

Морфологическая оценка эффективности применения хитозан-коллагенового комплекса с наночастицами серебра и химоотрипсином при гнойно-некротическом процессе в мягких тканях

А. И. Бежин¹, В. А. Липатов¹, Л. А. Блатун^{2,4}, Э. В. Фрончек³, А. Ю. Григорьян¹, М. Д. З. Наимзада¹

¹Курский государственный медицинский университет (КГМУ),

Россия, 305041, Курская область, Курск, ул. К. Маркса, д. 3

²ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр хирургии им. А. В. Вишневского» Минздрава России

Россия, 117997, Москва, ул. Большая Серпуховская, д. 27

³ООО «Эверс Груп Рус»

Россия, 125493, Москва, ул. Флотская, д. 5

⁴ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов» Минобрнауки России

Россия, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д. 8

Контактное лицо: Арсен Юрьевич Григорьян, arsgregorian@mail.ru

Одной из насущных проблем современной хирургии продолжает оставаться все возрастающее число пациентов с гнойно-воспалительными и гнойно-некротическими процессами мягких тканей — около 60,0 % больных в структуре специализированных стационаров хирургического профиля. Это обусловлено адаптацией микроорганизмов — возбудителей раневой инфекции к имеющимся средствам для лечения ран. Кроме того, ежегодно увеличивается число больных сахарным диабетом и, как следствие, число лиц, страдающих синдромом диабетической стопы. Таким образом, значимость разработки новых современных средств для местного лечения гнойно-некротических процессов кожи и мягких тканей не снижается.

Материалы и методы исследования. Материалом для исследования послужила высокопористая биodeградируемая губка (хитозан-коллагеновая) в соотношении 2 части хитозана к 1 части коллагена с включением коллоидных частиц металлического серебра и химоотрипсина. Эксперимент был выполнен на 50 крысах породы Вистар, которым моделировали гнойно-некротическую рану. В процессе лечения визуально оценивали состояние ран, а морфологические особенности течения раневого процесса оценивали после вывода животных из эксперимента и забора материала раны на 1, 5, 10, 15 и 21-е сутки, срезы окрашивали гематоксилин-эозином и/или по Ван Гизону.

Результаты исследования. При визуальной оценке уже к 10-м суткам было установлено, что некротические ткани подверглись лизису, раневой дефект покрыт струпом, отек окружающих тканей не зафиксирован, а на 21-е сутки лечения раневой дефект был покрыт эпителием и имел площадь около 3 мм² при исходной — в 250 мм². При описании микропрепаратов было отмечено, что на 10-е сутки фаза экссудации прошла свой пик и активность пролиферационных процессов нарастала от центра раны к ее периферии и от поверхности грануляций — в глубину. На 15-е сутки пролиферативная фаза воспаления достигла своей кульминации, а на 21-е сутки происходило завершение фазы пролиферации и начались процессы ремоделирования плотной волокнистой соединительной ткани.

Заключение. На основании визуальной оценки состояния ран и морфологического исследования показана эффективность хитозан-коллагенового комплекса с наночастицами серебра и химоотрипсином при местном лечении гнойно-некротических ран (в эксперименте).

Ключевые слова: раневой процесс, гнойно-некротическая рана, гнойная рана, лечение ран, гнойно-воспалительный процесс мягких тканей, заживление ран, местное лечение ран, раневое покрытие, хитозан, коллаген, химоотрипсин, серебро, наночастицы серебра, морфология ран, хитозан-коллагеновый комплекс, биodeградируемая губка.

Для цитирования: Бежин А. И., Липатов В. А., Блатун Л. А., Фрончек Э. В., Григорьян А. Ю., Наимзада М. Д. З. Морфологическая оценка эффективности применения хитозан-коллагенового комплекса с наночастицами серебра и химоотрипсином при гнойно-некротическом процессе в мягких тканях. Раны и раневые инфекции. Журнал им. проф. Б. М. Костюченка. 2019; 6 (4): 14-21.

DOI: 10.25199/2408-9613-2019-6-4-14-21.

Morphological evaluation of the effectiveness of the use of chitosan-collagen complex with silver nano-particles and chymotrypsin in the purulent-necrotic process in soft tissues

A. I. Bezhin¹, V. A. Lipatov¹, L. A. Blatun², E. V. Fronchek³, A. Yu. Grigoryan¹, M. D. Z. Naimzada¹

¹Kursk State Medical University (KSMU),

3 K. Marx Str., Kursk, Kursk region, 305041, Russian Federation

²Federal State Budgetary Institution A. V. Vishnevsky National Medical Research Center of Surgery Ministry of Health of Russia
27 Bolshaya Serpukhovskaya Str., Moscow, 117997, Russia

³Evers Group Rus,
5 Flotskaya Str., Moscow, 125493, Russian Federation

⁴Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education Peoples' Friendship University of Russia
Ministry of Education and Science of Russia
8 Miklukho-Maklaya Str., Moscow, 117198, Russia

One of the urgent problems of modern surgery continues to be the increasing number of patients with purulent-inflammatory and purulent-necrotic processes of soft tissues — about 60.0 % of patients in the structure of specialized hospitals of a surgical profile. This is due to the adaptation of microorganisms — pathogens of wound infection to existing means for treating wounds. In addition, the number of patients with diabetes mellitus increases annually, and as a result, the number of people suffering from diabetic foot syndrome. Thus, the relevance of developing new modern tools for the local treatment of purulent-necrotic processes of the skin and soft tissues is not reduced.

