

Використання антибактеріальних властивостей електретних поверхонь для профілактики інфекційних ускладнень після остеосинтезу

Ключові слова: профілактика інфекції, антимікробні покриття, остеосинтез.

Інфекційні ускладнення, в випадках використання занурюваних імплантатів, навіть при адекватній антибіотикопротекції, виникають до 0,5-6% випадків. В Україні такі ускладнення виникають особливо у пацієнтів з масивними імплантатами, з ендопротезами суглобів, з онкологічними мегапротезами, коли пригнічення локальних репаративних процесів посилюється загальним важким станом здоров'я [1, 3, 12, 14]. Вміст антибіотика в складі імплантата, з можливістю вивільнення в рану, зупиняє і пригнічує розвиток мікрофлори на імплантатах та в оточуючих тканинах [2], але така технологія не підходить до металевих сплавів. Схожі властивості мають покриття з вмістом срібла або міді, активні іони цих металів можуть зупинити розвиток мікрофлори на імплантатах та в оточуючих тканинах [5, 6, 17], але широкого практичного застосування такі технології не отримали. Загально відомо, що першим етапом в початку інфекційного ускладнення стає утворення мікробних біоплівки на імплантаті [15]. Біоплівка утворюється та формується після адгезії мікрофлори, тому пошук нових засобів впливу на поверхню імплантату, які будуть перешкоджати прикріпленню бактерій, що попередить розвиток інфекції. Адгезії мікрофлори на поверхні імплантатів перешкоджають функціональні полімерні покриття [4, 13, 16, 18]. Такі властивості також притаманні поверхням з окису титана в формі анатаз [1, 10] та окису тантала [11], що знаходять використання в випадках, коли є високий ризик інфекційних ускладнень. Ми вдосконалили один із методів отримання анатази [9] і наші

українські виробники «Восток-Н» та Medical Assistance Vital FZ-LLC мають обладнання для мікродугового оксидування титану, і такі трансформовані імплантати можна використовувати в практичній роботі.

Мета: оцінити ефективність запобігання формування мікробних біоплівки на поверхнях імплантатів з титанових сплавів BT5-1, BT6 з перетвореної поверхнею в анатаз, оцінити ефективність накісткового остеосинтезу пластинами з антибактеріальним покриттям, коли поряд з зоною оперативного втручання є осередки запалення, що підвищує ризик інфекційного ускладнення.

Матеріали та методи.

Для перетвореної в анатаз поверхні титанових сплавів оцінена здатність запобігати формуванню мікробних біоплівки *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*.

Дослідження антибактеріальних властивостей поверхонь проводиться в суспензіях бактерій в статичному режимі або в проточному осередку, коли оцінюється життєздатність та кількість планктонної форми бактерій в залежності від часу контакту з модифікованою поверхнею. Дослідження виконувалось в бактеріологічній лабораторії КУ «Севєродонецька міська багатопрофільна лікарня». В нашій лабораторії немає можливості працювати з відкритими колоніями мікрофлори, оцінку розвитку бактерій виконуємо в закритих пробірках або чашках Петрі. Враховуючи, що мікробна біоплівка складається на 80% з білкового матриксу, тому за кількістю фіксованого матриксу, який залишався на пластинках після автоклавування, ми оцінювали інтенсивність утворення бактеріальних плівок на імплантатах. Використовували метод адгезії в статичному осередку і диско-дифузний метод.

У першій серії експерименту досліджували властивості покриття з анатази. Готували міліарну суспензію *Staphylococcus aureus* і *Escherichia coli* ($1,5 \times 10^2$ КУ/мл). В кожну пробірку наливали по 5 мл суспензії кожного штаму мікроорганізму, потім занурювали пластини з BT5-1 і BT6, пластини з BT5-1 і BT6 з перетвореної в анатаз поверхнею, пластини з BT5-1 і BT6 з перетвореної

поверхнею в анатаз з наявністю в порах SiO₂. Вміст пробірок перемішували 2 рази на добу. Через 3 дні пробірки автоклаували. Поверхню пластин досліджували на мікроскопі XS 6220 UCMJS05100KPA під збільшенням 100*. Інтенсивність формування мікробних біоплівки на пластинах оцінювали візуально по чотирьох хресній системі.

У другій серії моделювали інтраопераційну контамінацію мікрофлорою імплантату. У чашках Петрі, на шар агар-агара розміщували стерильні пластини з BT5-1 і BT6, пластини з BT5-1 і BT6 з перетвореної в анатаз поверхнею, поруч до контакту з пластинами наносили петлею музейну флору *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* і *Pseudomonas aeruginosa*. Ріст мікрофлори оцінювали на першу, другу та третю добу, відстань від межі росту колоній бактерій до краю пластин вимірювали штангенциркулем.

