogenes*, *C.albicans*, *Myc. smegmatis*.

Ключевые слова Аппликационное гемостатическое средство, «Гемофлекс® Про», паренхиматозное кровотечение, артериальное кровотечение, моделирование

Competitive Efficiency of Local Application Hemostatic Agents in Experimental Parenchymatous and Arterial Bleeding Control

V.V. DAVYDENKO¹, T.D. VLASOV¹, I.N. DOBROSKOK¹, E.N. BRAZHNIKOVA², N.M. ZABIVALOVA²

First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, 6/8 L'va Tolstogo Str., Saint-Petersburg, 197089, Russian Federation¹

Inmed LLC, 2A Kirishskaia Str., Saint-Petersburg, 195299, Russian Federation²

Relevance Bleeding control in case of injury and surgery on parenchymatous organs and blood vessels is a serious challenge for surgery. Use of local application hemostatic agents is an innovative solution. Such agents are represented in Russia by foreign producers and Russian developments, but comparative evaluation of their efficiency is poorly known, that makes such research highly relevant.

The purpose of the study To compare efficiency of the Russian application hemostatic agent «Hemoflex® Pro» with foreign analogues on the models of parenchymatous and arterial bleeding.

Materials and methods Comparative efficiency analysis of hemostatic agent «Hemoflex® Pro» (LLC Inmed, RF) and agents «Surgicel® Nu-knit» (Johnson & Johnson, USA), «TachoComb®» (Nycomed Austria GmbH, Austria), «Celox™ Gauze Hemostat» (MedTrade Products Ltd, Great Britain) was carried out on the model of experimental parenchymatous and arterial bleeding of rats.

Results and their discussion Conducted comparative analysis of hemostatic agents in experiment on animals shows close time values of bleeding and blood loss of Russian and foreign application hemostatic agents by simulation of experimental parenchymatous bleeding. The agent «Hemoflex® Pro» showed better hemostatic effect by simulation of experimental arterial

© В.В. Давыденко, Т.Д. Власов, И.Н. Доброскок, Е.Н. Бражникова, Н.М. Забивалова. Сравнительная эффективность аппликационных гемостатических средств местного действия при остановке экспериментального паренхиматозного и артериального кровотечения. Вестник экспериментальной и клинической хирургии, 2015; 8: 2: 186-194. DOI: 10.18499/2070-478X-2015-8-2-186-194

bleeding from a wound in aorta abdominal region. It also proved bactericidal action of «Hemoflex® Pro», its rapid bio degradation, lack of influence on formation of adhesive process in case of its use in abdominal region.

Conclusion Research marked similar hemostatic effect comparing action of «Hemoflex® Pro» with hemostatic agents «Surgicel® Nu-knit», «TachoComb®» and «Celox™ Gauze Hemostat». Moreover it registered bactericidal action of hemostatic agent «Hemoflex® Pro» against *E.coli*, *S.aureus*, *S.pyogenes*, *C.albicans*, *Myc. smegmatis*.

Keywords Application hemostatic agent, «Hemoflex® Pro», parenchymatous bleeding, arterial bleeding, simulation

Одной из проблем в современной хирургии является остановка кровотечения при ранениях, вызванных травмой или операционным повреждением паренхиматозных органов (печень, селезенка, почка и др.), а также при интраоперационных ранениях крупных артериальных сосудов, в том числе из проколов при наложении сосудистых швов, особенно в условиях искусственной гипокоагуляции пациента [11,21]. Как известно, в хирургии для достижения местного гемостаза используются различные методы: а) механические способы: тампонада, лигирование, ручной или скрепочный шов, клипирование б) термокоагуляция: электрокоагуляция, фотокоагуляция, лазерная, ультразвуковая, радиочастотная, микроволновая, аргоноплазменная коагуляция и т.д. в) химические способы: аппликационные гемостатические средства. В отношении указанных выше ситуаций наиболее перспективным является топическое использование аппликационных гемостатических средств [6,9], при этом состав таких средств определяет механизм и эффективность гемостаза. Так, например, гемостатическое действие средств на основе цеолита («QuikClot® Zeolite Granular», Z-Medica Corporation, США; «Гемостоп™», ФГУП НПЦ «Фармзащита», РФ), смектита («WoundStat®», TraumaCure Inc., США) [1, 2, 8, 15, 26] и экстрактов растений («Полигемостат», ООО «Технопарк-Центр», РФ; «Ankaferd Blood Stopper®», Ankaferd Health Products Ltd, Турция) [20] связано с локальной концентрацией клеточных и белковых компонентов крови, факторов свертывания, инициирующих формирование кровяного сгустка. Гемостаз средств на основе синтетических клеев обусловлен механическим закрытием дефекта в стенке сосуда адгезивной синтетической пленкой [13]. Гемостатические средства, содержащие окисленную регенированную целлюлозу («Surgicel® Nu-knit», Johnson & Johnson Ethicon LLC, США) [12], при контакте с кровью инициируют создание кислой среды (pH 2,5-3,0), в которой собственные тромбоциты и разрушившиеся эритроциты, выделившие кислый гематин, выступают в роли каркаса для образования тромбоцитарного сгустка. Еще одна группа представлена гемостатиками на основе прокоагулянтов животного и человеческого происхождения: «TachoComb®» (Nycomed Austria GmbH, Австрия), «TachoSil®» (Nycomed Austria GmbH & Baxter International Inc, США) [3,10]; клеи, содержащие фибрин и тромбин: «Evicel® Fibrin Sealant» (Johnson & Johnson, США), «Tisseel», «Tissucol® Kit» [19,23], «Flo seal Hemostatic Matrix» (Baxter International Inc, США) [14] и др.

