



УДК 616-089-7:546.46-034.7]-029:579

MICROBIOLOGICAL JUSTIFICATION OF PERSPECTIVES OF USE THE MAGNESIUM ALLOY DOPED WITH SILVER IN SURGICAL PRACTICE**МІКРОБІОЛОГІЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ ПЕРСПЕКТИВ ВИКОРИСТАННЯ МАГНІЄВОГО СПЛАВУ, ЛЕГОВАНОГО СРІБЛОМ, В ХІРУРГІЧНІЙ ПРАКТИЦІ****Polishchuk N.M. / Поліщук Н.М.**

ORCID: 0000-0002-9791-5818

c.m.s., as. prof. / к.мед.н., доцент

*Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Maiakovskiyi avenue 26, 69035**Запорізький державний медичний університет,**Запоріжжя, проспект Маяковського, 26, 69035***Kyryk D.L. / Кирик Д.Л.**

d.m.s., prof. / д.мед.н., професор

ORCID: 0000-0001-8521-3782

*Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv, Dorohozhytska 9, 04112**Національний університет охорони здоров'я України імені П.Л. Шупика,**Київ, Дорогожицька 9, 04112***Chornyi V.M. / Чорний В.М.**

c.m.s., as. prof. /к.мед.н., доцент

ORCID 0000-0002-8273-9276

Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Ukraine

Анотація. Сучасна хірургічна практика вимагає використання медичних матеріалів, які б могли попереджувати розвиток гнійно-запальних інфекційних станів поля операційного втручання. Перспективним напрямком є застосування в якості імплантатів або шовного матеріалу магнієвих сплавів, легованих сріблом, які піддаються в організмі людини біодеструкції, а продукти їх біодеградації володіють протимікробною активністю, що створює умови для запобігання інфікування рани після хірургічних операцій. В роботі доведено високу антибактеріальну активність біорезорбційного модифікованого магнієвого сплаву МС-10, легованого сріблом.

Ключові слова: магнієвий сплав, антибіотикорезистентність, культури мікроорганізмів, колонії мікроорганізмів.

Вступ.

Підвищення сучасних стандартів надання медичної хірургічної допомоги в Україні дозволило впровадити в широку клінічну практику новітні технології, які значно покращують результати лікування пацієнтів, суттєво прискорюють одужання, реабілітацію та повернення хворих до звичного способу життя. Одним з пріоритетних напрямків сьогоденної медицини є використання різноманітних металевих сплавів у якості імплантатів або шовного матеріалу, що піддаються в організмі процесу деградації і повністю резорбуються [1]. Безумовно, такі матеріали, повинні володіти біологічною сумісністю та здатністю попереджувати розвиток інфекцій поля операційного втручання, в появі яких важливу роль відіграють резистентні до антибіотиків нозокоміальні штами мікроорганізмів. Інфекційні запальні процеси внаслідок використання різноманітних металевих конструкцій у полі хірургічного втручання уповільнюють одужання хворих, збільшують тривалість перебування в стаціонарі, вимагають великих матеріальних витрат на лікування і, в ряді



випадків, стають причиною летального результату [2, 3, 4]. Згідно даних літератури, найчастішими збудниками гнійно-запальних інфекцій вважаються мікроорганізми групи ESKAPE (Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, Enterococcus spp) [5]. Сьогодні, вельми перспективним є вивчення біологічних властивостей сплавів на основі магнію (Mg^{2+}), що володіють високою біосумісністю, не токсичні, а продукти корозії магнію (газоподібний водень, гідроксид магнію і солі Mg) обумовлюють бактерицидний ефект, який у сукупності з постійним процесом біокорозії поверхні ускладнює формування мікроорганізмами повноцінної біоплівки [6]. У зв'язку з вище сказаним, для експерименту нами був використаний біорезорбційний модифікований магнієвий сплав легований сріблом MS-10, технологія виробництва якого відповідає нормативним вимогам, а біодеградуючі властивості – дозволяють використовувати його в якості імплантатів.

