

УДК:616.71

## **ОБРАЗОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ БИОПЛЕНОК НА ПОВЕРХНОСТИ ТИТАНА И ТИТАНА С УГЛЕРОДНЫМ АЛМАЗОПОДОБНЫМ ПОКРЫТИЕМ**

Александр Андреевич Жилияков<sup>1</sup>, Юлия Витальевна Григорьева<sup>2</sup>, Татьяна Георгиевна Смирнова<sup>3</sup>

<sup>1-3</sup>ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»

Минздрава России, Екатеринбург, Россия

<sup>1</sup>alexandrusma@mail.ru

### **Аннотация**

**Введение.** Покрытие, наносимое на поверхность имплантатов, применяемых в травматологии и ортопедии, должно быть не только биологически совместимым, но и препятствовать адгезии бактерий к поверхности имплантата и подавлять образование микробных биопленок. **Цель исследования** — оценить антибактериальные свойства и способность алмазоподобного углеродного покрытия титановых пластин для эндопротезирования подавлять образование микробных биопленок. **Материалы и методы.** В работе использовали музейный штамм *Escherichia coli*. Исследование пленкообразования проводили на титановых пластинах с напылением алмазоподобного углеродного покрытия по технологии, разработанной в ИФМ УрО РАН. В качестве контроля пленкообразования использовали аналогичные титановые пластины без покрытия, а также покровные стекла. **Результаты.** На поверхности титановых пластин без защитного покрытия было отмечено образование биопленки *E. coli*, в то время как алмазоподобное углеродное покрытие предотвращало образование бактериальной биопленки на поверхности пластин. **Обсуждение.** В результате количественного определения интенсивности формирования микробных биопленок штаммом *E. coli* на металлических пластинах было выявлено статистически достоверное понижение интенсивности пленкообразования на поверхности алмазоподобного углеродного покрытия по сравнению с титановыми пластинами без напыления, что свидетельствует о выраженной поверхностной бактерицидной активности покрытия. **Выводы.** Полученные результаты сравнительного количественного исследования формирования бактериальных пленок на титане и титане с алмазоподобным покрытием показали, что DLC покрытие тормозит рост бактериальной пленки *E. coli*.

**Ключевые слова:** титановые имплантаты, микробные биопленки, антибактериальные DLC-покрытия.

## **FORMATION OF BACTERIAL BIOFILMS ON THE SURFACE OF TITANIUM AND TITANIUM WITH A DIAMOND-LIKE CARBON COATING**

Alexander A. Zhilyakov<sup>1</sup>, Yulia V. Grigorieva<sup>2</sup>, Tatyana G. Smirnova<sup>3</sup>

<sup>1-3</sup>Ural state medical university, Yekaterinburg, Russia

<sup>1</sup>alexandrusma@mail.ru

### **Abstract**

**Introduction.** The coating applied to the surface of implants used in traumatology and orthopedics should not only be biologically compatible, but also prevent bacteria adhesion to the implant surface and suppress the formation of microbial biofilms. **The aim of the study** — to evaluate the antibacterial properties and the ability of the diamond-like carbon (DLC) coating of titanium plates for arthroplasty to suppress the formation of microbial biofilms. **Materials and methods.** A reference *Escherichia coli* strain was used in this study. The detection of biofilm formation was carried out on titanium plates coated with a DLC coating. Similar uncoated titanium plates and coverslips were used as negative controls for biofilm formation. **Results.** *E. coli* biofilm formation was noted on the surface of uncoated titanium plates, while the DLC coating prevented the formation of bacterial biofilm on the surface of these plates. **Discussion.** As a result of quantitative determination of the intensity of formation of microbial biofilms by the *E. coli* strain on metal plates, we found a statistically significant decrease of biofilm formation on the surface of the DLC coating when compared to titanium plates without sputtering. This indicates a pronounced surface bactericidal activity of the coating. **Conclusion.** The results of this study showed that diamond-like carbon coating (DLC) inhibits the growth of *E. coli* in bacterial films on the surface of titanium with DLC.