Одними из наиболее перспективных являются аппликационные гемостатические средства на основе хитозана - природного полисахарида, получаемого из хитина панцирей ракообразных и некоторых растений. Макромолекулы хитозана состоят из мономеров N-ацетил-1,4-β-D-глюкозамина, свободные аминогруппы которых при взаимодействии с ионами водорода приобретают положительный заряд. Гемостатическое действие хитозана вызвано адгезией и агрегацией отрицательно заряженных с наружной поверхности клеток крови (прежде всего эритроцитов) на положительно заряженных макромолекулах [17, 25, 28], при этом образуется гелеобразный сгусток, закрывающий зону повреждения в сосуде. Таким образом остановка кровотечения при использовании гемостатических средств, содержащих хитозан («Celox™ Gauze Hemostat», MedTrade Products Ltd, Великобритания; «HemCon® Bandage Pro», HemCon Medical Technologies Inc, США) [16, 22, 24], может быть эффективна даже у лиц с гипокоагуляцией.

Наиболее эффективные гемостатические изделия представлены зарубежными производителями, однако многие из них официально не зарегистрированы и не сертифицированы к использованию в РФ. С этих позиций создание и промышленное производство эффективного отечественного аппликационного средства для местного хирургического гемостаза представляется особо актуальным. Новое гемостатическое средство «Гемофлекс® Про» на основе хитозана разработано ООО «Инмед» (г. Санкт-Петербург).

Цель данного исследования состояла в оценке эффективности применения средства «Гемофлекс® Про» на модели экспериментального паренхиматозного и артериального кровотечения у крыс при сравнении с известными зарубежными гемостатическими средствами, а также изучении антимикробной активности средства «Гемофлекс® Про».

Материалы и методы

Исследования выполнены на крысах-самцах линии Вистар (возраст 17-18 недель, вес 270-300 г на момент операции). Эксперименты проведены согласно требованиям этического комитета. Все эксперименты выполнялись под анестезией: крысам внутривенно вводили хлоралгидрат в дозе 430 мг/кг в виде 4,3 % раствора (объем введения 10 мл/кг). Кожу на передней брюшной стенке депилировали. Выведение животных производили путем декапитации под наркозом с использованием хлоралгидрата.

Исследование проведено при сравнительном анализе эффективности действия гемостатического средства «Гемофлекс® Про» (ООО «Инмед», РФ) и средств «Surgicel® Nu-knit» (Johnson & Johnson, США), «TachoComb®» (Nycomed Austria GmbH, Австрия), «Celox™ Gauze Hemostat» (MedTrade Products Ltd, Великобритания) на модели экспериментального паренхиматозного и артериального кровотечения у крыс.

Моделирование паренхиматозного кровотечения из раны почки, печени и селезёнки крысы проводилось по методике R.L. Warner с соавт. [27]. У наркотизированных животных выполнялась срединная

лапаротомия. К органу плотно прикладывалась стерильная металлическая пластинка (шаблон) с диаметром отверстия 9 мм (в случае почки), 6,5 мм (в случае печени), 6 мм (в случае селезёнки), выступающая через отверстие ткань органа тангенциально отсекалась лезвием бритвы. Указанные действия позволяют получать стандартную кровоточащую рану паренхимы печени, почки и селезёнки.

Моделирование артериального кровотечения из раны брюшного отдела аорты осуществлялось по методике L. Ferretti с соавт. [18]. У наркотизированных животных выполнялась срединная лапаротомия, про-

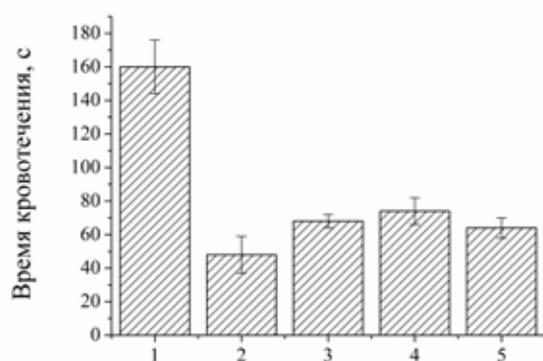


Рис. 1. Показатели времени кровотечения в исследуемых группах при моделировании экспериментального артериального кровотечения из раны брюшного отдела аорты крысы: 1- контрольная группа, 2- «Гемофлекс® Про», 3- «Surgicel® Nu-knit», 4-«TachoComb®», 5- «Celox™ Gauze Hemostat»; с- секунды. / **Fig. 1.** Indicators of bleeding time in the groups studied at modeling of experimental arterial bleeding from a wound abdominal aorta of rat: 1 control group, 2 "Gemofleks® Pro", 3- «Surgicel® Nu-knit», 4- «TachoComb®», 5- "Celox™GauzeHemostat"; c seconds.

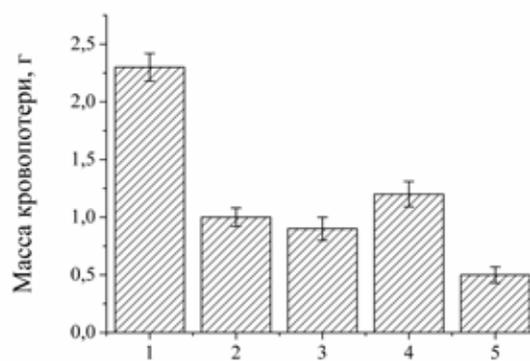


Рис. 2. Показатели массы кровопотери в исследуемых группах при моделировании экспериментального артериального кровотечения из раны брюшного отдела аорты крысы: 1 - контрольная группа, 2 - «Гемофлекс® Про», 3 - «Surgicel® Nu-knit», 4 - «TachoComb®», 5 - «Celox™ Gauze Hemostat»; г - граммы. / **Fig. 2.** Indicators of mass hemorrhage in the studied groups at modeling experimental arterial bleeding from a wound abdominal aorta of rat: 1 - control group, 2 - "Gemofleks® Pro", 3 - «Surgicel® Nu-knit», 4 - «TachoComb®», 5 - "Celox™GauzeHemostat"; g - grams.

