


ХІРУРГІЯ

УДК 619:615.83.015.4

Озонотерапія як нова антимікробна стратегія

Шаганенко Р.В. , Ільніцький М.Г. , Шаганенко В.С. , Рубленко С.В. 

Білоцерківський національний аграрний університет

 dep.parasitology@btsau.edu.ua

Шаганенко Р.В., Ільніцький М.Г., Шаганенко В.С., Рубленко С.В. Озонотерапія як нова антимікробна стратегія. Науковий вісник ветеринарної медицини, 2020. № 2. С. 195–200.

Shaganenko R.V., Il'nic'kyj M.G., Shaganenko V.S., Rublenko S.V. Ozonoterapija jak nova antymikrobnna strategija. Naukovyj visnyk veterynarnoi' medycyny, 2020. № 2. PP. 195–200.

Рукопис отримано: 23.05.20.

Прийнято: 10.06.20.

Затверджено до друку: 24.11.20.

doi: 10.33245/2310-4902-2020-160-2-195-200

Центр громадського здоров'я МОЗ України повідомляє, що стійкість до антибіотиків (антимікробна резистентність) та поява мультирезистентних бактеріальних штамів є проблемою глобального значення. Всесвітня Організація Охорони Здоров'я (ВООЗ) оголосила антибіотикорезистентність однією з основних загроз людству. Саме тому зменшення використання антибіотиків і пошук альтернативи останніх є актуальним питанням, зокрема у ветеринарній медицині.

Метою досліджень було вивчити антимікробні властивості озону стосовно збудників раневої інфекції і дослідити можливість використання озонотерапії як потенційного методу антимікробної терапії.

Матеріалом для визначення антимікробної дії озону були проби ексудату від хворих собак з гнійними ранами та змиви після санації гнійних ран озонованим 0,87 % розчином NaCl.

Складність перебігу ранового процесу за гнійного запалення значною мірою залежить від ступеня мікробного обсіменіння рани і видового складу мікроорганізмів. Тому важливим аспектом було вивчення антимікробних властивостей озону за його дії на гнійний ексудат *in vitro* і *in vivo* і визначення при цьому бактерицидного впливу на мікроорганізми.

Загальне мікробне число визначали методом серійних розведень за Пастером, а видовий склад мікроорганізмів – за культуральними та біохімічними властивостями культивованих мікробних колоній з наступною мікроскопією мазків чистих культур, пофарбованих за Грамом.

Мікрофлора гнійних ран була представлена *Staph. aureus*, *Str. faecalis* і *E. coli*. Мікробне забруднення гнійного ексудату до лікування становило від $6,6 \cdot 10^{10}$ до $3,7 \cdot 10^8$ КУО/мл. Озон проявляє антимікробний вплив на мікроорганізми в рані, однак за концентрації 7 мг/мл не чинить подразнюючої дії на тканини організму.

Результати мікробіологічних досліджень підтверджуються клінічними даними. Так, уже на третю добу лікування у тварин в зоні пошкодження була незначна кількість раневого ексудату, а мікробне число останнього склало $1,4 \cdot 10^4$ – $3,1 \cdot 10^3$ КУО/мл, що є нижче критичного рівня забруднення і в більшості випадків не призводить до прогресування гнійно-запального процесу, тому озонотерапія може розглядатися як додаткова або альтернативна терапія бактеріальної інфекції.

Ключові слова: озон, озонотерапія, гнійні рани, антибіотикорезистентність.

Постановка проблеми. Лікування тварин за раневої інфекції характеризується рядом особливостей, які утруднюють успішне його проведення, зокрема, зростання ролі патогенних мікроорганізмів, інфікування тканин мікробними асоціаціями, що потребують за-

стосування препаратів із широким спектром антимікробної дії.

У США щорічно помирають від інфекцій тисячі пацієнтів, які не змогли реагувати на антибактеріальні засоби, що є сигналом тривоги про погравлення летальності від бактеріальної

інфекції, тобто – початком закінчення ери антибіотиків [1].

