

УДК 615.461:678.046.76

ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ СЕТЧАТЫХ ЭНДОПРОТЕЗОВ С ПОКРЫТИЕМ НАНОЧАСТИЦАМИ СЕРЕБРА

Мишина Е.С., Климова Л.Г., Нетяга А.А., Затолокина М.А.

ГБОУ ВПО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России, Курск, e-mail: katusha100390@list.ru

Существующие данные о развитии инфекционных осложнений, таких как серомы, гематомы, нагноение послеоперационной раны, после герниопластики послужили мощным стимулом для разработки новых сетчатых эндопротезов с антибактериальным покрытием. Одним из перспективных и наиболее эффективных направлений является применение нанобиотехнологий. Экспериментальное исследование было выполнено на 360 крысах-самцах линии Wistar с использованием новых сетчатых эндопротезов для герниопластики с антибактериальным покрытием из наночастиц серебра. Достоверно доказана ($p \leq 0,05$) чувствительность 6 различных тест-штаммов микроорганизмов к действию серебра. Установлено, что характер влияния антибактериального покрытия из наночастиц серебра на рост тест-штаммов *E. coli* и *S. aureus* и выраженность биоцидного эффекта прямо пропорционально зависят от срока действия антисептика. Неоспоримо определенный интерес представляют полученные нами данные об антимикробных свойствах новых сетчатых эндопротезов для герниопластики и могут быть использованы в общей хирургии и в частности в герниологии, а также при изучении микробиологии и оперативной хирургии.

Ключевые слова: сетчатые эндопротезы, герниопластика, *E. coli*, *S. aureus*, наночастицы, серебро

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF MESH ENDOPROSTHESIS COATED SILVER NANOPARTICLES (EXPERIMENTAL STUDY)

Mishina E.S., Klimova L.G., Netyaga A.A., Zatolokina M.A.

Kursk State Medical University, Kursk, e-mail: katusha100390@list.ru

Existing data on the development of infectious complications such as seroma, hematoma, postoperative wound suppuration after hernia repair served as a powerful stimulus for the development of new mesh implants with an antibacterial coating. Recent advances in nanobiotechnology are powerful stimuli for development of new mesh implants with an antibacterial coating. An experimental study was conducted on 360 rat-male Wistar with using of new mesh implants with an antibacterial coating by silver nanoparticles, performed for hernia repair. Significantly ($p \leq 0,05$) sensitivity of six different microorganisms to the action of silver is proved. It was found that the effect of antibacterial coating of silver nanoparticles on the growth of clinical strains of *E. coli* and *S. aureus* is directly correlate with the time of exposure. Indisputably certain interest we obtained data on the antimicrobial properties of new mesh implants for hernia repair. The data obtained can be used in general surgery and in particular herniology, as well as in the study of microbiology and operative surgery.

Keywords: new mesh endoprosthesis, hernioplasty, *E. coli*, *S. aureus*, nanoparticles, silver

При замещении дефектов апоневроза брюшной стенки широко используются сетчатые протезы из различных синтетических полимерных материалов. Применение имплантатов привело к возникновению новой клинической проблемы – увеличению количества случаев инфекционных осложнений [7, 10]. При использовании протеза количество осложнений со стороны раны, таких как нагноение, серома, гематома, отторжение протеза, может достигать 18,6–67% [3, 4, 5, 8]. Послеоперационные осложнения являются основной причиной продолжительного течения послеоперационного периода и значительного увеличения материальных затрат на лечение [2, 9]. Одним из решений данной проблемы является придание сетчатому протезу антимикробных свойств путем иммобилизации антимикробных средств на поверхности или введения их в структуру медицинского изделия. В литературе приведены данные об использовании антибиотиков и антисептиков в составе эндопротезов [6, 10].

Масштабное и неконтролируемое применение антибиотиков привело к антибиотикорезистентности. Накопление фактических данных о неуклонно возрастающей антибиотикорезистентности микроорганизмов и ее роли в развитии и исходах инфекционного процесса послужило мощным стимулом для разработки новых бактерицидных средств [1, 11]. Одним из перспективных направлений в решении данной проблемы является применение нанобиотехнологий, направленных на совершенствование специфических свойств наночастиц металлов, определяемых их структурной модификацией, что позволяет достигать различных биологических эффектов, в том числе и антибактериальных [6].