Таблица 1

Показатели времени кровотечения и массы кровопотери (M±m) в исследуемых группах при моделировании экспериментального паренхиматозного кровотечения из раны печени, селезёнки и почки крысы

Группа	Масса животного, г	Время кровотечения, с	Масса кровопотери, г
Моделирование экспериментального паренхиматозного кровотечения из раны печени крысы			
Контрольная группа	212±11	40±4	1,7±0,10
«Гемофлекс® Про»	207±12	28±3	0,8±0,07
«Surgicel®Nu-knit»	205±8	18±3	0,2±0,06
«TachoComb®»	211±12	24±3	0,3±0,08
«Celox™Gauze Hemostat»	219±10	16±2	0,2±0,08
Моделирование экспериментального паренхиматозного кровотечения из раны селезёнки крысы			
Контрольная группа	223±11	122±16	1,3±0,11
Гемофлекс® Про	211±10	29±3	0,3±0,08
Surgicel®Nu-knit	213±13	15±2	0,2±0,06
TachoComb®	214±11	28±3	0,3±0,08
Celox™Gauze Hemostat	212±10	11±2	0,1±0,05
Моделирование экспериментального паренхиматозного кровотечения из раны почки крысы			
Контрольная группа	211±13	175±15	2,7±0,12
Гемофлекс® Про	206±11	71±6	1,2±0,08
Surgicel®Nu-knit	214±13	45±7	1,1±0,07
TachoComb®	210±12	37±4	0,7±0,08
Celox™Gauze Hemostat	214±12	49±5	0,9±0,10

изводилось выделение участка брюшного отдела аорты и иглой 25G производился прокол стенки аорты, что приводило к массивному артериальному кровотечению.

На раневую поверхность или рану аорты сразу после появления кровотечения накладывалось одно из аппликационных гемостатических средств (в виде пластины прямоугольной формы размером 1x1,5 см) или медицинская марля (в контрольной группе), полностью закрывая и перекрывая поверхность раны, далее осуществлялась пальцевая компрессия в течение 15 секунд.

Гемостатический эффект оценивался визуально путем регистрации времени от начала кровотечения до его полной остановки с помощью стандартного секундомера. После достижения гемостаза лапаротомический разрез закрывался в два слоя. Одновременно изучалась масса кровопотери: вся излившаяся из раны кровь удалялась из брюшной полости путем промокания сухими, предварительно взвешенными на медицинских весах марлевыми шариками, которые, после использования, повторно взвешивались на медицинских весах, разница между конечной и начальной массой шариков соответствовала массе кровопотери (в граммах). Для измерения массы кровопотери использовали весы ВЛР-2009 («Госметр», РФ), класс точности II по ГОСТ 24104-2001, абсолютная погрешность взвешивания по шкале $\pm 0,15$ мг. Для регистрации возможного рецидива кровотечения животные наблюдались в течение 6 часов прежде, чем помещались в клетки.

Для каждой модели кровотечения методом рандомизации формировали следующие группы животных (по 10 крыс в группе):

1) Контрольная группа – гемостаз осуществлялся прикладыванием к раневой поверхности медицинской марли;

2) Основная группа – гемостаз осуществлялся прикладыванием к раневой поверхности аппликационного гемостатического средства «Гемофлекс® Про»;

3) Группа сравнения – гемостаз осуществлялся прикладыванием к раневой поверхности аппликационного гемостатического средства «Surgicel®Nu-knit»;

4) Группа сравнения – гемостаз осуществлялся прикладыванием к раневой поверхности аппликационного гемостатического средства «TachoComb®»;

5) Группа сравнения – гемостаз осуществлялся прикладыванием к раневой поверхности аппликационного гемостатического средства «Celox™ Gauze Hemostat».

Половина крыс (модель экспериментального parenchymatous кровотечения из раны почки и модель экспериментального артериального кровотечения из раны брюшного отдела аорты) забивалась через 7 дней, остальные животные через 30 дней после процедуры. После вскрытия брюшной полости визуально оценивалось наличие или отсутствие остатков гемостатического средства, выраженность спаечного процесса, выполнялся забор тканей зоны аппликации для гистологической оценки. Гистологическое исследование проводилось после стандартной окраски тканей гематоксилин-эозином с использованием световой микроскопии.