Materials and methods. The material for the study was a highly porous biodegradable sponge (chitosan-collagen) in the ratio of chitosan: collagen 2: 1 with the inclusion of colloidal particles of metallic silver and chymotrypsin. The experiment was performed on 50 Wistar rats that simulated a purulent necrotic wound. During the treatment, the state of the wounds was visually evaluated, the morphological features of the course of the wound process were evaluated after animals were withdrawn from the experiment and the wound material was taken on days 1, 5, 10, 15 and 21, the sections were stained with hematoxylin-eosin and/or according to Van Gieson.

Results. By visual assessment, by the 10th day it was noted that necrotic tissues underwent lysis, the wound defect was covered with a scab, swelling of the surrounding tissues was not noted, and on the 21st day of treatment the wound defect was covered with epithelium and had an area of about 3 mm² with the initial - in 250 mm². When describing micropreparations, it was noted that on the 10th day the exudation phase passed its peak and the activity of proliferation processes increased from the center of the wound to its periphery and from the granulation surface in depth. On the 15th day, the proliferative phase of inflammation was at its height, and on the 21st day, the proliferation phase was completed and the processes of remodeling of dense fibrous connective tissue began.

Conclusion. Based on a visual assessment of the state of wounds and a morphological study, the effectiveness of a chitosan-collagen complex with silver nanoparticles and chymotrypsin was shown to be applied locally to a purulent necrotic wound in an experiment.

Key words: wound process, purulent-necrotic wound, purulent wound, wound treatment, purulent-inflammatory process of soft tissues, wound healing, local wound healing, wound dressing, chitosan, collagen, chymotrypsin, silver, silver nanoparticles, wound morphology, chitosan-collagen complex, biodegradable sponge.

For citation: Fronchek E. V., Grigoryan A. Yu., Blatun L. A. Innovative biologically active wound healing and hemostatic agents based on chitosan and collagen: development stages, medical and technical characteristics. Wounds and wound infections. The Prof. B. M. Kostyuchenok Journal. 2019; 6 (4): 14-21.

Введение

Гнойно-воспалительные процессы в мягких тканях занимают одну из лидирующих позиций в структуре заболеваемости пациентов хирургического профиля как в России, так и в странах Европы [1–3].

Данному обстоятельству способствуют следующие факторы: гнойно-воспалительный процесс, вызванный ассоциациями микроорганизмов, Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA), бесконтрольный прием и самостоятельное назначение антибиотиков, увеличение числа больных сахарным диабетом [4–9].

Несомненно, в настоящее время существует целый арсенал современных способов лечения гнойно-воспалительных процессов мягких тканей (лазеротерапия, воздействие отрицательным давлением, направленный поток газовых смесей, сорбционно-дренажные устройства), разрабатываются новые лекарственные препараты локального действия, например на основе биоактивных сорбентов, содержащих металлы и протеолитические ферменты, однако зачастую их применение затруднено (на этапе

амбулаторного лечения) или их эффективность не доказана [10–14].

Таким образом, имеется потребность в совершенствовании средств для местного медикаментозного воздействия на гнойно-некротические процессы кожи и мягких тканей, которые были бы удобны и просты в применении.

Цель исследования: дать морфологическую оценку эффективности применения ранозаживляющего хитозан-коллагенового комплекса с наночастицами серебра и химотрипсином при гнойно-некротическом процессе в мягких тканях (в эксперименте).

Материалы и методы исследования

Материалом для исследования послужило хитозан-коллагеновое раневое покрытие из полиэлектролитного комплекса в соотношении 2 части хитозана к 1 части коллагена, представлявшее собой высокопористую биodeградируемую губку размером 2 × 2 × 0,4 см с включением коллоидных частиц металлического серебра и химотрипсина. Основные физико-химические характеристики образцов приведены в таблице 1.

Таблица 1. Характеристики исследуемого раневого покрытия
Table 1. Characteristics of the wound cover

Характеристики Characteristics	Значения Indicators
Поверхностная плотность, мг/см ² Surface density, mg/cm ²	8–12
Поглотительная способность по воде (раневого экссудату), г/г (мл/см ²) Water absorption capacity (wound exudate), g/g (ml/cm ²)	20–30 (0,2–0,3)
рН водной вытяжки pH of water extract	5,4–5,6

Исследование было выполнено на 50 крысах породы Вистар массой 180,0–200,0 г. Гнойно-некротическую рану моделировали следующим образом: под ингаляционным наркозом на выбритом участке спины крысы иссекался кожно-подкожный лоскут площадью 250 мм², далее с 4 сторон раны производилась инъекция в подкожный слой 0,1 мл 10,0 % кальция хлорида, затем в рану вносился марлевый шарик, пропитанный 1 мл миллиардной взвеси E. Coli, St. Aureus (MRSA и MRSE), Proteus vulgaris и Pseudomonas aeruginosa, после чего фиксировали устройство для защиты ран (патент РФ на полезную модель № 94844). Лечение начинали на 4-е сутки после моделирования раны путем нанесения раневого покрытия и фиксации его к ране пластырной повязкой.