Материалы и методы исследования

Материалами для данного исследования послужили 5 сетчатых эндопротезов для герниопластики: Унифлекс (фирма «Линтекс»), Эсфил (фирма «Линтекс»), Унифлекс Аг (фирма «Линтекс»), Эсфил Аг (фирма «Линтекс») и один сетчатый эндопротез для пластики брюшной стенки фирмы «Плазмофильтр».

В ходе исследования была изучена чувствительность 6 музейных тест-штаммов следующих микроорганизмов: *S. aureus* 25923 ATCC, *E. coli* 25922 ATCC, *P. vulgaris* 4636 ATCC, *P. aeruginosa* 27853 ATCC, *C. albicans* 2625 NCTC, *B. subtilis* 6633 ATCC. Музейные штаммы, используемые в работе, получены из коллекции музея живых культур ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича. Определение биоцидной активности исследуемых эндопротезов производили методом диффузии в агар на плотной питательной среде с последующим измерением зоны угнетения роста тест-культур, используемых для определения антимикробного действия сетчатых эндопротезов.

Для определения микробной обсемененности после выведения животных из эксперимента на разные сроки изымали участок брюшной стенки вместе с имплантируемым эндопротезом весом 1 гр. Затем биоптат суспензировали в изотоническом растворе натрия хлорида. После десятикратного разведения суспензии до 10 из каждого разведения производили посевы 0,1 мл на поверхность плотной питательной среды, разлитой в чашки Петри. После суточной инкубации в термостате производили подсчет выросших колоний.

Результаты исследования и их обсуждение

Получены следующие данные:

1. Биоцидная активность эндопротезов в отношении *E. coli* выше при использовании эндопротеза «Плазмофильтр» ($20,4 \pm 0,48$ мм), чем у Унифлекс Ag ($10,7 \pm 1,34$ мм) и Эсфил Ag ($14,5 \pm 0,67$ мм), в 1,9 и 1,4 раза соответственно.

2. Антимикробные свойства в отношении *S. aureus* также выше при использовании эндопротеза фирмы «Плазмофильтр» ($24,3 \pm 1,00$ мм) в 4 раза по сравнению с другими сетчатыми эндопротезами, имеющими антимикробное покрытие из серебра.

3. Биоцидная активность в отношении *P. aeruginosa* в большей степени выражена при использовании эндопротеза «Плазмофильтр», которая составила $21,9 \pm 0,53$ мм. При использовании эндопротеза Унифлекс Ag и Эсфил Ag $8,2 \pm 0,78$ и $10,3 \pm 0,90$ мм соответственно.

4. Биоцидная активность в отношении *P. vulgaris* ниже при использовании эндопротеза Унифлекс Ag ($6,3 \pm 0,64$ мм) в 2,6 раз по сравнению с эндопротезом «Плазмофильтр» ($16,9 \pm 0,3$ мм), при использовании эндопротеза Эсфил Ag ($9,4 \pm 0,66$ мм) ниже в 1,7 раз по сравнению с тем же эндопротезом.

5. Высокие антимикробные свойства в отношении *C. albicans* наблюдались при изучении всех эндопротезов. При использовании эндопротеза Унифлекс Ag – $24,6 \pm 1,27$ мм, Эсфил Ag – $31,4 \pm 0,8$ мм, «Плазмофильтр» – $50,5 \pm 1,5$ мм.

6. Антимикробной активностью по отношению к грамположительной спорообразующей тест-культуре – *B. subtilis* – обладает только эндопротез «Плазмофильтр». При изучении остальных образцов задержки роста не наблюдалось.

Для изучения антимикробных свойств эндопротезов нами была определена микробная обсемененность ран (рис. 1).

Однозначно видно, что микробная обсемененность по отношению к кишечной палочке снижается в каждой серии заражений.

Наибольшая микробная обсемененность наблюдалась у эндопротеза Унифлекс на 3 суток и составила $333,5 \cdot 10^{-4} \pm 1,43$.