Проведено ретроспективний аналіз лікування 6 пацієнтів з переломами кісток в травматологічному відділенні КУ «Севєродонецька міська багатопрофільна лікарня» в 2019 році. Блокуючі пластини з антибактеріальним покриттям використовували в випадках, коли був високий ризик інфекційних ускладнень, пошкодження тазу та стегна, ризик попадання мікрофлори на місце остеосинтезу з поряд розташованого вогнища запалення [7]:

Пацієнт С., 64 роки з пухлинним ураженням нижньої щелепи (Т3N0M0, стадія 3). Після резекції пухлини, пластина LCP з'єднала вільні половинки нижньої щелепи, але в ротовій порожнині імплантат торкався слизової (контамінація). Через високий ризик нагноєння дефект на рівні підборіддя був скріплений пластиною LCP з антибактеріальним покриттям (Рис 1.)

Пацієнтка С., 31 рік, з вторинно відкритим переломом правого плеча. Пацієнтка звернулася за допомогою через 7 днів після пошкодження. Рана на місці прокола уламком була під «кіркою», крайова гіперемія. Через велике зміщення, інтерпозицію фасцією, спроби виконати закриту репозицію були невдалі. На 12 добу після ушкодження виконали остеосинтез пластиною LCP з антибактеріальним покриттям.

Пацієнтка З., 58 років. Після остеосинтезу черезвертлюгового перелому правого стегна, перелом не зрісся, сталася міграція гвинта в головці стегна. Під час видалення пластини DHS, знайдено, що пластина та гвинт в шийці стегна оточені пухкими грануляційними тканинами. Зважаючи на наявність ознак запалення, виконано реостеосинтез блокуючою проксимальною стегною пластиною з антибактеріальним покриттям.

Пацієнтка Н. 56 років, з незросшимся черезвертлюговим переломом лівого стегна, варусна деформація, виражена привідна контрактура лівого кульшового суглоба, пролежень на крижовій області зліва. Вважаючи на наявність пролежня поряд з місцем оперативного втручання, фіксацію підвертлюгової коригуючої остеотомії лівого стегна виконано блокуючою проксимальною стегною пластиною з антибактеріальним покриттям (Рис.2).

Два пацієнта, З., 31 рік та П., 49 років. Вони потрапили в реанімацію з приводу політравми, ушкодження органів грудної клітки, ушкодження таза з розходження симфізу 6 см. У пацієнтів були гематоми над крижовою областю, які загноїлися, виконано дренивання нагноєнь. В відділення травматології пацієнти переведені з ранами, які ще не загоїлися. Для лікування пошкодження тазу методом витягання в гамаці положення «на спині» пацієнти не переносили. Вважаючи на наявність вогнеща запалення (дреновані нагноєні гематоми) поряд з місцем оперативного втручання, виконано стабілізацію лобкового симфізу блокуючою реконструктивною пластиною з антибактеріальним покриттям.

Аналіз результатів лікування проводився в термін від 3 до 9 місяців. Результати лікування оцінювали комплексно на основі термінів анатомічного і функціонального відновлення [8]. Анатомічне відновлення визначали по результатам рентгенологічних досліджень по загальновизнаним методикам при надходженні до стаціонару, після операції, через 1,5, 3, 6, 9 місяців після операції. Функціональне відновлення оцінювали за результатами гоніометрії та термінам відновлення опірності кінцівок.

Оцінку результату робили по п'ятибальній системі. При комплексній оцінці загальний результат вважався відмінним (5 балів), якщо консолідація кісткових уламків і повне відновлення функції наступало в загально прийнятні терміни. При зрощенні перелому і відновленні функції в подвійний термін, але не більше 4-х місяців, результат оцінювали, як хороший (4 бали). Якщо по одному з показників відновлення наступало в термін більше 6 міс., то результат лікування вважали задовільним (3 бали). Незадовільним вважали результат коли формувалася хибний суглоб, розвивався остеомієліт, було виражене порушення функції кінцівки.

Результати та обговорення.

Після автоклавовання на пластинах BT5-1 і BT6 були сліди біоплівки чорного і коричневого кольору у всіх випадках.

Після автоклавовання на пластинах з поверхнею зміненої в анатаз сліди біоплівки не були виявлені в пробірках з *St.aureus*. У пробірках з *E.coli* були поодинокі сліди світлих плівок.