Визуально оценивали состояние раны на предмет наличия отделяемого, отека окружающих тканей, появления грануляций и эпителизации.

Изготовление микропрепаратов для ран производили после выведения подопытного животного из эксперимента путем передозировки наркоза на 1, 5, 10, 15 и 21-е сутки. Изготавливали срезы кожи толщиной 5,0–7,0 мкм и после окраски гематоксилин-эозином и/или по Ван Гизону заключали в среду Биомаунт под покровное стекло. Световая микроскопия осуществлялась на микроскопе Leica CME (Германия). Микрофотографирование производили с использованием окуляра камеры DCM-510.

Результаты исследования

При визуальной оценке состояния раны на 1-е сутки начала лечения отмечался отек вокруг раневого дефекта, мутное отделяемое из ран в количестве 0,2–0,5 мл, присутствовали участки некроза (рис. 1).

На 5-е сутки лечения наблюдалось незначительное отделяемое из раны светло-желтого цвета, сохранялся отек окружающих тканей, визуальными грануляциями отсутствовали. На 10-е сутки раневого дефекта был покрыт струпом, отек окружающих тканей отсутствовал, отделяемого из ран не наблюдалось. На 15-е сутки лечения у всех животных отмечалось

формирование эпителиального вала по краям раневого дефекта, центр раны был покрыт струпом. На 21-е сутки лечения раневого дефекта имел площадь около 3,0 мм² и был покрыт эпителием.

При описании микропрепаратов обращало на себя внимание, что на 1-е сутки эксперимента у всех животных поверхность раны была покрыта фибриновым струпом. Струп был обильно инфильтрирован лейкоцитами (нейтрофильными гранулоцитами) с выраженной послойной организацией инфильтрата (рис. 2).

Объем раневого дефекта заполнен отечной грануляционной тканью, на всю толщину которой зафиксировано наличие расширенных плазматических капилляров, слой вертикальных сосудистых петель слабовыражен. Далее следовал поверхностный слой грануляций, представлявший собой разрыхленные молодые коллагеновые волокна, находящиеся в фибриноидном экссудате, в котором отмечались нейтрофильные гранулоциты в относительно небольшом количестве. В сосудах фасциального сплетения также обнаружено венозное полнокровие с выраженным феноменом «краевого пула» лейкоцитов.

Таким образом происходило нарастание признаков экссудативной фазы воспаления. Грануляционная ткань была незрелой, так как отсутствовала ее послойная организация.

К 5-м суткам эксперимента у четырех животных из десяти отмечалось распространение инфильтрата вдоль соединительнотканых прослоек в стороны под сохраненные участки дермы. Кратер раны был выполнен грануляционной тканью с признаками незрелости: отсутствие выраженной послойной организации, выявленный отек глубоких слоев грануляционной ткани (рис. 3). Глубокий слой грануляций представлял собой популяцию приблизительно параллельно ориентированных юных форм фибробластов, отличающихся от зрелых форм наличием мелкого базофильного ядра, что указывало на их высокий пролиферационный потенциал. Регенерирующий эпидермис покрывал стенки края раневого кратера.