Статистическая обработка результатов проводилась с помощью программы Statistica. Рассчитывалось среднее значение (M) и стандартное отклонение (m) показателей в каждой исследуемой группе (M \pm m). До-

Table 1

Indicators of bleeding time and hemorrhage mass (M \pm m) in the studied groups at modeling experimental parenchymal bleeding from wounds of the liver, spleen and kidney

Group	Weight	Bleeding time	Mass hemorrhage
Simulation experimental parenchymal bleeding from wounds of rat liver			
Control group	212 \pm 11	40 \pm 4	1,7 \pm 0,10
Гемофлекс® Про	207 \pm 12	28 \pm 3	0,8 \pm 0,07
«Surgicel®Nu-knit»	205 \pm 8	18 \pm 3	0,2 \pm 0,06
«TachoComb®»	211 \pm 12	24 \pm 3	0,3 \pm 0,08
«Celox™Gauze Hemostat»	219 \pm 10	16 \pm 2	0,2 \pm 0,08
Simulation experimental parenchymal bleeding from wounds of rat spleen			
Control group	223 \pm 11	122 \pm 16	1,3 \pm 0,11
Гемофлекс® Про	211 \pm 10	29 \pm 3	0,3 \pm 0,08
Surgicel®Nu-knit	213 \pm 13	15 \pm 2	0,2 \pm 0,06
TachoComb®	214 \pm 11	28 \pm 3	0,3 \pm 0,08
Celox™Gauze Hemostat	212 \pm 10	11 \pm 2	0,1 \pm 0,05
Simulation experimental parenchymal bleeding from a wound rat kidney			
Control group	211 \pm 13	175 \pm 15	2,7 \pm 0,12
Гемофлекс® Про	206 \pm 11	71 \pm 6	1,2 \pm 0,08
Surgicel®Nu-knit	214 \pm 13	45 \pm 7	1,1 \pm 0,07
TachoComb®	210 \pm 12	37 \pm 4	0,7 \pm 0,08
Celox™Gauze Hemostat	214 \pm 12	49 \pm 5	0,9 \pm 0,10

стоверность различия между средними показателями в группах определяли с помощью непараметрического критерия Вилкоксона-Манна-Уитни. Значение p менее 0,05 рассматривали в качестве значимого.

Для оценки специфического эффекта гемостатического средства «Гемофлекс® Про» сопоставлялись средние показатели ($M \pm m$) времени кровотечения и массы кровопотери между группой контроля, основной группой и группами сравнения.

Определение антибактериальной активности гемостатического средства «Гемофлекс® Про» проведено в Центре клинической микробиологии ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И.П.Павлова в соответствии с нормативными документами [4, 5, 7]. В исследовании использовали тест-культуры: *S. aureus* ATCC 29213, *E. coli* ATCC 25922, *S. pyogenes* клинический штамм, *C. albicans* ATCC 90028, *Muc. smegmatis* ATCC 437 RW. Микробная нагрузка составляла 104-103 КОЕ/мл. В стерильные пробирки вносили исследуемые образцы гемостатического средства, заливали 1 мл соответствующей тест-культуры и выдерживали при комнатной температуре в течение 3, 6, 8, 14, 24 и 48 часов. В указанные периоды времени отбирали пробы по 0,1 мл и высевали на соответствующие питательные среды, растирали шпателем и культивировали в течение суток, затем проводили учет выросших колоний культур. Параллельно проводили высевы культур из пробирок, не содержащих гемостатического средства (контроль).

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования для моделей экспериментального паренхиматозного кровотечения раны печени, почки, селезенки крысы представлены в табл. 1; результаты исследования для модели экспериментального артериального кровотечения из раны брюшного отдела аорты крысы представлены на рис. 1,2.

Полученные данные демонстрируют снижение средних показателей продолжительности кровотечения и массы кровопотери при использовании средства «Гемофлекс® Про» по отношению к показателям контрольной группы для всех моделей кровотечения из ран печени, почки, селезенки, аорты.

Статистический анализ показал достоверное ($p < 0,05$) различие между показателями. При этом эффективность средства «Гемофлекс® Про» была сопоставима с зарубежными гемостатическими средствами «Surgicel®Nu-knit», «TachoComb®», «Celox™ Gauze Hemostat»: не было выявлено статистически значимой разницы в показателях ($p > 0,05$).

При визуальном осмотре в зоне аппликации гемостатического средства «Гемофлекс® Про», и других сравниваемых гемостатических средств («Surgicel®Nu-knit», «TachoComb®», «Celox™ Gauze Hemostat») через 7 и 30 суток после их применения не выявлялось остатков изделия, но наблюдался умеренный спаечный процесс в зоне аппликации, сопоставимый по вы-

Таблица 2

Выраженность спаечного процесса в брюшной полости после применения гемостатических средств на модели артериального кровотечения из раны брюшного отдела аорты крысы и на модели паренхиматозного кровотечения из раны почки крысы

Период наблюдения	Контрольная группа	«Гемофлекс®Про»	«Surgicel®Nu-knit»	«Tacho Comb®»	«Celox™ Gauze Hemostat»
Модель артериального кровотечения из раны брюшного отдела аорты крысы					
7 суток	++	+	+	+	+
30 суток	+++	+++	+++	+++	+++
Модель паренхиматозного кровотечения из раны почки крысы					
7 суток	++	+	+	+	+
30 суток	+++	+++	+++	+++	+++

Примечание: - отсутствие спаечного процесса; + небольшое количество рыхлых спаек в зоне аппликации гемостатического средства; ++ рыхлые спайки в зоне аппликации гемостатического средства и в остальных отделах брюшной полости; +++ выраженные плотные спайки в зоне аппликации гемостатического средства; ++++ выраженные плотные спайки в зоне аппликации гемостатического средства и в остальных отделах брюшной полости.