Таблиця 1. Інтенсивність формування біоплівки на імплантатах за 3 доби.

Матеріал імпантатів	<i>St. aureus</i>	<i>Esh.coli</i>
Титанова пластина BT5-1, BT-6	++++	++++
Титанова пластина BT5, BT-6+АНАТАЗ	+/-	+/--
Титанова пластина BT5-1, BT-6+АНАТАЗ+SiO ₂	----	+/-

Результати показують, що на всіх покриттях з анатаз, в порівнянні з немодифікованими пластинами, помітно зменшувалась інтенсивність початкової адгезії і кількість колоній бактерій, які закріпилися на поверхні (Табл.1). На поверхнях з вмістом SiO₂ формування біоплівки було мінімальним (Рис.3).

У другій серії в чашках Петрі з пластинами BT5-1 і BT6 за першу добу колонії культур *St.aureus* і *Ps.aeruginosa* досягали країв пластин, на третю добу колонії починали обростати навколо пластин з щільним контактом з краєм

пластин. Колонії *E.coli* за першу добу досягали краю пластин, на третю добу обростали навколо пластин на 10-20 мм (Рис.4).

У всіх випадках з поверхнею анатаза і анатаза з SiO_2 за першу добу колонії мікроорганізмів наближалися за 1-2 мм до краю пластин, на третю добу колонії збільшувалися в розмірах біля пластин, повторювали форму пластин на відстані 1-0,5 мм, але не торкалися країв (Рис.4).

Ретроспективний аналіз лікування всіх 6 пацієнтів показав позитивні результати. У всіх пацієнтів післяопераційні рани зажили первинним натяженням. Консолідація перелому і відновлення функції досягнуто у 4-х хворих (5 балів). В випадку заміщення дефекту нижньої після резекції пухлини, післяопераційна рана загоїлась в стандартні терміни, нестабільності на місці фіксації немає, функція нижньої щелепи частково відновлена (Рис.5), якість життя за Karnofsky Status Scale Performance – 80% Результат ми оцінили в 3 бали.

У пацієнтки 3, з незросшимся переломом правого стегна, після реостеосинтезу і кісткової аутопластики, за 9 міс. функція правої нижньої кінцівки порушена, але пацієнтка може ходити з обмеженим навантаженням на праву нижню кінцівку, користується тростиною. На рентгенограмі міграції металоконструкції немає, признаков асептичного некрозу голівки стегна немає, але відсутні ознаки консолидації шийки стегна. Результат оцінений в 3 бали.

Оптимальні лікувальні та реабілітаційні заходи забезпечили загоєння ран первинним натягом та консолидацію переломів в загально прийнятні терміни у хворих з переломами. У пацієнтів з незросшимися переломами стабільний остеосинтез дав можливість для раннього відновлення функції суглобів, що покращило якість життя таких пацієнтів навіть за відсутністю ознак відновлення кісткової тканини. Основною перевагою використання імплантатів з електретним антибактеріальним покриттям є можливість виконання стабільного остеосинтезу в умовах високого ризику попадання мікробів з оточуючих тканин, в випадках пролежнів, вогнепальних ран, гематом з

запаленням, онкології, при спондилітах та дисцитах. Дія електростатичного поля електретної поверхні анатази перешкоджає прикріпленню мікробів до імплантатів та формуванню біоплівки, не перешкоджає репаративному остеогенезу та формуванню повноцінної кісткової мозолі. Електретне покриття анатази з кремнієм не пошкоджується при моделюванні під час операції, не змінює розміри та параметри різьби в блокуючих пластинах, в транспедикулярних гвинтах та розсувних кейджах, що робить його зручним і надійним в практичному використанні.

Висновок.

Проведені дослідження показали потенційну можливість практичного використання антибактеріальних властивостей перетвореної в анатаз і анатаз з SiO_2 титанових імплантатів з метою попередження адгезії мікробних асоціацій.