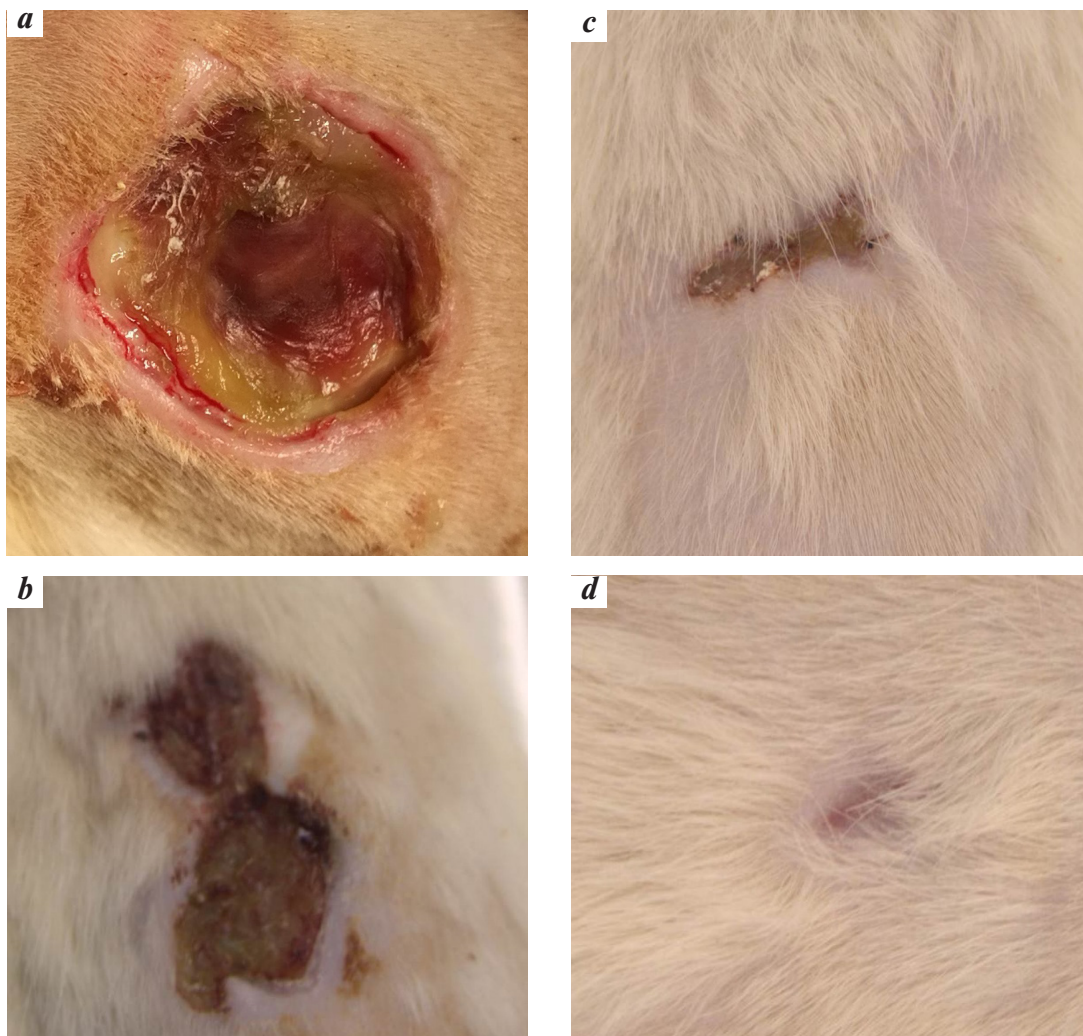


Рис. 1. Визуальная оценка состояния ран: а – 1-е сутки, начало лечения, размер гнойно-некротической раны 250,0 мм²; б – 10-е сутки лечения, размер гнойно-некротической раны 132,0 мм²; с – 15-е сутки лечения, размер гнойно-некротической раны 26,0 мм²; д – 21-е сутки с момента начала лечения, размер раны 3,0 мм²

Fig. 1. Visual wounds assessment: a – the 1st day, the start of treatment, the size of necrotic wound is 250.0 mm²; b – the 10th day of treatment, the size of necrotic wound is 132.0 mm²; c – the 15th day of treatment, the size of necrotic wound is 26.0 mm²; d – 21st day after the start of treatment, the size of the wound is 3.0 mm²

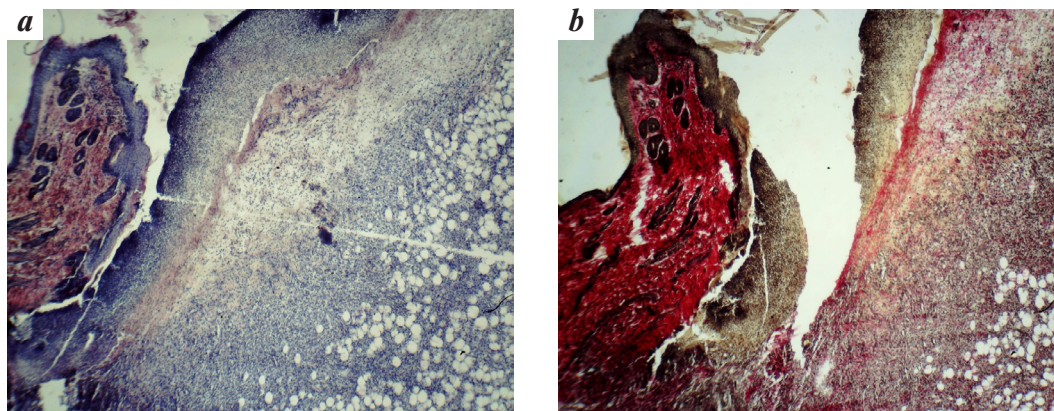


Рис. 2. Микрофотографии срезов ран (край раны) на 1-е сутки после начала лечения: а – окраска гематоксилин-эозином; б – окраска по Ван Гизону. Увеличение 40×

Fig. 2. Micrographs of wounds sections (wound edge) on the 1st day after the start of treatment: a – hematoxylin-eosin's staining; b – Van Gieson's staining. Magnification 40×