Таблица 3

Антимикробная активность аппликационного гемостатического средства местного действия «Гемофлекс® Про»

Наименование культуры	Время контакта, ч						Контроль
	3	6	8	14	24	48	
<i>S. aureus</i>	н/р	н/р	н/р	н/р	н/р	н/р	480 кол.
<i>E. coli</i>	н/р	н/р	н/р	н/р	н/р	н/р	95 кол.
<i>S. pyogenes</i>	н/р	н/р	н/р	н/р	н/р	н/р	27 кол.
<i>C. albicans</i>	н/р	н/р	н/р	н/р	н/р	н/р	6 кол.
<i>Muc. smegmatis</i>	++	++	++	н/р	н/р	78 кол.	++

Примечание: н/р – не наблюдается роста культуры; ++ – интенсивность роста культуры.

раженности для различных гемостатических средств и контрольной группы (табл. 2).

Гистологические исследования показали отсутствие значимых микроскопических и морфологических различий при использовании исследуемых гемостатических средств («Гемофлекс® Про», «Surgicel® Nu-knit», «TachoComb®», «Celox™ Gauze Hemostat») на сроках 7 и 30 суток после их применения на модели артериального и паренхиматозного кровотечения крысы. Гемостаз во всех случаях был состоятельным. Результаты макроскопического и микроскопического исследования зоны аппликации средства «Гемофлекс® Про» на модели артериального и паренхиматозного кровотечения у крысы не выявили фрагментов гемостатического средства на сроках 7 и 30 суток, что говорит о его полной биодеградации в брюшной полости к этому сроку. Спаечный процесс при этом по выраженности не отличался от контрольной группы и групп сравнения.

Данные исследования антимикробной активности аппликационного гемостатического средства «Гемофлекс® Про» представлены в табл. 3. Установлено, что образцы «Гемофлекс® Про» в отношении *S. aureus*, *E. coli*, *S. pyogenes*, *C. albicans* проявляют антимикробный эффект начиная с 3 часов до 48 часов, в отношении *Myc. smegmatis* антимикробное действие проявляется через 14 часов до 48 часов при микробной нагрузке 103 (10000) КОЕ/мл и 104 (1000) КОЕ/мл.

Гемостатическое средство «Гемофлекс® Про» состоит из нетканого материала, содержащего наново-

локна хитозана, что существенно отличает его от зарубежных аппликационных гемостатических средств местного действия на основе хитозана, выпускаемых под торговыми марками «Celox™» и «HemCon®». Вместе с тем, полученные результаты при оценке эффективности гемостатического средства «Гемофлекс® Про», оказались схожими с ранее опубликованными результатами зарубежных исследователей при сравнительном исследовании разных по механизму действия топических аппликационных гемостатиков [11, 14, 18, 20, 21, 24, 27]. Так, например, в работе [18] при моделировании экспериментального артериального кровотечения из раны брюшного отдела аорты крысы зафиксировано время кровотечения равное $66,0 \pm 13,74$ с и $157,5 \pm 31,44$ с, в случае использования гемостатических средств «BloodSTOP®iX» (LifeScience PLUS Inc, США) и «Gelfoam®» (Baxter, США), соответственно. Время кровотечения в аналогичном эксперименте при использовании средства «Гемофлекс® Про» составило $48,0 \pm 11$ с (рис.1).

В проведенном исследовании было зарегистрировано выраженное бактерицидное действие гемостатического средства «Гемофлекс® Про» для широкого круга бактерий, что также согласуется с имеющимися в научной литературе данными об антибактериальных свойствах хитозана [17, 25].

Макроскопические и морфологические исследования указывают на быструю и хорошую биодеградацию средства «Гемофлекс® Про», а также отсутствие

Table 2

Intensity adhesions in the abdominal cavity after application hemostatic agents in the model of arterial bleeding from the wounds abdominal aorta and rat models parenchymal bleeding from a wound rat kidney

observation period	Control group	«Гемофлекс®Про»	«Surgicel®Nu-knit»	«Tacho Comb®»	«Celox™ Gauze Hemostat»
Model of arterial bleeding from a wound abdominal aorta rats					
7 days	++	+	+	+	+
30 days	+++	+++	+++	+++	+++
Model of parenchymal bleeding from a wound rat kidney					
7 days	++	+	+	+	+
30 days	+++	+++	+++	+++	+++

Note: - absence adhesions; + A small amount unconsolidated adhesions in application area of hemostatic agents; ++ unconsolidated adhesions in application area of hemostatic agent in other parts of abdominal cavity; +++ Expressed dense adhesions in application area of hemostatic agents; ++++ Pronounced dense adhesions in application area hemostatic agent in other parts of abdominal cavity.

Table 3

Antimicrobial activity of applicator topical haemostatic agent «Гемофлекс® Про»

Type	Time						Control
	3	6	8	14	24	48	
<i>S. aureus</i>	N/G	N/G	N/G	N/G	N/G	N/G	480 col.
<i>E.coli</i>	N/G	N/G	N/G	N/G	N/G	N/G	95 col.
<i>S. pyogenes</i>	N/G	N/G	N/G	N/G	N/G	N/G	27 col.
<i>C. albicans</i>	N/G	N/G	N/G	N/G	N/G	N/G	6 col.
<i>Myc. smegmatis</i>	++	++	++	N/G	N/G	78 col.	++

Note: N/G - is not observed culture growth; ++ - growth rate of the culture.

выраженного влияния на образование спаечного процесса при использовании его в брюшной полости.

Выводы

1. Использование аппликационного гемостатического средства «Гемофлекс® Про» на модели экспериментального паренхиматозного кровотечения из ран печени, почки, селезенки крысы и модели артериального кровотечения из раны брюшного отдела аорты крысы достоверно ($p < 0,05$), по сравнению с

контрольной группой, снижало время кровотечения из раны и массу кровопотери, что свидетельствовало о выраженном гемостатическом эффекте изделия. Кроме того, отмечен схожий гемостатический эффект при сравнении действия «Гемофлекс® Про» с зарубежными гемостатическими средствами «Surgicel® Nu-knit», «TachoComb®» и «Celox™ Gauze Hemostat».