Аналіз останніх досліджень. Криза резистентності мікроорганізмів до антибіотиків пояснюється надмірним використанням та зловживанням цими лікарськими засобами, а також відсутністю розробки нових лікарських засобів у фармацевтичній галузі через зменшення економічних затрат та складних нормативних вимог.

Гарвардські вчені довели, що бактерії швидко природним чином стають стійкими до антибіотиків за короткий проміжок часу. Модифіковане використання антимікробних препаратів та заходи громадського здоров'я, поєднані з новими антимікробними стратегіями, можуть допомогти пом'якшити дану ситуацію у майбутньому, але, можна не вагатися, що будь-який новий прорив буде недовгим. Наведені приклади ситуацій із реальною лікарнею за останні кілька десятиліть, про що свідчить команда науковців Гарварду [1].

Дані літератури свідчать, що озонотерапія значно підвищує ефективність антибіотиків у тварин за експериментального сепсису [2]. Зазначено, що озон надає значні фізіологічні ефекти кровообігу та посилення імунітету, які, як очікується, посилюють власні захисні сили організму [2–3]. Так, нещодавно науковець Скріпс повідомив про відкриття того, що наші органи насправді виробляють радикали кисневі, зокрема озон, як спосіб боротьби з інфекцією [4].

Результати досліджень науковців представляють озонотерапію як давно практичну і "нову антимікробну стратегію" [5–7].

Однак, методи терапії озоном значною мірою були проігноровані, або просто відійшли в сторону з появою запатентованих антибіотиків, широко поширеними фармацевтичними заводами. Однак, коли швидко закінчується епоха швидкого вилікування антибіотиками, медицина може розглядати можливість переходу до коренів окислювальної терапії за лікування інфекційних захворювань, зокрема озонотерапії [1–2].

Основна кількість наукових досліджень, як *in vivo*, так і *in vitro*, показали, що дослідження терапевтичної дії озону має ряд ефектів, включаючи модуляцію імунної системи, знищення мікроорганізмів, покращення мікроциркуляції та реологічних властивостей крові, а також відсутність канцерогенного впливу [8–12].

Тому, у зв'язку із появою бактерій, стійких до звичайних схем антибіотикотерапії, озонотерапія терміново потребує подальшого вивчення як основного або допоміжного ліку-

вання (разом з антибіотиками) для запобігання захворюваності та смертності від інфекцій.

У доступній літературі мало висвітлений спектр антимікробної дії озону різних концентрацій. У зв'язку із цим, на нашу думку, актуальним є дослідження антимікробної дії озону із подальшим врахуванням результатів при застосуванні озонотерапії для лікування тварин за ранової інфекції.

Метою досліджень було ідентифікувати збудників ранової інфекції у собак з гнійними ранами, вивчити антимікробні властивості озону щодо них та показати можливість використання озонотерапії як потенційного антимікробного методу лікування.

Матеріал і методи дослідження. Матеріалом для визначення антимікробної дії озону були 12 проб гнійного ексудату в кількості 2 мл, відібраних від хворих собак із гнійними ранами та змивів після санації озонованим 0,87 % розчином NaCl.

Інтенсивність запалення за ранового процесу значною мірою залежить від ступеня мікробного обсіменіння рани та видового складу мікроорганізмів, що наявні в рані.

Тому, мікробіологічний контроль перебігу ранового процесу за гнійного запалення (ідентифікація мікрофлори, кількісна її оцінка) має важливе діагностичне і прогностичне значення в процесі лікування, оскільки рівень мікробного обсіменіння рани відображає клінічну картину гнійно-запального процесу.

Водночас, важливим у наших дослідженнях було вивчення антимікробних властивостей озону за його дії на гнійний ексудат *in vitro* і *in vivo* та визначення при цьому бактерицидного впливу на мікроорганізми.

Найбільш стабільним та інформативним показником оцінки характеру гнійно-запального процесу є визначення загальної кількості мікроорганізмів в 1 мл виділень із гнійної рани. Загальне мікробне число (ступінь мікробного обсіменіння) визначали методом серійних розведень. Із гнійного ексудату готували серійні десятикратні розведення від 10^{-1} до 10^{-9} у пробірках із стерильним МПБ (по 9 мл) [13].