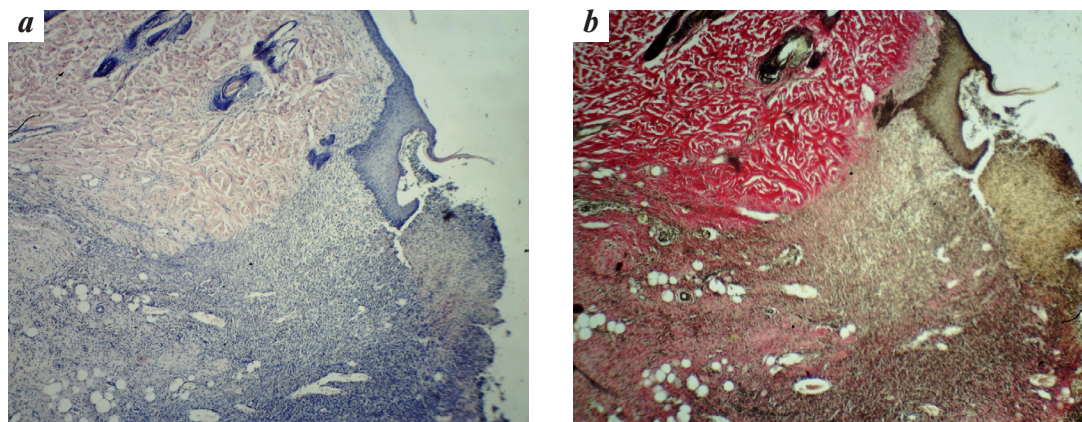


Рис. 3. Микрофотографии срезов ран (край раны) на 5-е сутки после начала лечения: а — окраска гематоксилин-эозином; б — окраска по Ван Гизону. Увеличение 40×

Fig. 3. Micrographs of wounds sections (wound edge) on the 5th day after the start of treatment: a — Hematoxylin-eosin's staining; b — Van Gieson's staining. Magnification 40×

Таким образом, происходило становление процессов, соответствующих разворачивающейся фазе экссудации.

На 10-е сутки эксперимента у животных весь объем раневого кратера был полностью заполнен волокнистой соединительной тканью. При окраске гематоксилин-эозином этот объем волокнистой ткани интенсивно базофилен, а при окраске по Ван Гизону у трех животных из десяти обнаруживались крупные очаги незрелого коллагена. Эти очаги не имели четких границ и были расположены практически во всех слоях грануляционной ткани (рис. 4). Во всех случаях регенерирующая волокнистая соединительная ткань заходила достаточно глубоко под края раневого кратера. В центральных отделах раневого кратера у всех животных дифференцировались слои горизонтальных фибробластов, вертикальных сосудов и поверхностный слой.

Большая часть поверхности грануляций не была покрыта эпидермисом. Там, где он был (края раны), и при условии сформированности базальной мембраны отмечалось резкое ускорение созревания волокнистой стромы и реорганизации соединительной ткани, здесь выявлялись тонкие, зрелые (при окраске по Ван Гизону) коллагеновые волокна, формирующие волокнистый каркас сосочкового слоя дермы (рис. 5). Здесь же и степень зрелости фибробластов была выше.

Таким образом, фаза экссудации прошла свой пик и типичная для нее морфологическая картина сохранялась только в поверхностных слоях грануляций в центре раны. Активность пролиферационных процессов нарастала от центра раны к ее периферии и от поверхности грануляций — в глубину.

У животных к 15-м суткам эксперимента раневой дефект был полностью выполнен волокнистой

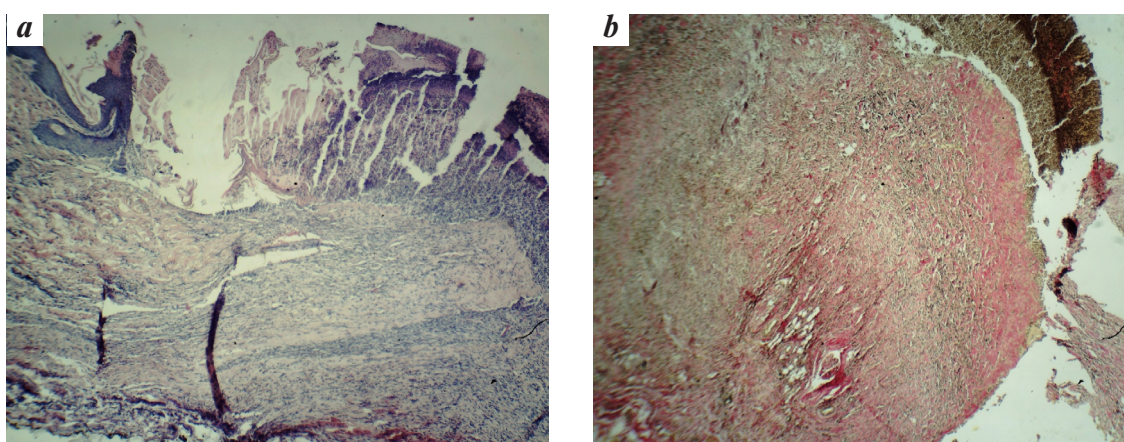


Рис. 4. Микрофотографии срезов ран (край раны) на 10-е сутки после начала лечения: а — окраска гематоксилин-эозином; б — окраска по Ван Гизону. Увеличение 40×

Fig. 4. Micrographs of wounds sections (wound edge) on the 10th day after the start of treatment: a — hematoxylin-eosin's staining; b — Van Gieson's staining. Magnification 40×

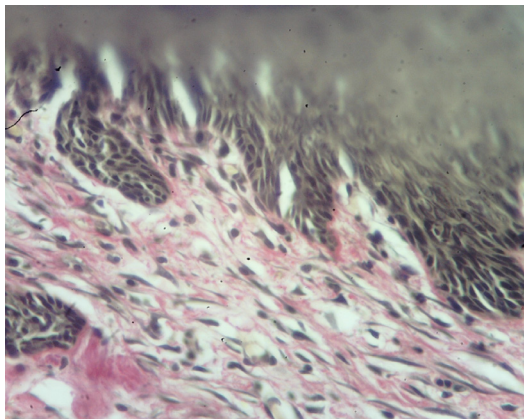


Рис. 5. Микрофотография среза раны (край раны) на 10-е сутки после начала лечения. Окраска по Ван Гизону. Увеличение 400×