2. Гемостатическое средство «Гемофлекс® Про» проявляет бактерицидное действие по отношению к *E.coli*, *S.aureus*, *S.pyogenes*, *C.albicans*, *Myc. smegmatis*.

Список литературы

1. Бояринцев В.В., Самойлов А.С., Юдин А.Б., Коваленко Р.А. Особенности течения раневого процесса при использовании местных гемостатических средств на основе гранулированного цеолита. *Инфекции в хирургии*, 2011; 9: 2: 43-50.
2. Бояринцев В.В., Юдин А.Б., Назаров В.Б., Самойлов А.С., Фрончек Э.В., Коваленко Р.А. Доклиническая оценка эффективности местных гемостатических препаратов (экспериментальное исследование). *Медицина катастроф*, 2010; 3: 23-25.
3. Горский В.А., Шуркалин Б.К., Леоненко И.В. Применение ТахоКомба в абдоминальной хирургии. М: Атмосфера, 2003.
4. Государственная Фармакопея СССР. 11-е изд. в. 1. М: Медицина, 1990.
5. Навашин С.М., Фомина И.П.. Справочник по антибиотикам. М: Медицина, 1982.
6. Майстренко А.Н., Бежин А.И., Липатов В.А., Нетяга А.А., Ишунина Т.А., Чижиков Г.М. Сравнительная оценка гемостатической активности новых аппликационных средств при травмах и операциях на печени и селезенке в эксперименте. *Курский научно-практический вестник. Человек и здоровье*, 2009; 2: 19-26.
7. Сборник руководящих методических материалов по токсиколого-гигиеническим исследованиям полимерных материалов и изделий на их основе медицинского назначения Минздрава РФ. в. 1. М. 1987.
8. Степанов Ю.А., Каркищенко Н.Н., Черкасов М.Ф., Каркищенко В.Н., Капанадзе Г.Д., Бояринцев В.В. и др. Изучение эффективности препарата «Гемостоп» в эксперименте на животных. *Биомедицина*, 2010; 5: 50-57.
9. Чижиков Г.М. Сравнительный анализ гемостатической активности новых средств для остановки капиллярно-паренхиматозного кровотечения (эксперимент *in vivo*). *Вестник экспериментальной клинической хирургии*, 2012; 5: 2: 390-392.
10. Agger P., Langhoff J., Smerup M.H., Hasenkam J.M. Comparison between TachoComb and TachoSil for surgical hemostasis in arterial bleeding: an animal experimental study. *J. Trauma*, 2010; 68: 4: 838-842.
11. Berrevoet F., B. de Hemptinne. Use of topical hemostatic agents during liver resection. *Dig. Surg.*, 2007; 24: 4: 288-293.
12. M. Bicer, A.S. Bayram, O. Gurbuz et al. Assessment of the efficacy of bio-absorbable oxidized regenerated cellulose for prevention of post-operative pericardial adhesion in the rabbit model. *J. Int. Med. Res.*, 2008; 36: 6: 1311-1318.

References

1. Boiarintsev V.V., Samoilov A.S., Iudin A.B., Kovalenko R.A. The course of a wound process during use of local hemostatics based on granulated ceolite. *Infektsii v khirurgii*, 2011; 9: 2: 43-50. - (in Russ.).
2. Boiarintsev V.V., Iudin A.B., Nazarov V.B., Samoilov A.S., Fronchek E.V., Kovalenko R.A. Nonclinical evaluation of efficiency of topical hemostatic agents (experimental research). *Meditsina katastrof*, 2010; 3: 23-25. - (in Russ.).
3. Gorskiy V.A., Shurkalin B.K., Leonenko I.V. *Primenenie TakhoKomba v abdominal'noi khirurgii* [Application TachoComb in abdominal surgery]. Moscow: Atmosfera. 2003. - (in Russ.).
4. *Gosudarstvennaia Farmakopeia SSSR* [State Pharmacopoeia USSR. 11th ed. Issue 1]. Moscow: Meditsina, 1990. - (in Russ.).
5. Navashin S.M., Fomina I.P.. *Spravochnik po antibiotikam* [Handbook of Antibiotics]. Moscow: Meditsina, 1982. - (in Russ.).
6. Maistrenko A.N., Bezhin A.I., Lipatov V.A., Netiaga A.A., Ishunina T.A., Chizhikov G.M. Comparative assessment of the hemostatic activity of new application drugs in experimental traumas and operations on the liver and spleen. *Kurskii nauchno-prakticheskii vestnik. Chelovek i zdorov'e*, 2009; 2: 19-26. - (in Russ.).
7. *Sbornik rukovodiashchikh metodicheskikh materialov po toksikologo-gigienicheskim issledovaniyam polimernykh materialov i izdelii na ikh osnove meditsinskogo naznachenii Minzdrava RF* [Guidelines of Ministry of Healthcare of the Russian Federation on toxicological-hygienic research of polymer materials and polymer based medical devices. Issue 1]. v. 1. M. 1987. - (in Russ.).
8. Stepanov Iu.A., Karkishchenko N.N., Cherkasov M.F., Karkishchenko V.N., Kapanadze G.D., Boiarintsev V.V. et al. To study the efficacy of the drug «Gemostop» in experiment on animals. *Biomeditsina*, 2010; 5: 50-57. - (in Russ.).
9. Chizhikov G.M. Comparative analysis of hemostatic activity of new drugs to stop the capillary-parenchymal bleeding (experiment *in vivo*). *Vestnik eksperimental'noi klinicheskoi khirurgii*, 2012; 5: 2: 390-392. - (in Russ.).
10. Agger P., Langhoff J., Smerup M.H., Hasenkam J.M. Comparison between TachoComb and TachoSil for surgical hemostasis in arterial bleeding: an animal experimental study. *J. Trauma*, 2010; 68: 4: 838-842.
11. Berrevoet F., B. de Hemptinne. Use of topical hemostatic agents during liver resection. *Dig. Surg.*, 2007; 24: 4: 288-293.