Мета дослідження: визначити бактерицидну активність біорезорбційного модифікованого магнієвого сплаву MS-10, легованого сріблом, по відношенню до антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів, з метою подальшого обґрунтування можливості використання сплаву в якості штучних імплантатів або шовного матеріалу, що володіють антибактеріальною активністю та запобігають розвитку гнійно-запальних станів поля хірургічного втручання.

Матеріали та методи.

Під час експериментів використовували екстракт, що містив продукти біодеградації модифікованого магнієвого сплаву MS-10, легованого сріблом [7, 8]. Для виготовлення екстракту стружку сплаву стерилізували у 70% спирті впродовж 5 хвилин, потім промивали в стерильному фізіологічному розчині та висушували з дотриманням вимог асептики. Після стерилізації, 200 мг обробленої стружки занурювали у флакон з 200 мл бульйону Мюлера-Хінтона (рН 7,4) та інкубували при $35\pm 1^\circ C$ впродовж 72 годин. По завершенню інкубації, відбирали надосадову рідину (екстракт), центрифугували при 3000 оборотах 5 хвилин, розливали по 2 мл у стерильні пробірки і використовували у дослідженнях. В якості тест-штамів мікроорганізмів брали добові культури штамів мікроорганізмів Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, Enterococcus faecalis. Дослідні штами були виділені з ранового ексудату хворих, в яких після операції розвинулася гнійно-запальна інфекція поля хірургічного втручання, та характеризувались множинною резистентністю до антибактеріальних препаратів. Чутливість мікроорганізмів до антибіотиків вивчали згідно вимог щорічних протоколів EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 10.0) диско-дифузійним методом, а чутливість до колістину та стафілококу до ванкоміцину – методом серійних розведень. Культури K.pneumoniae та E.coli були резистентні до аміноглікозидів (гентаміцин, амікацин), фторхінолонів (левофлоксацин, офлоксацин, норфлоксацин, ципрофлоксацин), монобактамів (азтреонам), захищених пеніцилінів (тікарцилін-клавуланова кислота, піперацилін-тазобактам), цефалоспоринів II-



V покоління (цефазолін, цефоксітін, цефотаксим, цефтазидим, цефепім), карбапенемів (ертапенем, меропенем), також, клебсієла була резистентна до колістину (МПК 16 мг/л). Штам *P.aeruginosa* характеризувався резистентністю до аміноглікозидів, фторхінолонів (левофлоксацин, ципрофлоксацин), монобактамів, захищених пеніцилінів, цефалоспоринів (цефтазидим, цефепім) та меропенему. *A.baumannii* був стійкий до аміноглікозидів, фторхінолонів (левофлоксацин, ципрофлоксацин), меропенему. *S.aureus* проявляв резистентність до цефоксітину, норфлоксацину, гентаміцину, тетрацикліну, еритроміцину, проте зберігав чутливість до ванкоміцину і лінезоліду. Культура *E.faecalis* була нечутливою до пеніциліну, імipенему, норфлоксацину, ванкоміцину.