Видовий склад мікроорганізмів визначали за культуральними та біохімічними властивостями культивованих мікробних колоній з подальшою мікроскопією мазків із чистих культур, пофарбованих за методом Грама [14].

Мікробіологічному дослідженню піддавали проби із гнійним ексудатом до лікування та проби вмісту із порожнини рани через 30 хв після промивання озонованим розчином (концентрація озону 7 мг/л). Проводили також мікробіологічне дослідження гнійного

ексудату, який попередньо обробляли озоном у концентрації 7 мг/л *in vitro* у пробірці в кількості 2 мл шляхом його пропускання через ексудат (барботаж) за швидкості потоку 0,5 л/хв та тривалості обробки 10 хв. Дану концентрацію озону обрано на основі попередньо проведених досліджень, щодо впливу озону на стан тканин та клітин крові [15, 16]. Матеріал досліджували відразу після відбору та барботажу.

Результати досліджень. За культурально-морфологічними та біохімічними властивостями із зразків гнійного ексудату були ідентифіковані та виділені мікроорганізми *Staph. aureus*, *Str. Faecalis* та *E. coli*.

За дослідження мікробного обсіменіння гнійного ексудату в запальному вогнищі до лікування його ступінь становив від $6,6 \cdot 10^{10}$ до $3,7 \cdot 10^8$ колонієутворювальних одиниць в 1 мл ексудату (КУО/мл).

Вивчення антимікробної дії озону показало, що після 10 хв барботажу *in vitro* гнійного ексудату за усіх дослідних концентрацій озону ступінь мікробного обсіменіння не перевищувало 10^4 КУО/мл. Так, ступінь мікробного обсіменіння становив від $3,1 \cdot 10^4$ до $2,3 \cdot 10^3$ КУО/мл.

Результати мікробіологічних досліджень показали, що ріст мікроорганізмів на поживному середовищі в бактеріологічних чашках із пробами гнійного ексудату, оброблених озоном із концентрацією озону 7 мг/мл, був відсутнім уже в 10^{-5} ступені розведення (рис. 1), у той час як у посівах із необробленим гнійним ексуда-

том при такому ж розведенні кількість мікроорганізмів не піддавалась підрахунку (рис. 2).

Отримані дані дають підстави стверджувати, що озон має виражені антимікробні властивості.

Одночасно визначали антимікробну дію озону *in vivo*. Так за дослідження ранового змиву через 30 хв після промивання гнійних ран 200 мл озонованого ізотонічного розчину натрію хлориду у концентрації озону 7 мг/мл, мікроорганізми були відсутні. Це свідчить про 100 % загибель мікроорганізмів уже після одноразового промивання гнійної рани і застосована концентрація озону повністю попередила ріст *Staph. aureus*, *Str. faecalis* та *E. coli*.

Обговорення. Як видно із результатів проведеного мікробіологічного дослідження, доведено високий ступінь бактерицидної дії озонотерапії за санації ран озонованим розчином. Так, на 3-ю добу лікування лише в 3-х тварин у зоні ушкодження була незначна кількість ранового ексудату, мікробне число якого становило $1,4 \cdot 10^4$ – $3,1 \cdot 10^3$ колонієутворювальних одиниць (КУО) в 1 мл ексудату. Причому в жодному випадку воно не перевищувало 10^4 КУО/мл, що є нижчим за критичний рівень контамінації і в більшості випадків не призводить до прогресування гнійно-запального процесу [17–18].

Озон знищує всі види бактерій, вірусів, грибів і найпростіших. При цьому, на відміну від багатьох антисептиків, він не чинить руйнуючої та подразнювальної дії на тканини, оскільки клітини багатоклітинного організму мають антиоксидантну систему захисту [2, 8].