Література

1. Вахитов Б.И. Сравнительный анализ свойств покрытий на титане и его сплавах, полученных различными методами /Вахтов Б.И., Ситдикова И.Д.// Лечение артрозов. Всё, кроме замены сустава: Материалы Междисциплинарной научно-практической конференции с международным участием (Казань, 13-14 мая 2016).- 2016, Казань: Изд-во Казан.ун-та.- С. 41-43.
2. Вирва О.Є. Артикулюючі спейсери кульшового суглоба в лікуванні перипротезної інфекції / Вирва О.Є., Шевченко І.В., Корольов О.О.// Збірник наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України (Івано-Франківськ, 9-11 жовтня 2019).- 2019.- С. 237-238.
3. Гайко Г.В. Двоетапне лікування перипротезної інфекції кульшового суглоба / Гайко Г.В. з співав.// Збірник наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України (Івано-Франківськ, 9-11 жовтня 2019)- 2019.- С. 239-240.
4. Калмантаев Т.А. Получение и оценка эффективности антимикробных полимерных покрытий на основе бактерицидных веществ BACILLUS

CIRCULANS и PAENIBACILLUS POLYMYXA / Калмантаев Т.А. с соавт.// Микробиология.- 2011, Том 12- С. 1478-1486.

5. Лясникова А.В. Комплексное исследование физико-химических и медико-биологических антимикробных свойств биокomпозиционных покрытий дентальных имплантов /Лясникова А.В. с соавт.// Новые материальные технологии. Вестник СГТУ.- 2010, № 1 (44).- С. 83-91.

6. Мостовая О.С. Модификация биокomпозиционного покрытия дентального имплантата путем придания ему антимикробных свойств /О.С. Мостовая, А.В. Лепилин, А.В. Лясникова //Образование, наука и практика в стоматологии по единой тематике «Пути повышения качества стоматологической помощи»: Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции.- М., 2012. - С. 144 - 146.

7. Мюллер М.Е. Руководство по внутреннему остеосинтезу / М.Е. Мюллер, М.Альговер, Р.Шнайдер, Х.Виллингер.- Москва: Ad Marginem, 1996,- С. 420.

8. Науменко Л.Ю. Кишеньковий довідник лікаря-експерта ортопедо-травматологічної МСЕК/ Л.Ю. Науменко, О.Є.Лоскутов, Н.С.Колісник та ін.; за ред. Л.Ю.Науменка.- Кіровоград: Імекс-ЛТД, 2016.- 304 с.

9. Самойленко О.А. Антибактеріальне керамічне покриття для імплантів з титанових сплавів і спосіб одержання покриття на них /Самойленко О.А., Манукян В.А., Німенський І.В.// Патент на винахід № 120582.- Бюл.№24, 26.12.2019. Заявка: а 2019 02730. Дата подання заявки: 20.03.2019.

10. Фишман М. Снижение риска тромбоза и рестеноза при использовании стентов с электретным отрицательно заряженным покрытием / Фишман М., Княжанская М., Немец А., Цун А.// Альманах клинической медицины. -2017, Май, № 45 (3).- С. 234-241.

11. Хомутов В.П. Опыт применения электретных имплантатов при остесинтезе огнестрельных переломов длинных костей /В.П.Хомутов, Н.И.Нелин, В.И.Котов, А.А.Баскаков, А.В.Черноиван// Современная медицина.- Казань: ООО «ВИЗАРД», 2019.- №2(14).- С.27-31.

12. Чорний В.С. Інфекційні ускладнення після ендопротезування у хворих з пухлинами кісток /Чорний В.С., Проценко В.В.// Збірник наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України. (Івано-Франківськ, 9-11 жовтня 2019).- 2019.- С. 244-245.
13. Штильман М.Н. Полимеры медико-биологического назначения.- М.:ИКЦ «Академ-книга», 2006.- 400 с.
14. Berezka M. The role of intraoperative microbiology examination in case of infectious complication prevention after the arthroplasty/ Berezka M., Lapshyn D.// Збірник наукових праць XVIII з'їзду ортопедів-травматологів України (Івано-Франківськ, 9-11 жовтня 2019).- 2019.- С. 236-237.
15. Costerton W. The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections / W. Costerton et al. // Clinical Investigation. — 2003, Vol. 112. — P. 1466-1477.
16. Dai L.M., StJohn H.A.W., Bi J.J. et al. Biomedical coatings by the covalent immobilization of polysaccharides onto gas-plasma-activated polymer surfaces // Surf. Interf. Anal.- 2000, Vol. 29.- P. 46-55.
17. Knetsch M. L. New strategies in the development of antimicrobial coatings the example of increasing usage of silver and silver nanoparticles / M. L. Knetsch, L. H. Koole // Polymers. — 2011, Vol 3. — P. 340-366.
18. Rabea E.I., Badawy M.E.T., Stevens C.V. et al. Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action // Biomacromolecules. 2003. Vol. 4. P. 1457-1465.

Відомості про автора:

1. Самойленко Олександр Анатолійович, к.мед.н., доцент кафедри офтальмології, отоларингології та онкології ДЗ «ЛДМУ».