Fig. 5. Micrographs of wounds sections (wound edge) on the 10th day after the start of treatment. VanGieson's staining. Magnification 400×

соединительной тканью (рис. 6). При окраске по Ван Гизону отчетливо видно, что степень зрелости коллагеновых волокон практически равномерна как по толщине, так и по направлению от края к центру. У всех животных присутствовало «наполнение» краевого эпителиального вала на регенерирующую ткань. Площадь, оставшаяся непокрытой эпидермисом, была занята струпом. Таким образом, фаза экссудации завершена полностью. Наблюдался разгар пролиферативной фазы воспаления.

На 21-е сутки эксперимента у всех животных раневой дефект полностью выполнен плотной волокнистой оформленной соединительной тканью (ПВСТ), состоящей из молодых коллагеновых волокон, ориентированных параллельно поверхности раны, и, по сравнению с интактной ПВСТ, окрашенной слабо базофильно как у краев раны, так и по ее

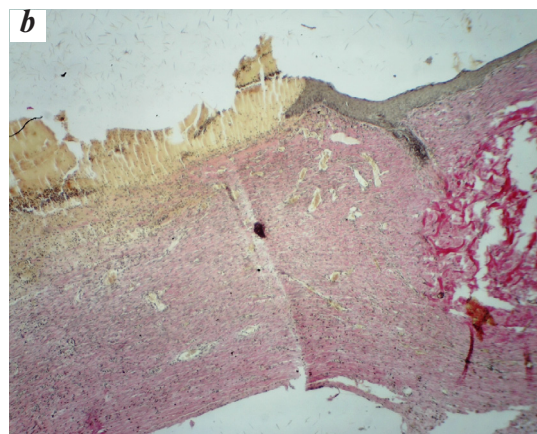
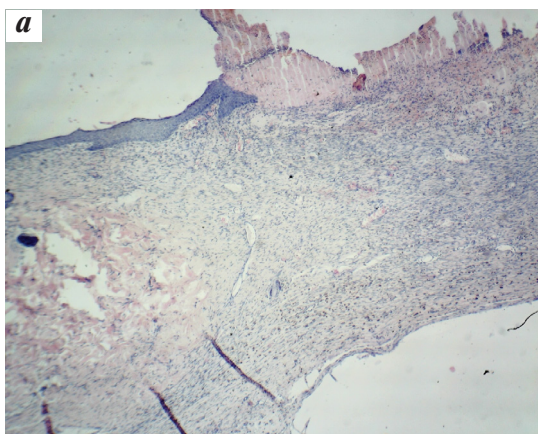


Рис. 6. Микрофотографии срезов ран (край раны) на 15-е сутки после начала лечения: а – окраска гематоксилин-эозином; б – окраска по Ван Гизону. Увеличение 40×

Fig. 6. Micrographs of wounds sections (wound edge) on the 15th day after the start of treatment: a – hematoxylin-eosin's staining; b – Van Gieson's staining. Magnification 40×

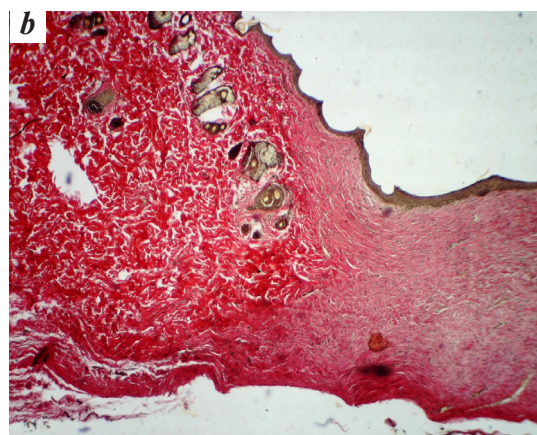
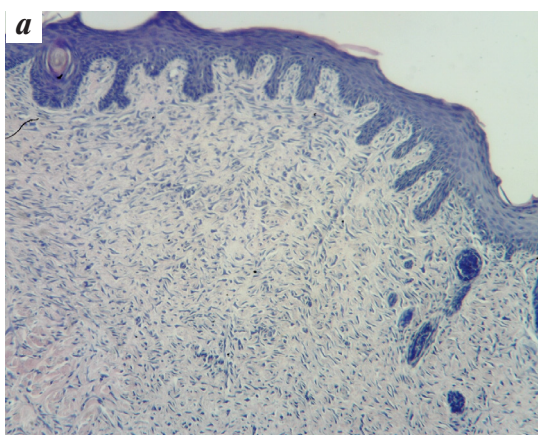


Рис. 7. Микрофотографии срезов ран на 21-е сутки после начала лечения: а – центр раны, окраска гематоксилин-эозином, увеличение 100×; б – край раны, окраска по Ван Гизону, увеличение 40×