13. Brunkwall J., Ruemenapf G., Florek H.J., Lang W., Schmitz-Rixen T. A single arm, prospective study of an absorbable cyanoacrylate surgical sealant for use in vascular reconstructions as an adjunct to conventional techniques to achieve haemostasis. *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)*, 2007; 48: 4: 471-476.
14. Beyea J.A., Rotenberg B.W. Comprasion of purified plant polysaccharide (HemoStase) versus gelatin-thrombin matrix (FloSeal) in controlling bleeding during sinus surgery: a randomized controlled trial. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 2011; 120: 8: 495-498.
15. Carraway J.W., Kent D., Yong K., Cole A., Friedman R., Ward K.R. Comparison of a new mineral based hemostatic agent to a commercially available granular zeolite agent for hemostasis in a swine model of lethal extremity arterial hemorrhage. *Resuscitation*, 2008; 78: 2: 230-235.
16. Cole D.J., Connoly R.G., Chan M.W. et al. A pilot study evaluating the efficacy of a fully acetylated poly-N-acetyl glucosamine membrane formulation as a topical hemostatic agent. *Surgery*, 1999; 126: 3: 510-517.
17. Dash M., Chiellini F., Ottenbrite R.M., Chiellini E.. Chitosan—a versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 2011; 36: 8: 981-1014.
18. Ferretti L., Qiu X., Villalta J., Lin G. Efficacy of Bloodstop IX, Surgicel, and Gelfoam in rat models of active bleeding from partial nephrectomy and aortic needle injury. *Urology*, 2012; 80: 5: 1161-1166.
19. Hickerson W.L., Nur I., Meidler R. A comparison of the mechanical, kinetic, and biochemical properties of fibrin clots formed with two different fibrin sealants. *Blood Coagul. Fibrinolysis*, 2011; 22: 1:19-23.
20. Huri E., Akgul T., Ayyildiz A., Bagcioglu M., Germiyanoglu C. First clinical experience of Ankaferd Blood Stopper as a hemostatic agent in partial nephrectomy. *Kaohsiung J. Med. Sci.*, 2010; 26: 9: 493-495.
21. Kheirabadi B.S. Evaluation of topical hemostatic agents for combat wound treatment. *US Army. Med. Dep. J.* 2011; Apr-Jun: 25–37. Available at: <http://www.cs.amedd.army.mil/dasqaDocuments.aspx?type=1>.
22. Koksall O., Ozdemir F., Cam Etoz B, Isbil N et. al.. Hemostatic effect of a chitosan linear polymer (Celox) in a severe femoral artery bleeding rat model under hypothermia or warfarin therapy. *Ulus Travma Acil. Cerrahi Derg.*, 2011; 17: 3: 199-204.
23. Lacaze L., Le Dem N., Bubenheim M. et al. Tensile strength of biological fibrin sealants: a comparative study. *J. Surg. Res.*, 2012; 176: 2: 455-459.
24. Millner R.W., Lockhart A.S., Marr R. Chitosan arrests bleeding in major hepatic injuries with clotting dysfunction: an in vivo experimental study in a model of hepatic injury in the presence of moderate systemic heparinisation. *Ann. R. Coll. Surg. Engl.*, 2010; 92: 7: 559-561.
25. Niekraszewicz A.. Chitosan Medical Dressings. *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, 2005; 13: 6: 16-18.
26. Ran Y., Hadad E., Daher S., Yegorov Y., Bartal C., Ash N. at al.. QuikClot Combat Gauze use for hemorrhage control in military trauma: January 2009 Israel Defense Force experience in the Gaza Strip—a preliminary report of 14 cases. *Prehosp. Disaster. Med.*, 2010; 25: 6: 584-588.
27. Warner R.L., McClintock S.D., Barron A.G., de la Iglesia F.A. Hemostatic properties of a venom protein in rat organ trauma. *Exp. Mol. Pathol.*, 2009; 87: 3: 204-211.
12. M. Bicer, A.S. Bayram, O. Gurbuz et al. Assessment of the efficacy of bio-absorbable oxidized regenerated cellulose for prevention of post-operative pericardial adhesion in the rabbit model. *J. Int. Med. Res.*, 2008; 36: 6: 1311-1318.
13. Brunkwall J., Ruemenapf G., Florek H.J., Lang W., Schmitz-Rixen T. A single arm, prospective study of an absorbable cyanoacrylate surgical sealant for use in vascular reconstructions as an adjunct to conventional techniques to achieve haemostasis. *J. Cardiovasc. Surg. (Torino)*, 2007; 48: 4: 471-476.
14. Beyea J.A., Rotenberg B.W. Comprasion of purified plant polysaccharide (HemoStase) versus gelatin-thrombin matrix (FloSeal) in controlling bleeding during sinus surgery: a randomized controlled trial. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.*, 2011; 120: 8: 495-498.
15. Carraway J.W., Kent D., Yong K., Cole A., Friedman R., Ward K.R. Comparison of a new mineral based hemostatic agent to a commercially available granular zeolite agent for hemostasis in a swine model of lethal extremity arterial hemorrhage. *Resuscitation*, 2008; 78: 2: 230-235.
16. Cole D.J., Connoly R.G., Chan M.W. et al. A pilot study evaluating the efficacy of a fully acetylated poly-N-acetyl glucosamine membrane formulation as a topical hemostatic agent. *Surgery*, 1999; 126: 3: 510-517.
17. Dash M., Chiellini F., Ottenbrite R.M., Chiellini E.. Chitosan—a versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in Polymer Science*, 2011; 36: 8: 981-1014.
18. Ferretti L., Qiu X., Villalta J., Lin G. Efficacy of Bloodstop IX, Surgicel, and Gelfoam in rat models of active bleeding from partial nephrectomy and aortic needle injury. *Urology*, 2012; 80: 5: 1161-1166.
19. Hickerson W.L., Nur I., Meidler R. A comparison of the mechanical, kinetic, and biochemical properties of fibrin clots formed with two different fibrin sealants. *Blood Coagul. Fibrinolysis*, 2011; 22: 1:19-23.
20. Huri E., Akgul T., Ayyildiz A., Bagcioglu M., Germiyanoglu C. First clinical experience of Ankaferd Blood Stopper as a hemostatic agent in partial nephrectomy. *Kaohsiung J. Med. Sci.*, 2010; 26: 9: 493-495.
21. Kheirabadi B.S. Evaluation of topical hemostatic agents for combat wound treatment. *US Army. Med. Dep. J.*, 2011; Apr-Jun: 25–37. Available at: <http://www.cs.amedd.army.mil/dasqaDocuments.aspx?type=1>.
22. Koksall O., Ozdemir F., Cam Etoz B, Isbil N et. al.. Hemostatic effect of a chitosan linear polymer (Celox) in a severe femoral artery bleeding rat model under hypothermia or warfarin therapy. *Ulus Travma Acil. Cerrahi Derg.*, 2011; 17: 3: 199-204.
23. Lacaze L., Le Dem N., Bubenheim M. et al. Tensile strength of biological fibrin sealants: a comparative study. *J. Surg. Res.*, 2012; 176: 2: 455-459.
24. Millner R.W., Lockhart A.S., Marr R. Chitosan arrests bleeding in major hepatic injuries with clotting dysfunction: an in vivo experimental study in a model of hepatic injury in the presence of moderate systemic heparinisation. *Ann. R. Coll. Surg. Engl.*, 2010; 92: 7: 559-561.
25. Niekraszewicz A.. Chitosan Medical Dressings. *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, 2005; 13: 6: 16-18.
26. Ran Y., Hadad E., Daher S., Yegorov Y., Bartal C., Ash N. at al.. QuikClot Combat Gauze use for hemorrhage control in military trauma: January 2009 Israel Defense Force experience in the Gaza Strip—a preliminary report of 14 cases. *Prehosp. Disaster. Med.*, 2010; 25: 6: 584-588.