З дослідних штамів за допомогою денситометру DEN-1B (версія V.2AW) готували мікробну завіть щільністю 0,5 за МакФарландом. В кожену пробірку з екстрактом вносили по 0,2 мл бактеріальної суспензії. З метою контролю якості дослідження використовували бульйон Мюлера-Хінтона без екстракту, куди вносили мікроорганізми (контроль росту культури) і бульйон з екстрактом без внесення культури (контроль стерильності живильного середовища). Ємності з культурами *E.coli*, *K.pneumoniae*, *A.baumannii*, *P.aeruginosa* інкубували при $35\pm 1^\circ\text{C}$ 72 години, з ізолятами *S.aureus*, *E.faecalis* – при $35\pm 1^\circ\text{C}$ 120 годин. Кожні 24 год. інкубації з пробірок робили висів вмісту (0,1 мл) на чашки з агаром Мюлера-Хінтона (для *E.coli*, *K.pneumoniae*, *A.baumannii*, *P.aeruginosa*) та кров'яний агар (для *S.aureus*, *E.faecalis*). Облік результатів зростання культур дослідних штамів на агарі проводили після інкубації посівів при $35\pm 1^\circ\text{C}$ 18 ± 2 год.. Бактеріостатична активність екстракту сплаву оцінювалась по наявності/відсутності візуального зростання в пробірках з посівами, бактерицидна – по наявності/відсутності зростання на чашках з агаром після висіву з пробірок [7, 8]. Дослідження антимікробної активності біодеградуючого сплаву проводили в п'яти повторах. Статистичний аналіз отриманих результатів виконували за допомогою ліцензійних комп'ютерних програм Microsoft Excel 2010 і Statistica for Windows 13. Під час аналізу розподілів кількісних даних визначали міри центральної тенденції – медіана (Me), міри варіації – інтерквартильний розмах у вигляді 25 і 75 перцентилів.

Результати показали, що досліджуваний екстракт модифікованого магнієвого сплаву МС-10, легованого сріблом, володіє значною бактеріостатичною активністю по відношенню до клінічних штамів *E.coli*, *S.aureus*, *K.pneumoniae*, *A.baumannii*, *P.aeruginosa*, *E.faecalis* про що свідчила візуальна відсутність зростання ізолятів у дослідних пробірках з екстрактом. При вивченні бактерицидної активності виявлено, що максимальне зростання бактерій на агарі спостерігалось тільки після першого висіву з пробірок, тобто після перших 24 год. інкубації екстракту, і з кожним висівом кількість колоній, що виростала на агарі, значно зменшувалась. Швидке та ефективне знешкодження клебсієли та ешерихії відбувалось впродовж 48 год., ацинетобактера і псевдомонади – за 72 год.. Так, колонії *E.coli* виростили на щільному середовищі тільки після першої доби інкубації екстракту і їх



кількість склала 0,2(0-0). Аналогічний результат отриманий і в дослідженнях з *K.pneumoniae*: зростання збудника виявлено тільки після першого висіву у кількості 0,4(0-1) колоній. *A.baumannii* після 24 год. інкубації зростав на агарі у кількості 7,6(3-12) колоній, після 28 год. – 0,6(0-1), *P.aeruginosa* відповідно 7,6(2-6) і 0,4(0-1). Починаючи з третьої доби інкубації екстракту, ацинетобактер і псевдомонада на агарі не зростали.

Знешкодження стафілококів та ентерококів відбувалось повільніше, але незважаючи на це, кількість коків в екстракті значно зменшувалась, що підтверджувалось зменшенням числа колоній на агарі після кожного висіву з екстракту. Так, після першого висіву з пробірок, що містили *S.aureus* на агарі виросло 41 (12-52) колоній, після другого – 16,8 (2-18), після третього – 1,2 (0-1) і повне знешкодження стафілококів відбулось протягом 96 год. інкубації екстракту. Незважаючи на той факт, що штами *E.faecalis* проявили помірну резистентність, ми виявили, що ентерококи не здатні довготривало виживати в умовах дії продуктів біодеградації досліджуваного сплаву. І якщо після 24 год. інкубації екстракту було зафіксовано зростання 972,4 (945-985) колоній, то вже після 48 год. – 534 (320-710), 72 год. – 130 (21-217), 96 год. – 20,8(3-32), а після 120 год. на щільному середовищі виростили лише поодинокі колонії (2,6 (0-2)).

Узагальнення та висновки.

Результати наших досліджень, показали високу протимікробну активність продуктів біодеградації модифікованого магнієвого сплаву МС-10, легованого сріблом. Утворення продуктів корозії магнію (газоподібний водень, гідроксид магнію і солі Mg) з локальним підвищенням рН (з 7,4 до 9,6) призвело до знешкодження мультирезистентних штамів *E.coli*, *S.aureus*, *K.pneumoniae*, *A.baumannii*, *P.aeruginosa*, *E.faecalis*, що були виділені ранового ексудату хворих після проведення хірургічного втручання.