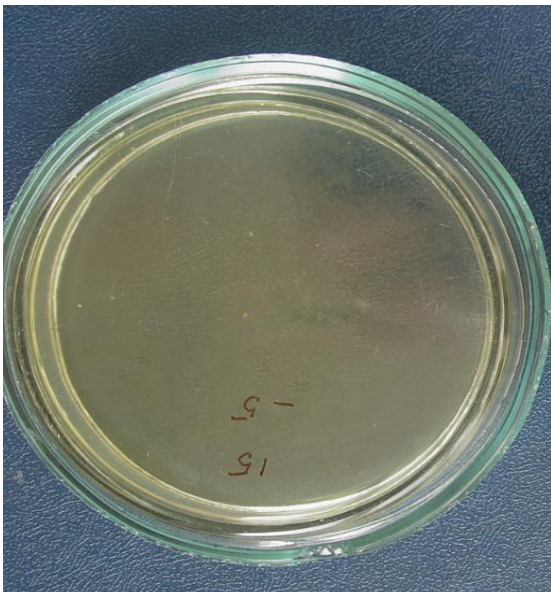


Рис. 1. Ріст мікробних колоній в обробленому озоном гнійному ексудаті в 10^{-5} ступені розведення проб.



Рис. 2. Ріст мікробних колоній у необробленому озоном гнійному ексудаті в 10^{-5} ступені розведення проб.

Серед причин бактерицидного ефекту озону найчастіше згадують порушення цілісності оболонки бактеріальних клітин, що пов'язано з окисненням фосфоліпідів і ліпопротеїдів. Грампозитивні бактерії більш чутливі до озону, ніж грамнегативні, що пов'язано з відмінностями в будові їх оболонки. Є також дані про взаємодію озону з протеїнами. Виявлено проникнення озону всередину мікробної клітини, вступ його в реакцію з речовинами цитоплазми і перетворення замкнутого плазмиду ДНК у відкриту ДНК, що знижує проліферацію бактерій [11, 12].

Озон в концентрації 7 мг/мл не справляє руйнуючої дії на тканини і клітини, він покращує реологічні властивості крові та мікроциркуляцію. Кров за наявності озону може поглинати в 2–10 разів більше кисню, ніж за звичайних умов, оскільки кисень розчиняється в плазмі [19–20].

Висновок. Отже, озонований фізіологічний розчин натрію хлориду забезпечує бактерицидний ефект за лікування собак із гнійними ранами, що дає змогу використовувати його за хірургічної інфекції. Тому, озонотерапія може розглядатися як додатковий чи альтернативний метод лікування за хірургічної бактеріальної інфекції у собак.

Перспективою подальших досліджень є вивчення можливості використання озонотерапії продуктивним тваринам, що зменшить використання антибіотиків у останніх, а відповідно і продукція від них буде безпечнішою для здоров'я людини.

Відомості про конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Rowen Robert Jay. Ozone therapy as a primary and sole treatment for acute bacterial infection: case report. *Medical Gas Research*. 2018. no. 8(3). P. 121–124. Doi:https://doi.org/10.4103/2045-9912.241078
2. Rowen Robert Jay. Ozone therapy in conjunction with oral antibiotics as a successful primary and sole treatment for chronic septic prosthetic joint: review and case report. *Medical Gas Research*. 2018. no. 8(2). P. 67–71. Doi:https://doi.org/10.4103/2045-9912.235139
3. Отчич О. Біологічні аспекти впливу озону на кров. *Вісник Львівського університету*. 2012. Вип. 59. С. 23–36.
4. Investigating antibody-catalyzed ozone generation by human neutrophils / B.M. Babior et al. Jr. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003. no. 100. P. 3031–3034. Doi:https://doi.org/10.1073/pnas.0530251100
5. Buric J., Berjano P., Damilano M. Severe Spinal Surgery Infection and Local Ozone Therapy as Complementary Treatment: A Case Report. *International Journey of Spine Surgery*. 2019. no. 13 (4). P. 371–376. Doi:https://doi.org/10.14444/6050
6. Hernández F.A. To what does ozone therapy need a real biochemical control system? Assessment and importance

of oxidative stress. *Arch. Medical Research*. 2007. no. 38. P. 571–578. Doi:https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2007.03.002

7. Підборська Р. В., Шаганенко В. С. Озонотерапія – безпечна альтернатива антибіотикотерапії. *Науковий вісник ветеринарної медицини*. 2016. Вип. 2. С. 69–74.