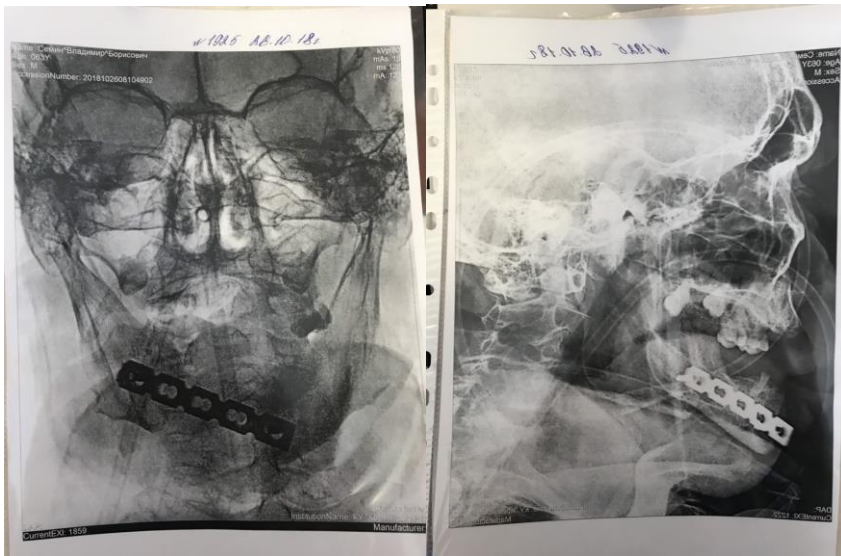


Рис. 1. Фотографія рентгенограм пацієнта С., дефект після резекції нижньої щелепи заповнений пластиною LCP з антибактеріальним покриттям



Рис. 2. Фотографії рентгенограм пацієнтки Н. з незросшим переломом лівого стегна, виконана корекція деформації, фіксація пластиною LCP з антибактеріальним покриттям.

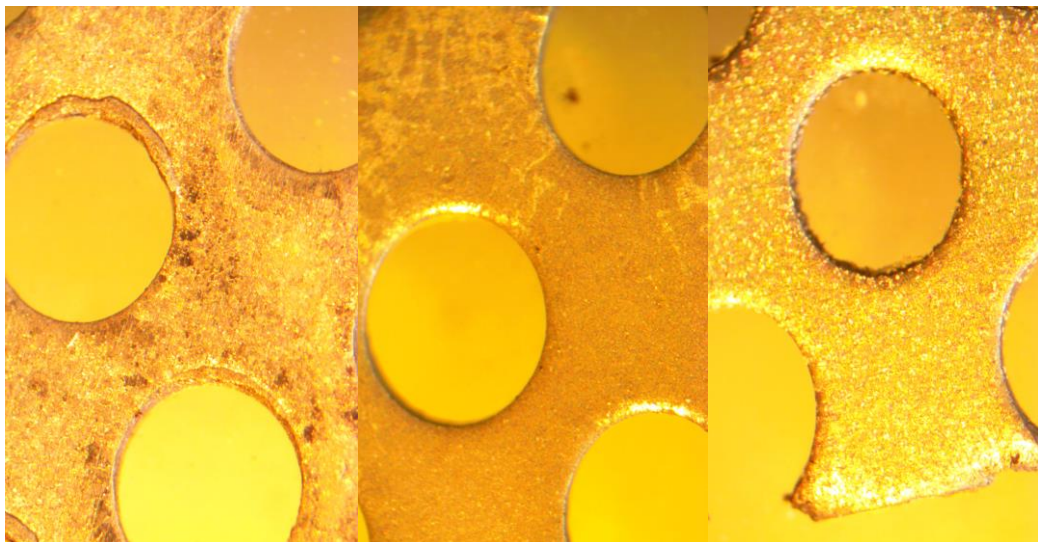


Рис.3. Зліва: сліди мікробних біоплівки по всій поверхні пластин. По центру: на поверхні анатаза поодинокі сліди колоній E.Coli. Справа: на поверхні анатаза з кремнієм відсутні сліди біоплівки.



Рис.4. Перша доба росту «музейної» мікрофлори. Зліва: пластина з антимікробним покриттям, колонії не торкаються краю пластини. Зправа пластина без покриття, колонія E.Coli обросла навколо пластини.



Рис.5. Пациент С., 4 міс. після операції видалення пухлини нижньої щелепи, заміщення дефекту пластиною LCP з антибактеріальним покриттям.