1. Модифікований магнієвий сплав МС-10, легований сріблом, володіє бактеріостатичною і бактерицидною дією по відношенню до антибіотикорезистентних штамів мікроорганізмів *E.coli*, *S.aureus*, *K.pneumoniae*, *A.baumannii*, *P.aeruginosa*, *E.faecalis*.

2. Здатність до біодеструкції означеного сплаву надає можливість використовувати його в хірургічній практиці в якості імплантатів або шовного матеріалу, що піддається резорбції в організмі людини.

3. Застосування імплантатів або шовного матеріалу, виготовленого з модифікованого магнієвого сплаву МС-10, легованого сріблом, дозволить запобігати розвитку гнійно-запальних станів поля хірургічного втручання.

Література.

1. Witte F. Degradable Biomaterials based on Magnesium Corrosion / F.Witte, N. Hort, C. Vogt, S. Cohen, K. U. Kainer, R. Willumeit, F.Feyerabend // *Current Opinion in Solid State and Materials Science*. – 2008. – № 12(5-6). – С. 463-72. Doi: 10.1016/j.cossms.2009.04.001.

2. Thakore R.V. Surgical site infection in orthopedic trauma: A case-control study evaluating risk factors and cost / R.V. Thakore, S.E. Greenberg, H. Shi, et al. // *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma*. – 2015. – Т 6, № 4. – Р. 220–226. doi:



10.1016/j.jcot.2015.04.004.

3. Biomaterial-Associated Infection: Locating the Finish Line in the Race for the Surface / H.J. Busscher, H.C. van der Mei, G. Subbiahdoss, et al. // *Science Translational Medicine*. – 2012. – Т 4, № 153. – С. 153rv10. DOI: 10.1126/scitranslmed.3004528.

4. Чернявский А.М. Инфекции в кардиохирургии / Чернявский А.М., Таркова А.Р., Рuzматов Т.М., Морозов С.В., Григорьев И.А. // *Хирургия*. – 2016. – № 5. – С.64-68. Doi: 10.17116/hirurgia20165. Doi : 10.17116/hirurgia2016564-68.

5. Креньов К. Ю. Динаміка мікробного пейзажу у відділенні анестезіології та інтенсивної терапії Хмельницької обласної лікарні в 2013–2015 роках/ К. Ю. КРЕНЬОВ // *Шпитальна хірургія. Журнал імені Л. Я. Ковальчука*. – 2016. – № 1. – С. 100-104. DOI: 10.11603/2414-4533.2016.1.5888.

6. He G. Addition of Zn to the ternary Mg–Ca–Sr alloys significantly improves their antibacterial properties / G. He, Y. Wu, Y. Zhang, Y. Zhu, Y. N. Liu, Li, M. Li, G.Zheng, B. He, Q. Yin, Y. Zheng, C. Mao // *Journal of Materials Chemistry*. – 2015. – №3. – P. 6676-6689. Doi: 10.1039/c5tb01319d.

7. Chorny V. M. (2021). Sensitivity of Antibiotic-Resistant Clinical Strains of Staphylococci and Enterococci to Biodegradation Products of MI-10 Magnesium Alloy / V. M. Chorny, N.M. Polishchuk, D.L. Kyryk // *EC Orthopaedics*. – Т.12, №3. – С.41-47. – Режим доступу: <https://www.econicon.com/ecor/pdf/ECOR-12-00756.pdf>.

8. Чорний В. М. Результати вивчення in vitro антибактеріальної активності модифікованого магнієвого сплаву щодо тест-штамів E. coli та P. Aeruginosa / В.М. Чорний, Н. М. Поліщук, О. М. Камишний, М. Л. Головаха// *Патологія*. – 2018. –Т. 15, № 3(44). –С. 337–340. Doi: 10.14739/2310-1237. 2018.3.151854.