8. Tiwari S., Avinash A., Katiyar S. Dental applications of ozonotherapy: a review of literature. *Saudi Journal. Dental Research*. 2017. no. 8(1). P. 105–111.

9. Amin Laila E. Biological assessment of ozone therapy on experimental oral candidiasis in immunosuppressed rats. *Biochem Biophys Rep*. 2018. no. 15. P. 57–60. Doi:https://doi.org/10.1016/J.BBREP.2018.06.007

10. Росул М. В., Пацкань Б. М. Мікробіологічний моніторинг ран у хворих на синдром стопи діабетика на фоні озонотерапії в практиці сімейного лікаря. *Здоров'я нації*. 2016. no. 1–2 (37–38). С. 165–169.

11. Bocci V. *Ozone: a new medical drug*. Dordrecht, The Netherlands: Springer. 2011. P. 1–4.

12. Холодняк О. В. Лікування, профілактика та прогнозування локалізованих запальних захворювань тканин пародонта: дис. ... канд. мед. наук: спец. 14.01.22. Ужгород, 2017. 204 с.

13. Загальна мікробіологія : методичні вказівки з мікробіологічних методів досліджень / В. В. Рухляда та ін. Біла Церква: БДАУ, 1999. 52 с.

14. Определитель бактерий Берджи / Дж. Хоулт и др.; под ред. Дж. Хоулта. 9-изд., 2-томное. М: Мир, 1997. 799 с.

15. Підборська Р. В. Вплив озонованого фізіологічного розчину на стан пероксидного гемолізу еритроцитів та їх популяційний склад у крові собак. *Наук. вісник Луган. нац. аграр. ун-ту: ветеринарні науки*. Луганськ, 2009. № 9. С. 64–68.

16. Ільницький М. Г., Підборська Р. В., Тарануха С. І. Вплив різних концентрацій озono-кисневої суміші на мікробний пейзаж гнійних ран у собак. *Вісник Полтав. держ. аграр. акад. Полтава*, 2009. № 4. С. 154–158.

17. Ільницький М. Г., Підборська Р. В. Озонотерапія як безпечний та перспективний метод у ветеринарній практиці. *Вісник ЖНАЕУ*. 2015. № 2 (50). Т. 1. С. 348–354.

18. Ільницький М. Г., Підборська Р. В., Солодчук В. Л. Озонотерапія у практиці ветеринарної хірургії: методичні рекомендації. Біла Церква, 2011. 23 с.

19. Parva J., Gunjan P., Priti Y. Ozone therapy: the alternative medicine of future. *Rev. Art. Pharm. Sci*. 2012. Vol. 2. Issue 4. P. 196–203.

20. Seidler V., Linetskiy I., Hubalkova H. Ozone and its usage in general medicine and dentistry. A review article. *Prague Med. Report*. 2008. Vol. 109. no. 1. P. 5–13. PMID: 19097384

REFERENCES

1. Rowen Robert, Jay. (2018). Ozone therapy as a primary and sole treatment for acute bacterial infection: case report. *Medical Gas Research*. no. 8(3), pp. 121–124. Available at:https://doi.org/10.4103/2045-9912.241078
2. Rowen Robert, Jay. (2018). Ozone therapy in conjunction with oral antibiotics as a successful primary and sole treatment for chronic septic prosthetic joint: review and case report. *Medical Gas Research*. no. 8(2), pp. 67–71. Available at:https://doi.org/10.4103/2045-9912.235139
3. Otchych, O. (2012). Bioloichni aspekty vplyvu ozonu na krov [Biological aspects of ozone effect on blood].

Visnyk Lvivskoho universytetu [Bulletin of Lviv University]. Vol. 59. pp. 23–36.