28. Whang H.S., W. Kirsch, Zhu Y.H., Yang C.Z., Hudson S.M. Hemostatic agents derived from chitin and chitosan. *J Macromol Sci, Part C: Polymer Reviews*, 2005; 45: 4: 309-323.

Поступила 12.02.2014

Информация об авторах

1. Давыденко В.В. - д.м.н., проф. кафедры госпитальной хирургии №2, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова Министерства здравоохранения Российской Федерации". E-mail : kuzet@mail.ru;
2. Власов Т.Д. - д.м.н., проф., зав. кафедрой патологической физиологии с курсом клинической патофизиологии, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова Министерства здравоохранения Российской Федерации". E-mail: tvlasov@yandex.ru;
3. Доброскок И.Н. – интерн кафедры госпитальной хирургии №2, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П.Павлова Министерства здравоохранения Российской Федерации";
4. Бражникова Е.Н. - к.х.н, зав. лабораторией полимерных материалов ООО «Инмед». E-mail: evgenia.bragnikova@innmed.ru;
5. Забивалова Н.М. - к.х.н, старший научный сотрудник ООО «Инмед». E-mail: natalia.zabivalova@innmed.ru.

experience in the Gaza Strip--a preliminary report of 14 cases. *Prehosp. Disaster. Med.*, 2010; 25: 6: 584-588.

27. Warner R.L., McClintock S.D., Barron A.G., de la Iglesia F.A. Hemostatic properties of a venom protein in rat organ trauma. *Exp. Mol. Pathol.*, 2009; 87: 3: 204-211.
28. Whang H.S., W. Kirsch, Zhu Y.H., Yang C.Z., Hudson S.M. Hemostatic agents derived from chitin and chitosan. *J. Macromol. Sci., Part C: Polymer Reviews*, 2005; 45: 4: 309-323.

Received 12.02.2014

Information about the Authors

1. Davydenko V. - First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, Prof. of the Department of Hospital Surgery №2. E-mail : kuzet@mail.ru;
2. Vlasov T. - First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, Head of the Department of Pathological Physiology course with clinical pathophysiology. E-mail: tvlasov@yandex.ru;
3. Dobroskok I. - Intern Department of Hospital Surgery №2, First Pavlov State Medical University of St. Petersburg;
4. Brazhnikova E. – PhD, Head of Laboratory of Polymer materials, Inmed LLC. E-mail: evgenia.bragnikova@innmed.ru;
5. Zabivalova N. – PhD, Senior Researcher, Inmed LLC. E-mail: natalia.zabivalova@innmed.ru.