При сравнении данных, полученных на 3 суток среди всех образцов, было выявлено, что наилучший результат показал «Плазмофильтр» ($4,6 \cdot 10^{-4} \pm 0,87$).

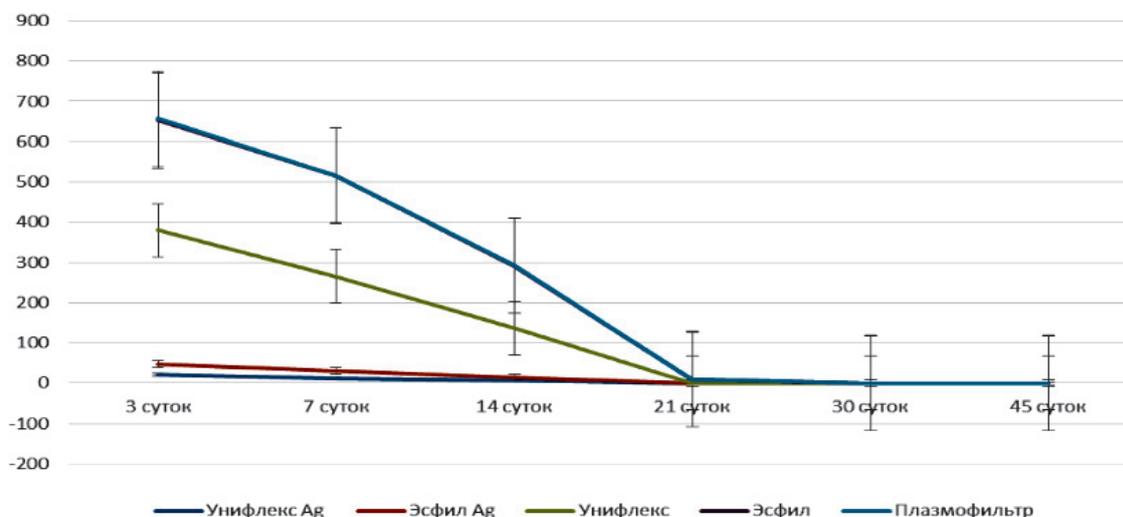


Рис. 1. Результат определения микробной обсемененности ран в отношении *E. coli* ($M \pm m$)

На 7 сутки наименьшая микробная обсемененность наблюдалась у «Плазмодифильтр» ($1,2 \cdot 10^{-4} \pm 0,4$), а наибольшая – у эндопротеза Эсфил ($248,9 \cdot 10^{-4} \pm 2,46$).

При сравнении данных, полученных на 14 сутки, микробная обсемененность полностью отсутствовала у «Плазмодифильтра», а наибольшая была у эндопротеза Эсфил ($154,7 \cdot 10^{-4} \pm 1,1$).

На 21 сутки наблюдали следующие результаты: микробная обсемененность полностью отсутствовала у серебросодержащих эндопротезов, а наибольшая микробная обсемененность продолжала наблюдаться у эндопротеза Эсфил ($8,7 \cdot 10^{-4} \pm 1,04$).

В позднем послеоперационном периоде (30 и 45 сутки эксперимента) микробная обсемененность полностью отсутствовала при использовании всех эндопротезов.

Если сравнивать обсемененность культурой *S. aureus*, то она значительно меньше на всех сроках эксперимента, по сравнению с колониями *E. coli* (рис. 2).

К 21 суткам микробная обсемененность полностью отсутствовала у эндопротезов Унифлекс Ag и фирмы «Плазмодифильтр», а наибольшая микробная обсемененность продолжала наблюдаться у эндопротеза Эсфил ($8,7 \cdot 10^{-4} \pm 1,04$).

В позднем послеоперационном периоде (30 и 45 сутки эксперимента) микробная обсемененность культурой *S. aureus* также полностью отсутствовала при использовании всех эндопротезов.