4. Babior, B.M., Takeuchi, C., Ruedi, J., Gutierrez, A., Wentworth, P. (2003). Investigating antibody-catalyzed ozone generation by human neutrophils. *Jr. Proc Natl Acad Sci USA*. no. 100, pp. 3031–3034. Available at: <https://doi.org/10.1073/pnas.0530251100>

5. Buric, J., Berjano, P., Damilano M. (2019). Severe Spinal Surgery Infection and Local Ozone Therapy as Complementary Treatment: A Case Report. *International Journey of Spine Surgery*. no. 13(4), pp. 371–376. Available at: <https://doi.org/10.14444/6050>

6. Hernández, F.A. (2007). To what does ozone therapy need a real biochemical control system? Assessment and importance of oxidant stress. *Arch. Medical Research*. no. 38, pp. 571–578. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2007.03.002>

7. Pidborska, R.V., Shahanenko, V.S. (2016). Ozonoterapiia – bezpechna alternatyva antybiotykoaterapii [Ozone therapy is a safe alternative to antibiotic therapy]. *Naukovyi visnyk veterynarnoi medytsyny [Scientific Bulletin of Veterinary Medicine]*. Vol. 2, pp. 69–74.

8. Tiwari S., Avinash, A., Katiyar, S. (2017). Dental applications of ozone therapy: a review of literature. *Saudi Journal. Dental Research*. no. 8(1), pp. 105–111.

9. Amin Laila, E. (2018). Biological assessment of ozone therapy on experimental oral candidiasis in immunosuppressed rats. *Biochem Biophys Rep*. no. 15, pp. 57–60. Available at: <https://doi.org/10.1016/J.BBREP.2018.06.007>

10. Rosul, M.V., Patskan, B.M. (2016). Mikrobiolohichni monitorynh ran u khvorykh na syndrome stopy diabetyka na foni ozonoterapii v praktytsi simeinoho likaria [Microbiological monitoring of wounds in patients with diabetic foot syndrome on the background of ozone therapy in the practice of a family doctor]. *Zdorovianatsii [The health of the nation]*. no. 1–2 (37–38), pp. 165–169.

11. Bocci, V. (2011). *Ozone: a new medical drug*. Dordrecht, The Netherlands: Springer. pp. 1–4.

12. Kholodniak, O.V. (2017). Likuvannia, profilaktyka ta prohnozuvannia lokalizovanykh zapalnykh zakhvoriuvan tkanyh parodonta: dys. ... kand. med. nauk: spets. 14.01.22. [Treatment, prevention and forecasting of the localized inflammatory diseases of periodontal tissues: the dissertation of the candidate of medical sciences: special. 01/14/22]. Uzhhorod, 204 p.

13. Rukhliada, V.V., Kulnych, M.M., Zotsenko, V.M. (1999). *Zahalna mikrobiolohiia :metodychni vkazivky z mikrobiolohichnykh metodiv doslidzhen [General microbiology: guidelines for microbiological research methods]*. Bila Tserkva: BSAU, 52 p.

14. Khoultta, Dzh., Kryh, N., Snyt, P. (1997). *Opredelytel bakteryi Berdzhyy [Bergey's guide to bacteria]*. 9-yzd., 2- tomnoe [9-th ed., 2 volumes]. M: Peace, 799 p.

15. Pidborska, R.V. (2009). Vplyv ozonovanoho fiziolohichnoho rozchynu na stan peroksydnoho hemolizu erytrotsytyv ta yikh populiatsiinyi sklad u krovi sobak [The effect of ozonated saline on the state of peroxide hemolysis of erythrocytes and their population composition in the blood of dogs]. *Nauk. visnykLuhan. nats. ahrar. un-tu: veterynarni nauky [Scientific Bulletin of Luhansk National Agrarian University: Veterinary Sciences]*. Lugansk, no. 9, pp. 64–68.

16. Ilnitskyi, M.H., Pidborska, R.V., Taranukha, S.I. (2009). Vplyv riznykh kontsentratsii ozono-kysnevoi sumishi

na mikrobnii peizazh hniinykh ran u sobak [Influence of different concentrations of ozone-oxygen mixture on the microbial landscape of purulent wounds in dogs]. *Visnyk Poltav. derzh. ahrar. akad. [Bulletin of the Poltava State Agrarian Academy]*. Poltava, no. 4, pp. 154–158.