**Keywords:** titanium implants, microbial biofilms, antibacterial DLC coatings.

## ВВЕДЕНИЕ

Одна из актуальных проблем в хирургии связана с формированием биопленок, которые образуются на медицинских имплантах, катетерах, эндопротезах и технических конструкциях, имплантированных во время операций. Основными микроорганизмами, образующими биопленки на поверхностях медицинских устройств являются представители родов *Pseudomonas*, *Enterococcus*, *Staphylococcus*, *Escherichia*, *Klebsiella*. Хронические инфекции имплантированных медицинских устройств могут вести к развитию сепсиса и смерти пациентов, особенно у лиц с ослабленным иммунитетом. Перипротезная инфекция является одной из главных причин ранних гнойных осложнений и ревизионных эндопротезирований. В связи с наличием вышеупомянутых осложнений стала очевидной необходимость улучшения свойств металлических имплантов, применяемых в клинической практике. Для этих целей был предложен ряд технологических решений, в том числе применение различных типов биосовместимых покрытий для защиты имплантатов от бактериальной колонизации [1]. Большое внимание, в этой области, уделяется наноструктурированным материалам, среди которых одним из наиболее перспективных считается алмазоподобный углерод - DLC («diamond-like carbon»). Покрытие, наносимое на поверхность имплантов, применяемых в травматологии и ортопедии, должно быть не только биологически совместимым, но и проявлять поверхностную бактерицидную активность в отношении широкого круга микроорганизмов — возбудителей раневых инфекций, а также препятствовать адгезии бактерий к поверхности импланта и подавлять образование микробных биопленок. Разработанные в ИФМ УрО РАН DLC покрытия [2] были успешно апробированы на

биосовместимость в экспериментах на животных и в клинике [3, 4]. Было показано, что алмазоподобный углерод тормозит образование бактериальной пленки стафилококка на поверхности имплантов [5].

**Цель исследования** — оценить антибактериальные свойства и способность алмазоподобного углеродного покрытия титановых пластин для эндопротезирования подавлять образование микробных биопленок *Escherichia coli*.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

В работе использовали музейный штамм *Escherichia coli*. Культивирование осуществляли на мясо-пептонном бульоне.

Исследование пленкообразования проводили на титановых пластинах размером 15,0x5,0x2,0 мм с напылением алмазоподобного углеродного покрытия (Рис.1). В качестве контроля пленкообразования использовали аналогичные титановые пластины без покрытия, а также покровные стекла.



Рис.1 Титановые пластины с напылением алмазоподобного углеродного покрытия (А) и без покрытия (Б)

На первом этапе исследования пластины и стекла обрабатывали 95% этиловым спиртом, промывали дистиллированной водой и стерилизовали при 180° С в сухожаровом шкафу.

Для формирования биоплёнки титановые пластины и покровные стекла помещали в пробирки со свежей бульонной культурой *E. coli* и инкубировали при температуре 37° С в течение 24 часов. Затем объекты осторожно извлекали из пробирок, отмывали стерильным физиологическим раствором для удаления не связавшихся с поверхностью бактерий, и помещали для дальнейшей инкубации в пробирки со стерильной питательной средой еще на сутки. Данную процедуру проводили дважды. После окончания инкубации объекты извлекали из пробирок, промывали дистиллированной водой и фиксировали 10 минут в охлажденном ацетоне.

В качестве образцов для сравнения использовали пластины с покрытием и без такового, которые инкубировали в стерильном мясо-пептонном бульоне в течение 3-х суток.

Препараты окрашивали в течение 10 мин рабочим раствором акридинового оранжевого (ООО НПП Пан Эко, 100 мкг/мл), промывали дистиллированной водой, высушивали и микроскопировали на люминесцентном микроскопе МИКМЕД - 2 (объектив ОФ-100Л-О-1). Изображение фиксировали при помощи цифровой фотокамеры (ТС-500). Подсчет количества бактериальных клеток производился на 100 полей зрения. Полученные результаты были подвергнуты статистической обработке (сайт

medstatistic.ru). Оценку значимости различий средних величин проводили с помощью парного t-критерия Стьюдента. Различия между образцами считали существенными при  $p < 0,001$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В качестве контроля интенсивности микробного пленкообразования на поверхности углеродных покрытий использовали покровные стекла. Поверхность стекла не препятствовала формированию бактериальных биопленок (Рис.2). Количество бактериальных клеток в поле зрения соответствовало среднему показателю -  $906,6 \pm 99,73$  в поле зрения.