Выводы

Результаты шести параллельных опытов свидетельствуют о том, что только эндопротезы Унифлекс Ag, Эсфил Ag и «Плазмодифильтр» обладают антимикробным действием в отношении следующих тест-штаммов микроорганизмов: *S. aureus* 25923 ATCC, *E. coli* 25922 ATCC, *P. vulgaris* 4636 ATCC, *P. aeruginosa* 27853 ATCC, *C. albicans* 2625 NCTC. По отношению к *B. subtilis* 6633 ATCC биоцидной активностью обладает

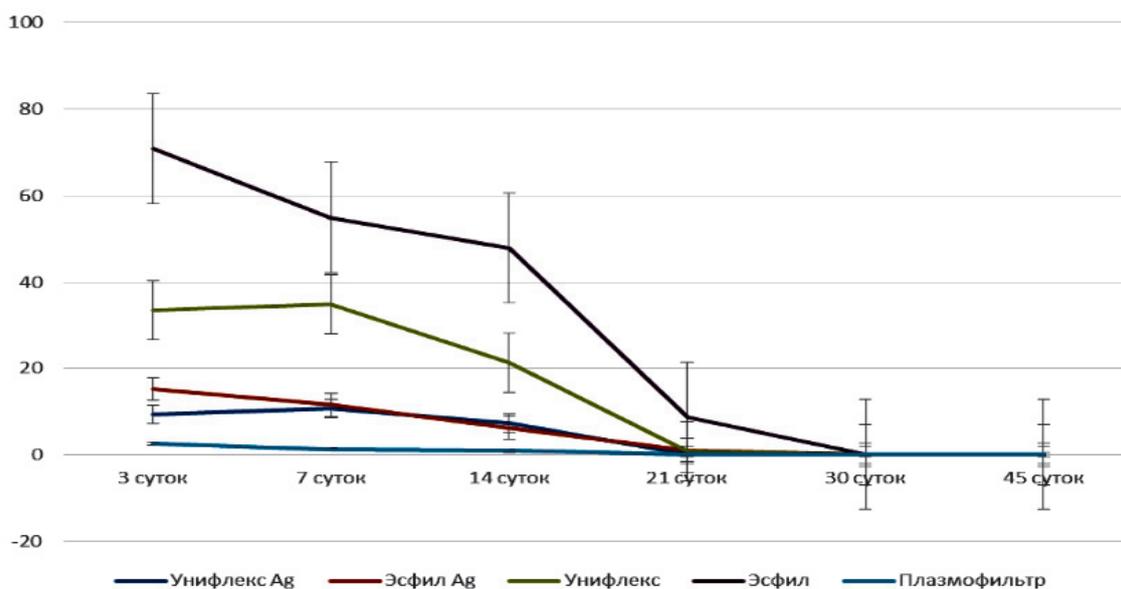


Рис. 2. Результат определения микробной обсемененности ран в отношении *S. aureus* ($M \pm m$)

Наибольшая микробная обсемененность *S. aureus* наблюдалась на 3 сутки, но теперь у эндопротеза Эсфил ($70,9 \cdot 10^{-4} \pm 2,15$).

При сравнении данных, полученных на 7 сутки, микробная обсемененность (при использовании всех образцов) наименьшая наблюдалась у «Плазмодифильтра» ($1,2 \cdot 10^{-4} \pm 0,4$), а наибольшая – у эндопротеза Эсфил ($52,3 \cdot 10^{-4} \pm 2,46$).

При сравнении данных, полученных на 14 сутки, микробная обсемененность полностью отсутствовала у «Плазмодифильтра», а наибольшая была у Эсфила ($47,9 \cdot 10^{-4} \pm 2,3$).

только эндопротез «Плазмодифильтр». При определении микробной обсемененности наблюдается снижение количества колоний прямо пропорционально срокам эксперимента.

Список литературы

1. Белькова Ю.А., Рачина С.А. Современные подходы к оптимизации антибактериальной терапии в многопрофильных стационарах: мировые тенденции и отечественный опыт // Клиническая фармакология и терапия. – 2012. – № 21, Т.2. – С. 31–40.
2. Затолокин В.Д., Мошкин А.С. Влияние водных дисперсий наноструктур на течение гнойных ран // Вестник

экспериментальной и клинической хирургии. – 2010. – № 1. – С. 44–51.