17. Ilnitskyi M.H., Pidborska, R.V. (2015). Ozonoterapiia yak bezpechnyi ta perspektyvnyi metod u veterynarii praktytsi [Ozone therapy as a safe and promising method in veterinary practice]. *Visnyk ZhNAEU [Bulletin of Zhytomyr National Agroecological University]*. no. 2 (50), Vol. 1, pp. 348–354.

18. Ilnitskyi, M.H., Pidborska, R.V., Solodchuk, V.L. (2011). Ozonoterapiia u praktytsi veterynarnoi khirurhii: metodychni rekomendatsii [Ozone therapy in the practice of veterinary surgery: guidelines]. *Bila Tserkva*, 23 p.

19. Parva, J., Gunjan, P., Priti, Y. (2012). Ozone therapy: the alternative medicine of future. *Rev. Art. Pharm. Sci*. Vol. 2, Issue 4, pp. 196–203.

20. Seidler, V., Linetskiy, I., Hubalkova, H. (2008). Ozone and its usage in general medicine and dentistry. A review article. *Prague Med. Report*. Vol. 109, no.1, pp. 5–13. PMID: 19097384

Озонотерапия как новая антимикробная стратегия Шаганенко Р.В., Ильницький Н.Г., Шаганенко В.С., Рубленко С.В.

Центр общественного здоровья МОЗ Украины сообщает, что устойчивость к антибиотикам (антимикробная резистентность) и появление мультирезистентных бактериальных штаммов является проблемой глобального значения. Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) объявила антибиотикорезистентность одной из основных угроз человечеству. Именно поэтому уменьшение использования антибиотиков и поиск альтернативы последних является актуальным вопросом, в частности и в ветеринарной медицине.

Целью исследований было изучить антимикробные свойства озона относительно возбудителей раневой инфекции и исследовать возможность использования озонотерапии как потенциального метода антимикробной терапии. Материалом для определения антимикробного действия озона были пробы гнойного экссудата от больных собак с гнойными ранами и смывы после санации гнойных ран озонированные 0,87 % раствором NaCl.

Сложность течения раневого процесса при гнойном воспалении в значительной степени зависит от степени микробного обсеменения раны и видового состава микроорганизмов. Поэтому важным аспектом было изучение антимикробных свойств озона за его действия на гнойный экссудат *in vitro* и *in vivo* и определение при этом бактерицидного воздействия на микроорганизмы.

Общее микробное число определяли методом серийных разведений по Пастеру, а видовой состав микроорганизмов определяли по культуральным и биохимическим свойствам культивируемых микробных колоний с последующей микроскопией мазков чистых культур, окрашенных по Граму.

Микрофлора гнойных ран была представлена *Staph. aureus*, *Str. faecalis* и *E. coli*. Микробное загрязнение гнойного экссудата до лечения составляло от $6,6 \cdot 10^{10}$ до $3,7 \cdot 10^8$ КОЕ/мл. Озон уничтожает все виды бактерий, вирусов, грибов и простейших, однако при концентрации

7 мг/мл не оказывает раздражающего действия на ткани организма.

Результаты микробиологических исследований подтверждаются клиническими данными. Так, уже на третьи сутки лечения у животных в зоне повреждения было незначительное количество раневого экссудата. Микробное число последнего составило $1,4 \cdot 10^{-4}$ – $3,1 \cdot 10^{-3}$ КОЕ/мл, что ниже критического уровня загрязнения и в большинстве случаев не приводит к прогрессированию гнойно-воспалительного процесса, поэтому озонотерапия может рассматриваться как дополнительная или альтернативная терапия бактериальной инфекции.

Ключевые слова: озон, озонотерапия, гнойные раны, антибиотикорезистентность.

Ozonotherapy as a new antimicrobial strategy

Shahanenko R., Ilnitskiy N., Shahanenko V., Rublenko S.