References

1. Witte, F., Hort, N., Vogt, C., Cohen, S., Kainer, K.U., Willumeit, R., & Feyerabend, F. (2009). Degradable Biomaterials based on Magnesium Corrosion. *Current Opinion in Solid State and Materials Science*, 12 (5-6), 463-72. Doi: 10.1016/j.cossms.2009.04.001.

2. Thakore, R. V., Greenberg, S. E., Shi, H., Foxx, A. M., Francois, E. L., Prablek, M.A., et al. (2015) Surgical site infection in orthopedic trauma: A case-control study evaluating risk factors and cost. *Journal of Clinical Orthopaedics and Trauma*, 6(4), 220–226. doi: 10.1016/j.jcot.2015.04.004.

3. Busscher, H. J., van der Mei, H. C., Subbiahdoss, G., Jutte, P. C., van den Dungen, J. J., Zaat, S. A., et al. (2012) Biomaterial-Associated Infection: Locating the Finish Line in the Race for the Surface. *Science Translational Medicine*, 4(153), 153rv10. doi: 10.1126/ scitranslmed.3004528.

4. Chernyavsky, A.M., Tarkova, A.R., Ruzmatov, T.M., Morozov, S.V., & Grigoriev, I.A. (2016). Infeksii v kardiohirurgii [Infections in cardiac surgery]. *Hirurgia*, 5, 64-68. Retrieved from [https://doi.org/ 10.17116/hirurgia20165](https://doi.org/10.17116/hirurgia20165)

5. Kreniov, K. Yu. (2016). Dynamika mikrobnogo peyzazhu u viddilenni anesteziolohiyi ta intensyvnoyi terapiyi Khmel'nyts'koyi oblasnoyi likarni v 2013–2015 rokakh [Dynamics of the microbial landscape in the Department of Anesthesiology and Intensive Care of Khmelnytsky Regional Hospital in 2013-2015]. *Shpytal'na khirurgiya. Zhurnal imeni L. YA. Koval'chuka*, 1, 100-104. DOI: 10.11603/2414-4533.2016.1.5888

6. He, G., He, G., Wu, Y., Zhang, Y., Zhu, Y., Liu, Y. N., et al. (2015). Addition of Zn to the ternary Mg–Ca–Sr alloys significantly improves their antibacterial properties. *Journal of Materials Chemistry*, 3, 6676-6689. Doi: 10.1039/c5tb01319d.



7. Chorny V. M., Polishchuk N.M., & Kyryk D.L. (2021). Sensitivity of Antibiotic-Resistant Clinical Strains of Staphylococci and Enterococci to Biodegradation Products of MI-10 Magnesium Alloy. *EC Orthopaedics*, 12(3), 41-47. Retrieved from <https://www.econicon.com/ecor/pdf/ECOR-12-00756.pdf>.

8. Chorny, V. M., Polishchuck, N. M., Kamyshnyi, O. M., & Holovakha, M. L. (2018). Resultati vivchennya in vitro antibakterialnoy aktivnosti modificovanogo magnievogo splavu shchodo test-shtamiv E. coli ta P. Aeruginosa [Results of the in vitro study of the antibacterial activity of modified magnesium alloy in experiments with E. coli and P. aeruginosa test-strains]. *Pathologia*, 15, 3(44), 337–340. Retrieved from <https://doi.org/10.14739/2310-1237.2018.3.151854>

Abstract. *Modern surgical practice requires the use of medical materials that could prevent the development of purulent-inflammatory infectious conditions of the surgical field. A promising area is the use as implants or suture material of magnesium alloys doped with silver, which biodegrades in the human body, and the products of biodegradation have antimicrobial activity, which creates conditions to prevent wound infection after surgery. The high antibacterial activity of bioresorption modified magnesium alloy MS-10 doped with silver is proved in the work.*

Key words: *magnesium alloy, antibiotic resistance, cultures of microorganisms, colonies of microorganisms.*

Стаття відправлена 05.03.2021 р.
Поліщук Н.М.