

ОБРАЗОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОЙ БИОПЛЕНКИ НА ТИТАНОВЫХ ДИСКАХ С РАЗЛИЧНОЙ ПОВЕРХНОСТЬЮ

Кабанова А.А.¹, Ядройцев И.², Плотников Ф.В.¹,

Сенькович С.А.¹, Мовсесян Н.А.¹

1 – УО «Витебский государственный медицинский университет»

2 – Центральный Технологический Университет, Блумфонтейн, ЮАР

Введение. Биосовместимые имплантационные материалы широко используются в стоматологии, хирургии, травматологии и ортопедии и т.д.. Известно, что изделие из биосовместимого материала должно обладать антибактериальными свойствами. Образование биопленки на поверхности изделия может приводить к развитию воспалительных процессов на границе изделие – ткани организма. В то же время необходимо изучать свойства сплавов титана с другими металлами, так как при добавлении в сплав тех или иных элементов можно изменять свойства сплава и, соответственно, самого изделия. Способ взаимодействия имплантата и окружающих его тканей зависит от свойств конкретного материала. При выборе материала имеют значение такие свойства, как биосовместимость, механические свойства, прочность, износостойкость, устойчивость к коррозии, токсичность, антибактериальные свойства [1]. Технически чистый титан находит широкое применение в области медицины. Биологическая инертность и высокие коррозионные свойства, обеспеченные наличием окисной пленки толщиной

менее 10 нм [2], делают данный материал исключительно привлекательным для изготовления костных имплантатов и медицинских инструментов [3]. Изделия из титана менее восприимчивы к прилипанию бактерий, чем из нержавеющей стали [4].

Цель – определить способность микроорганизмов образовывать биопленку на титановых дисках с различной поверхностью.

Материалы и методы. Изучение формирования биопленки на дисках выполнено с использованием стандартных штаммов из американской коллекции культур ATCC *S. aureus* и *P. aeruginosa*. В работе использованы три варианта дисков: А – диск из чистого медицинского титана (pure), В – диск из сплава титана и меди (alloy 1%), С – диск из титана, покрытого медью (surface). Диаметр каждого диска – 10 мм, высота 3 мм. Диски были произведены на EOSINT M280 аппарате, оснащённом лазером, работающим на длине волны 1075 нм. На поверхности дисков в соответствии со стандартами лазером созданы полосы на расстоянии 100 мкм друг от друга. В качестве защитной среды использован Аргон. Затем для снятия напряжения диски типа А были подвергнуты термической обработке при 650⁰С 3ч. Диск типа В получен на месте легирования Ti6Al4V и Cu порошков, при этом в титановом сплаве получают 1% меди. Диск типа С получают путем прямого плавления порошка меди на поверхность Ti6Al4V: один слой толщиной (30 мкм) чистого медного порошка осаждали на ранее произведенный диск типа А.

Для изучения толщины сформированной биопленки стерильные диски из титана, сплава титана и меди, титана, покрытого медью, погружали в стерильную чашку Петри с агаром Мюллера-Хинтона на половину высоты диска рабочей поверхностью вверх. Готовили взвесь микроорганизмов в бульоне Мюллера-Хинтона в разведении $1,5 \cdot 10^8$ /мл объемом 3 мл. Полученную взвесь микроорганизмов переносили в чашку Петри со средой и дисками, инкубировали в течение 3 суток в термостате. Далее диски с выросшей на них биопленкой переносили на предметное стекло, биопленку фиксировали, окрашивали бромистым этидием. Визуализацию трехмерной

структуры биопленок проводили с помощью лазерного сканирующего конфокального микроскопа Leica TCS SPE с программным обеспечением LAS AF. Анализ полученных изображений проводился на компьютере с помощью программы LAS F 3.6. Эксперимент был воспроизведен троекратно. Измерение толщины сформированной биопленки для каждого диска в каждом опыте выполнялось в 10 точках (итого 90 измерений). Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием программы «Statistica 10.0». Сравнение результатов между группами выполнено с использованием критерия Mann-Whitney.

Результаты. При изучении свойств биопленок, выращенных на трех типах дисков, получены следующие результаты: наибольшая толщина биопленки регистрировалась на диске В (alloy 1%), наименьшая – на диске А (pure titanium). Диск С (surface) занимает промежуточное положение. Для *S. aureus* полученные данные: А – 80 (72,5-90) мкм, В – 156 (90-220) мкм, С – 110 (100-160) мкм. Для *P. aeruginosa*: А – 31,5 (19-60) мкм, В – 46,5 (43-90) мкм, С – 39,5 (38-42) мкм.

При этом выявлена статистически значимая разница толщины биопленки *S. aureus*, сформированной на различных типах дисков. Так, толщина БП на диске А (pure titanium) была достоверно ниже, чем на диске В (alloy 1%) и диске С (surface), соответственно, $p=0,0003$ и $p=0,005$. При это не выявлено статистически значимых отличий толщины БП *S. aureus*, образовавшейся на дисках В и С ($p>0,05$).

Для биопленки *P. aeruginosa* характерна статистически значимая меньшая толщина на диске А относительно дисков В, $p=0,007$. При этом достоверных отличий толщины БП на диске А и С не выявлено, не смотря на более низкие значения изучаемого параметра на диске из чистого титана (А). Выявлена статистически значимая меньшая толщина БП *P. aeruginosa* на диске С (surface) относительно диска В (alloy 1%), $p=0,018$.

При сравнении толщины БП сформированной на дисках изучаемыми возбудителями выявлена статистически значимая большая толщина БП *S.*

aureus относительно БП *P.aeruginosa*: диск А (pure) $p=0,00008$, диск В (alloy 1%) $p=0,0002$, диск С (surface) $p=0,0007$.

Выводы. При изучении способности микроорганизмов образовывать биопленку на поверхности дисков из титана выявлена закономерность: наибольшая толщина биопленки регистрируется на диске типа В (сплав титана и меди), наименьшая – на диске типа А (чистый титан). Диск типа С (титан, покрытый медью) занимает промежуточное положение, что свидетельствует о том, что различная химическая структура поверхности дисков влияет на способность микроорганизмов образовывать на них биопленку по-разному.

Литература:

1. Silver-coated nylon fiber as an antibacterial agent / MacKeen P.C. [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 1987. – №31. – P. 93–99.
2. Interactions between Cells and Titanium Surfaces / E. Eisenbarth [et al.] // *Biomolecular Engineering.* – 2002. – №19. – P. 243-249.
3. *Biomaterials Science and Engineering* / Edited by R. Pignatello. – InTech, 2011. – 468 p.
4. Gad, G.F.M. In-vitro adhesion of *Staphylococcus* spp. to certain orthopedic biomaterials and expression of adhesion genes / G.F.M. Gad, A.A.A. Aziz, R.A. Ibrahem // *J. Appl. Pharm. Sci.* – 2012. – №2. – P. 145-149.