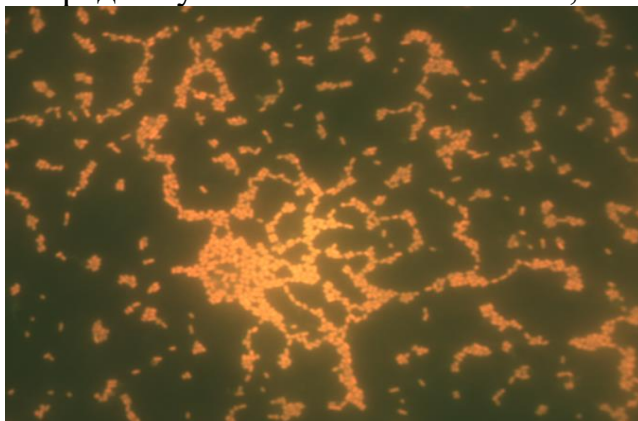
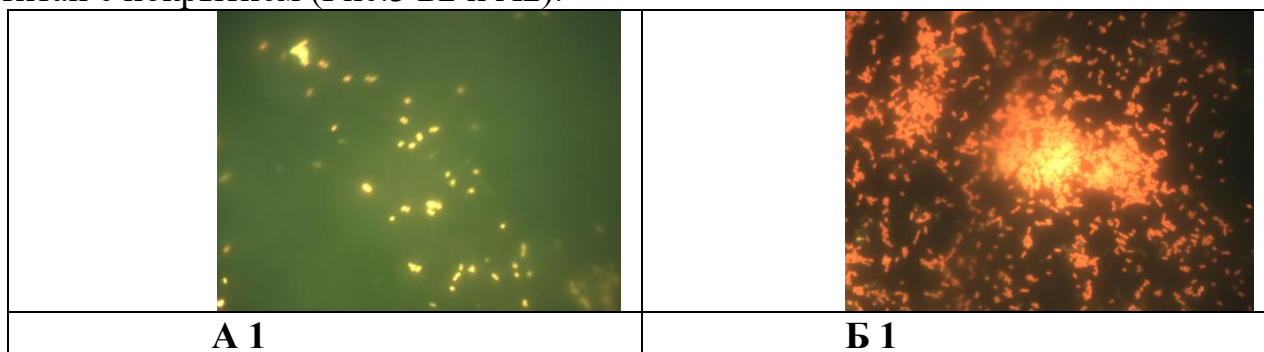


Рис. 2. Люминесцентная микроскопия поверхности покровного стекла после 3-х суток инкубации в бульонной культуре *E. Coli*

Наиболее выраженная способность к образованию бактериальной биопленки на поверхности металла была отмечена при культивировании в бульонной культуре *E. coli* титановых пластин без защитных покрытий. Количество бактериальных клеток, в этом случае, соответствовало среднему показателю -  $1049 \pm 351.95$  клеток в поле зрения. (Рис.3 Б1). Определение интенсивности формирования микробных биопленок на поверхности образцов с защитным покрытием показало, что DLC покрытие обладало выраженной поверхностной бактерицидной активностью (Рис.3 А1). На поверхности алмазоподобного углеродного покрытия было в среднем обнаружено  $83,7 \pm 22.40$  микробных клеток ( $p < 0,001$ ). Сравнение цифровых изображений поверхности пластин при инкубации в стерильном бульоне позволило сделать заключение о том, что титан без покрытия обладает более выраженными адгезивными свойствами в отношении компонентов питательной среды, чем титан с покрытием (Рис.3 Б2 и А2).



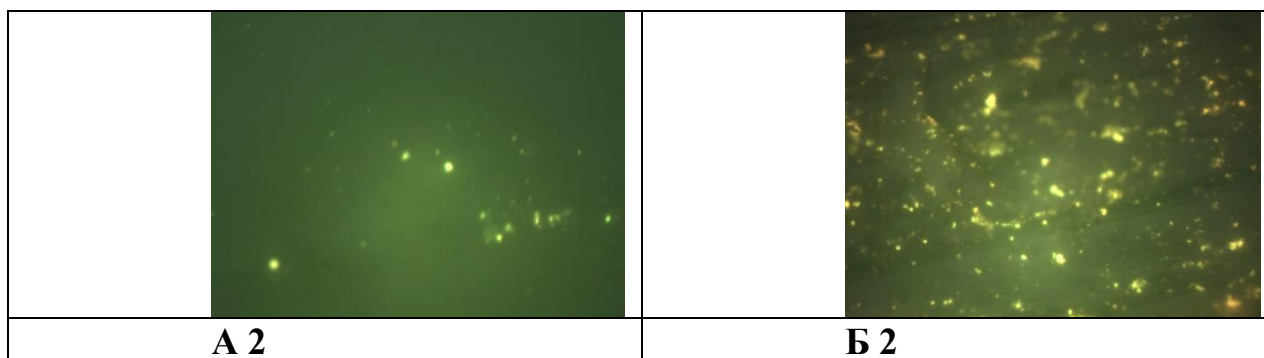


Рис.3. Люминесцентная микроскопия поверхности титановых пластин, использованных в эксперименте

**А** –пластины с напылением алмазоподобного углеродного покрытия (А1 –после 3-х суток инкубации в бульонной культуре *E. coli*; А2 - после инкубации в стерильном МПБ). **Б** - титановые пластины без напыления алмазоподобного углеродного покрытия (Б1 –после 3-х суток инкубации в бульонной культуре; Б2 - после инкубации в стерильном МПБ).