Fig. 7. Micrographs of sections of wounds on the 21st day after the start of treatment: a – wound center, hematoxylin-eosin's staining, magnification 100×; b – wound edge, Van Gieson's staining, magnification 40×

центру (рис. 7а). При селективной окраске на зрелый коллаген (рис. 7б) отчетливо был виден градиент зрелости коллагеновых волокон от края раны к центру и из глубины к поверхности. Снаружи ПВСТ покрыта полнослойным эпидермисом, лежащим на базальной мембране и формирующим почки роста, из которых восстанавливались производные эпидермиса (рис. 7а). В поверхностных слоях грануляционной ткани фибробласты ориентированы вдоль волокон, а в более глубоких – разнонаправленны, что следует оценивать как проявление ремоделирования ПВСТ. Дополнительным свидетельством в пользу этого явилось обнаружение в каждом препарате в слое, соответствующем переходу грануляций в фасции мышц, цепочки и скопления активных макрофагов, чья цитоплазма была «нафарширована» фагосомами.

Таким образом происходило завершение фазы пролиферации и начало процессов ремоделирования ПВСТ с последующим изменением пространственной конфигурации волокнистого каркаса.

Заключение

Данные морфологического исследования эффективности хитозан-коллагенового комплекса с наночастицами серебра и химотрипсином подтвердили наравне с данными литературы, что хитозан способствовал стимуляции процесса пролиферации клеток фибробластического ряда и эпителиальных клеток, синтезу фактора роста эндотелия сосудов, а коллаген стимулировал образование грануляций и быстрый рост новой полноценной ткани на месте дефекта [15–17]. В нашем исследовании показана эффективность химотрипсина, который помог скорейшему лизису некротизированных тканей при иммобилизации в хитозан-коллагеновом комплексе с наночастицами серебра.

Таким образом, применение хитозан-коллагенового комплекса с наночастицами серебра и химотрипсином при местном воздействии на гнойно-некротическую рану стимулирует процесс заживления и может быть рекомендовано для дальнейшего исследования на доклиническом уровне.

Соответствие принципам этики. Протокол исследования был одобрен Региональным этическим комитетом Курского государственного медицинского университета от 05.11.2013, протокол № 2.

Конфликт интересов. Фрончек Эдуард Валентинович, к.х.н., советник генерального директора, ООО «Эверс Груп Рус»; остальные соавторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Финансирование. Исследование выполнено за счет средств ООО «Эверс Груп Рус».

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Pulgar S., Mehra M., Quintana A. The epidemiology of hospitalized cases of skin and soft tissue infection in Europe. 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, 2008 19–23 April. Barcelona, Spain. ECCMID. 821 p.
2. Proud D., Holden D., Capstick R., et al. Are we getting necrotizing soft tissue infections right? A 10-year review. ANZ J Surg. 2014; 84; 6; 468–472.
3. Третьяков А. А., Петров С. В., Неверов А. Н., Щетинин А. Ф. Лечение гнойных ран. Новости хирургии. 2015; 23(6): 680–687. [Tret'yakov A. A., Petrov S. V., Neverov A. N., Schetinin A. F. Treatment of purulent wounds = Tret'yakov A. A., Petrov S. V., Neverov A. N., Shchetinin A. F. Lecheniye gnoynykh ran. *Novosti khirurgii*. 2015; 23(6): 680–687. (In Russ.)]
4. Сонис А. Г., Грачев Б. Д., Столяров Е. А., Ишутов И. В. Профилактика и лечение инфекционных раневых осложнений при протезирующих грыжесечениях. Раны и раневые инфекции. Журнал им. проф. Б. М. Костюченка. 2014; 1 (2): 16–23. [Sonis A. G., Grachev B. D., Stolyarov E. A., Ishutov

I. V. Prevention and treatment of infectious wound complications in prosthetic hernia. *Wounds and wound infections = Sonis A. G., Grachev B. D., Stolyarov E. A., Ishutov I. V. Profilaktika i lecheniye infektsionnykh ranevykh oslozheneniy pri proteziryuyushchikh gryzhesecheniyakh. Rany i ranevyye infektsii. Zhurnal im. prof. B. M. Kostyuchonka*. 2014; 1 (2): 16–23. (In Russ.)]
5. Wang J. M., Lim H. K. Necrotizing fasciitis: eight-year experience and literature review. *Braz J Infect Dis*. 2013; 18 (2): 137–143.
6. Шаповал С. Д., Савон И. Л., Якунич А. Н., Максимова О. О. Резистентные и полирезистентные возбудители гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы. *Новости хирургии*. 2015; 23 (1): 70–76. [Shapoval S. D., Savon I. L., Yakunich A. N., Maksimova O. O. Resistant and multiresistant pathogens of purulent-necrotic complications of the syndrome of diabetic foot = Shapoval S. D., Savon I. L., Yakunich A. N., Maksimova O. O. Rezistentnyye i polirezistentnyye vozбудители gnoyno-nekroticheskikh oslozheneniy sindroma dia-