Development of antibiotic-resistant strains of microorganisms is a dangerous phenomenon, actively progressing every year. The uncontrolled use of antibiotics for animals, accumulation in products of animal origin ultimately poses a danger to human health. That is why a decrease in the use of antibiotics and searching alternatives of antibiotic is acute and relevant issues.

Therefore, the aim of our research was to study the antimicrobial properties of ozone in relation to pathogens of purulent infection and to show the possibility of using ozone therapy as a potential method of antimicrobial therapy for animals.

The materials for determining antimicrobial effect of ozone was 12 samples of purulent exudate in an amount of 2 ml, taken from dogs with purulent wounds before and after sanitation by ozonized 0.87% NaCl solution.

Complexity course of wound process with purulent inflammation largely depends on from degree of microbial contamination of the wound and species composition of microorganisms. Therefore, an important aspect in our research was the study of the antimicrobial properties of ozone on its action of purulent exudate «in vitro» and «in vivo» and the determination of the bactericidal effect on microorganisms.

The most stable and informative indicator of assessing nature of purulent-inflammatory process is the determination of total number of microorganisms in 1 ml of discharge from a purulent wound. The total microbial number was determined by the method of serial dilutions according to Pasteur. Serial ten-fold dilutions from 10^{-1} to 10^{-9} were pre-

pared from purulent exudate in test tubes with sterile MPB (9 ml each).

Species composition of microorganisms was determined by cultural and biochemical properties of cultivated microbial colonies, followed microscopy of smears from pure cultures stained using method of Gram.

Samples of purulent exudate were subjected to microbiological examination before treatment, and after 30 minutes of washing by ozonized isotonic solution NaCl (ozone concentration of 7 mg/ml). A microbiological study of purulent exudate was also carried out, pre-treated with ozone at a concentration of 7 mg/ml «in vitro» in a test tube in an amount of 2 ml by passing it through exudate (sparging) at a flow rate of 0.5 L/min and a processing time of 10 min. Samples were examined immediately after sampling and sparging.

"Microbial landscapes" of purulent wounds were presented by associations of Staph. aureus, Str. faecalis, E. coli. Microbial seeding of purulent exudate for treatment ranged from $6.6 \cdot 10^{-10}$ to $3.7 \cdot 10^{-8}$ CFU/ml, however, after 10 min of bubbling «in vitro» at an ozone concentration of 7 mg/ml, the degree of microbial seeding of samples did not exceed 10^{-4} CFU/ml and ranged from $3.1 \cdot 10^{-4}$ to $2.3 \cdot 10^{-3}$ CFU/ml.

As shown by the results of microbiological studies, the growth of microorganisms on a nutrient medium in bacteriological plates with purulent exudate samples treated with ozone with concentration of 7 mg/ml was already absent at 10^{-5} degrees of dilution, which indicates the pronounced antimicrobial properties of ozone.

The study «in vivo» also indicates that even after a single use of an ozonized isotonic NaCl solution at an ozone concentration of 7 mg/ml, it completely prevents the growth of Staph. aureus, Str. faecalis, E. coli. and causes 100% death mentioned associations of microorganisms.

The results of microbiological studies are confirmed by clinical data. So, on the third day of treatment, the animals in the lesion zone had a small amount of wound exudate, and the microbial number of the latter was $1.4 \cdot 10^{-4}$ – $3.1 \cdot 10^{-3}$ CFU/ml, below the critical level of contamination and in most cases not leads to the progression of a purulent-inflammatory process.

Ozone destroys all types of bacteria, viruses, fungi and protozoa. At the same time, ozone at a concentration of 7 mg/ml does not have an irritating effect on body tissues, therefore, ozone therapy can be considered as an additional or alternative therapy of bacterial infection

Key words: ozone, ozonotherapy, purulent wounds, antibiotic resistance.



Copyright: © Шаганенко Р.В. та ін. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.



Шаганенко Р.В.
Ільніцький М.Г.
Шаганенко В.С.
Рубленко С.В.

ID <https://orcid.org/0000-0002-5848-1367>
ID <https://orcid.org/0000-0001-6130-6001>
ID <https://orcid.org/0000-0003-3484-2962>
ID <https://orcid.org/0000-0003-0678-5497>