### **ОБСУЖДЕНИЕ**

В работе были изучены антибактериальные свойства углеродных алмазоподобных покрытий, осажденных на титановые пластины для эндопротезирования. Результаты количественного определения интенсивности формирования микробных биопленок штаммом *E. coli* на металлических пластинах показали статистически достоверное понижение интенсивности пленкообразования на поверхности DLC покрытия по сравнению с титановыми пластинами без напыления, что свидетельствует о выраженной поверхностной бактерицидной активности алмазоподобного углеродного покрытия ( $p < 0,001$ ).

### **ВЫВОДЫ**

Полученные результаты сравнительного количественного исследования формирования бактериальных пленок на титане и титане с алмазоподобным покрытием показали, что DLC покрытие тормозит рост бактериальной пленки *E. coli*, то есть обладает антибактериальными свойствами.

### **СПИСОК ИСТОЧНИКОВ**

- 1.Покрyтия на основе двумерно упорядоченного линейно-цепочечного углерода для защиты титановых имплантатов от микробной колонизации / Тапальский Д.В., Николаев Н.С., Овсянкин А.В., и др.// Травматология и ортопедия России. - 2019. – Т.25, №2. – С.11-120.
- 2.Патент на полезную модель РФ № 80743 от 27.02.2009 «Устройство для сращивания костей при переломах» / Трахтенберг И. Ш., Васильев В.Ю., Югов В.А. и др.
- 3.Рубштейн А.П., Макарова Э.Б., Трахтенберг И.Ш., Захаров Ю.М. Биоимплантаты на основе пористого титана с алмазоподобными пленками для замещения костной ткани. - Екатеринбург: РИО УрО РАН, 2012. - 137 с.
- 4.Гюльназарова С.В. Ганжа А.А., Трифонова Е.Б. Фиксаторы с алмазоподобным покрытием для остеосинтеза в условиях остеопороза. Монография. – Екатеринбург, 2021. – 144 с.

5.Образование биопленок стафилококков на поверхности титана и титана с углеродной алмазоподобной пленкой и действие на них низкомолекулярного катионного пептида варнерина/ Трахтенберг И. Ш., Рубштейн А.П., Лемкина Л. М. и др.// Перспективные материалы. – 2013. – № 4. – С.39-44.

### Сведения об авторах

А.А. Жилияков – студент

Ю.В.Григорьева – кандидат биологических наук, доцент

Т.Г.Смирнова - кандидат биологических наук, старший преподаватель

### Information about the authors

A.A. Zhilyakov – student

Y. V. Grigorieva - Candidate of Sciences (Biology), Associate Professor

T.G. Smirnova - Candidate of Sciences (Biology), Professor Assistant

УДК: 614.47

## ПРИВЕРЖЕННОСТЬ К ИММУНИЗАЦИИ СТУДЕНТОВ 1 И 3 КУРСОВ ФГБОУ ВО «УРАЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ» МИНЗДРАВА РФ КАК ПРЕВЕНТИВНАЯ МЕРА ПРОФИЛАКТИКИ ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ В СОВРЕМЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Анастасия Дмитриевна Катаева<sup>1</sup>, Анна Владимировна Анкудинова<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>ФГБОУ ВО «Уральский государственный медицинский университет»

Минздрава России, Екатеринбург, Россия

<sup>1</sup>nastya.kat2001@gmail.com

### Аннотация

**Введение.** Проверенным временем средством предупреждения распространения возбудителей инфекций является вакцинопрофилактика. Однако, несмотря на значительные успехи, объемы иммунизации в мире сокращаются из-за возрастания роли антипрививочной пропаганды, что приводит к появлению вспышек управляемых инфекций, в том числе с летальными исходами. **Цель исследования** – дать и провести оценку отношения к вакцинации и осведомленности в вопросах иммунизации студентов 1 и 3 курсов лечебно-профилактического факультета Уральского государственного медицинского университета. **Материалы и методы.** Исследование проводилось на базе Уральского государственного медицинского университета с середины сентября по конец ноября 2021 года, в него включено 80 студентов, 50% (n=40) учащиеся 1 курса и 50% (n=40) - 3 курса. Было разработано анонимное анкетирование при помощи Google Forms, состоящее из 25 вопросов и трех блоков. **Результаты.** Треть респондентов не вакцинируются в полном объеме, а делают прививки по выбору. Против новой коронавирусной инфекции COVID-19 51,9±5,6% (n=42) респондентов привились не по собственному желанию. Студенты не имеют полного представления о прививках, входящих в разные календари; не могут указать нормальные реакции на введение вакцины и поствакцинальные осложнения. **Обсуждение.**