beticheskoy stopy. *Novosti khirurgii*. 2015; 23 (1): 70–76. (In Russ.)]
7. Glass G. E., Sheil F., Ruston J. C., Butler P. E. Necrotising soft tissue infection in a UK metropolitan population. *Ann R Coll Surg Engl*. 2015; 97 (1): 46–51.
8. Walter C. J., Dumville J. C., Sharp C. A., Page T. Systematic review and meta-analysis of wound dressings in the prevention of surgical-site infections in surgical wounds healing by primary intention. *Br J Surg*. 2012; 99 (9): 1185–1194.
9. Липатов К. В., Комарова Е. А., Гурьянов Р. А. Диагностика и хирургическое лечение стрептококковой некротизирующей инфекции мягких тканей. Раны и раневые инфекции. Журнал им. проф. Б. М. Костюченка. 2015; 2 (1): 6–12. [Lipatov K. V., Komarova E. A., Guryanov R. A. Diagnosis and surgical treatment of streptococcal necrotizing soft tissue infection = Lipatov K. V., Komarova E. A., Gur'yanov R. A. Diagnostika i khirurgicheskoye lecheniye streptokokkovoy nekrotiziruyushchey infektsii myagkikh tkaney. *Rany i ranevyye infektsii. Zhurnal im. prof. B. M.*

- Kostyuchenka. 2015; 2 (1): 6–12. (In Russ.)*
10. Винник Ю. С., Плахотникова А. М., Кириченко А. К. и др. Использование направленного потока озono-кислородной газовой смеси для санации гнойной раны в эксперименте. *Новости хирургии. 2015; 23 (4): 372–378. [Vinnik Yu. S., Plahotnikova A. M., Kirichenko A. K., et al. Use of a directed flow of an ozone-oxygen gas mixture for debridement of a purulent wound in an experiment = Vinnik Yu. S., Plakhotnikova A. M., Kirichenko A. K. i dr. Ispol'zovaniye napravlenogo potoka ozono-kislorodnoy gazovoy smesi dlya sanatsii gnoynoy rany v eksperimente. Novosti khirurgii. 2015; 23 (4): 372–378. (In Russ.)]*
11. Смотрин С. М., Ославский А. И., Меламед В. Д., Гракович П. Н. Сорбционно-дренажные устройства в комплексном лечении гнойных ран и абсцессов мягких тканей. *Новости хирургии. 2016; 24 (5): 457–464. [Smotrin S. M., Oslavsky A. I., Melamed V. D., Grakovich P. N. Sorption-drainage devices in the complex treatment of purulent wounds and soft tissue abscesses = Smotrin S. M., Oslavskiy A. I., Melamed V. D., Grakovich P. N. Sorbtionno-drenazhnyye ustroystva v kompleksnom lechenii gnoynykh ran i abstsessov myagkikh tkaney. Novosti khirurgii. 2016; 24 (5): 457–464. (In Russ.)]*
12. Shameli K., Ahmad M. B., Yunis W. Z., et al. Green synthesis of silver/montmorillonite/chitosan bionanocomposites using the UV irradiation method and evaluation of antibacterial activity; *J Nano-medicine. 2010; 5: 877–887.*
13. Jayakumar R., Prabakaran M., Sudheesh Kumar P. T., et al. Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnol Adv. 2011; 29 (3): 322–337.*
14. Archana D., Singh B. K., Dutta J., Dutta P. K. In vivo evaluation of chitosan-PVP-titanium dioxide nanocomposite as wound dressing material. *Carbohydr Polym. 2013; 95 (1): 530–539.*
15. Антонов С. Ф. Материалы для лечения ран и ожогов на основе хитозана. М.: Центр «Биоинженерия», 2013. 394 с. [*Antonov S. F. Materials for the treatment of wounds and burns based on chitosan = Antonov S. F. Materialy dlya lecheniya ran i ozhogov na osnove khitozana. M.: Tsentr «Bioinzheneriya», 2013. 394 s. (In Russ.)*].
16. Зудина И. В., Ведяева А. П., Булкина Н. В. и др. Изучение воздействия хитозана на процесс заживления костного дефекта в экспериментах IN VIVO и IN VITRO. *Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2016; 21 (6): 171–179 [Zudina I. V., Vedyayeva A. P., Bulkina N. V., et al. Study of the effect of chitosan on the healing process of a bone defect in the IN VIVO and IN VITRO experiments = Zudina I. V., Vedyayeva A. P., Bulkina N. V. i dr. Izucheniye vozdeystviya khitozana na protsess zazhivleniya kostnogo defekta v eksperimentakh IN VIVO i IN VITRO. Izvestiya Saratovskogo universiteta. Novaya seriya. Seriya: Khimiya. Biologiya. Ekologiya. 2016; 21 (6): 171–179. (In Russ.)]*
17. Бегма А. Н., Бегма И. В., Хомякова Е. К. Опыт применения коллагеновых повязок и губок Метуракол в хирургической практике. *Русский медицинский журнал. 2014; 17 (22): 1248–1252. [Begma A. N., Begma I. V., Khomyakova E. K. Experience in the use of collagen dressings and sponges Meturakol in surgical practice = Begma A. N., Begma I. V., Khomyakova E. K. Opyt primeneniya kollagenovykh povyazok i gubok Meturakol v khirurgicheskoy praktike. Russkiy meditsinskiy zhurnal. 2014; 17 (22): 1248–1252. (In Russ.)]*