3. Кузнецов А.В., Добряков Б.С., Шестаков В.В., Смарж Т.М. Клиническое изучение раневой экссудации и выбора способа антибиотикопрофилактики в герниологии // Медицина и образование в Сибири. – 2012. – № 2. – С. 38.

4. Кузнецов А.В., Добряков Б.С., Шестаков В.В., Смарж Т.М. Протекание раннего послеоперационного периода в герниологии при разных способах антибиотикопрофилактики // Медицина и образование в Сибири. – 2012. – № 2. – С. 39.

5. Насурова М.А. Влияние серебра на организм человека // Известия Чеченского государственного педагогического института. – 2013. – № 1, Т. 7. – С. 178–180.

6. Нетяга А.А., Парфенов А.О., Нутфуллина Г.М., Жуковский В.А. Влияние различных видов эндопротезов для герниопластики на состояние мышц различных отделов брюшной стенки (экспериментальное исследование) // Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье». – 2014. – № 3. – С. 26–32.

7. Рахманин Ю.А., Хрипач Л.В., Михайлова Р.И., Коганова З.И. Сравнительный анализ влияния наночастиц серебра на биохимические показатели лабораторных животных // Гигиена и санитария. – 2014. – № 1. – С. 45–50.

8. Савичева А.В., Резникова А.Д., Полещук А.А., Изотов Д.М., Константинов С.Н. Зависимость характера заживления ран от вида применяемой антисептики при пупочном грыжесечении у мелких животных // Вестник алтайской науки. – 2009. – № 1. – С. 159–161.

9. Чубуков А.Ю., Кузнецов А.В. Оценка способов ведения пациентов с серомами в раннем послеоперационном периоде // Материалы II Российской (итоговой) конкурсной конференции студентов и молодых ученых. – Новосибирск, 2010. – С. 171–172.

10. Berrevoet F., Maes L., De Baerdemaeker L., Rogiers X., Troisi R., de Hemptinne B. Comparable results with 3-year follow-up for large-pore versus small-pore meshes in open incisional hernia repair // Surgery. – 2010. – Vol. 148, № 5. – P. 969–975.

References

1. Belkova J.A., Rachina S.A. Clinical Pharmacology and Therapy, 2012, no. 21, Vol. 2, pp. 31–40.

2. Zatolokin V.D., Moshkin A.S. Bulletin of Experimental and Clinical Surgery, 2010, no. 1, pp. 44–51.

3. Kuznetsov A.V., Dobryakov B.S., Shestakov V.V., Smarzh T.M. Health and Education in Sibiri, 2012, no. 2, pp. 38.

4. Kuznetsov A.V., Dobryakov B.S., Shestakov V.V., Smarzh T.M. Health and Education in Sibiri, 2012, no. 2, pp. 39.

5. Nasurov M.A. Bulletin of the Chechen State Pedagogical institute, 2013, no. 1, Vol. 7, pp. 178–180.

6. Netyaga A.A., Parfenov A.O., Nutfullina G.M., Zhukovsky V.A. Kursk scientific-practical herald «Man and his health», 2014, no. 3, pp. 26–32.

7. Rahmanin Y.A., Khripach L.V., Mikhailova R.I., Koganova Z.I. Hygiene and sanitation, 2014, no. 1, pp. 45–50.

8. Savicheva A.V., Reznikov A.D., Polishchuk A.A., Izotov D.M., Konstantinov S.N. Bulletin of the Altai science, 2009, no. 1, pp. 159–161.

9. Chubukov A.Yu., Kuznetsov A.V. Materials of II Russian (final) competition conference of students and young scientists, 2010, pp. 171–172.

10. Berrevoet F., Maes L., De Baerdemaeker L., Rogiers X., Troisi R., de Hemptinne B. Comparable results with 3-year follow-up for large-pore versus small-pore meshes in open incisional hernia repair // Surgery. 2010. Vol. 148, no. 5. pp. 969–975.

Рецензенты:

Иванов А.В., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой гистологии, цитологии, эмбриологии, ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России, г. Курск;

Медведева О.А., д.м.н., профессор кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии, ГБОУ ВПО КГМУ Минздрава России, г. Курск.

Работа поступила в редакцию 02.03.2015.