

Перифокальные реакции мягких тканей на введение контаминированных имплантатов с композиционным антибактериальным покрытием: экспериментальное исследование

О.П. Савчук¹, Д.В. Тапальский¹, Д.А. Зиновкин¹, В.И. Николаев¹,
М.А. Ярмоленко², А.А. Рогачев³

¹ УО «Гомельский государственный медицинский университет»,
г. Гомель, Республика Беларусь

² УО «Гомельский государственный университет им. Франциска Скорины»,
г. Гомель, Республика Беларусь

³ Институт химии новых материалов Национальной академии наук Беларуси,
г. Минск, Республика Беларусь

Актуальность. Защита от микробной колонизации поверхности фиксаторов для металлоостеосинтеза способна сократить количество инфекционных осложнений.


Цель исследования — экспериментально оценить ранние перифокальные тканевые реакции на металлические имплантаты с композиционным антибактериальным покрытием в условиях микробной нагрузки.


Материал и методы. Фрагменты стальных спиц для остеосинтеза диаметром 1 мм с нанесенным четырехкомпонентным антибактериальным покрытием на основе полилактида, полиуретана, ципрофлоксацина и наночастиц серебра контаминировали культурой метициллинорезистентного *S. aureus* (MRSA) 43431 и имплантировали крысам в толщу четырехглавой мышцы бедра. В качестве контрольных имплантировали контаминированные спицы без покрытия. На 2-е, 4-е и 7-е сут. после имплантации животных выводили из эксперимента. Готовили патогистологические препараты тканей вокруг имплантатов. Выполняли полуколичественную оценку тканевых реакций.

Результаты. Микробная нагрузка перед имплантацией составляла $(1,12 \pm 0,26) \times 10^6$ клеток *S. aureus* для контрольных имплантатов и $(0,86 \pm 0,31) \times 10^6$ клеток для имплантатов с антибактериальным покрытием. Тканевые реакции воспалительного характера на 2-е сут. имплантации были одинаково выражены в контрольной и экспериментальной группах. К 4-м сут. отмечено значимое снижение количества иммунных клеток и некротического детрита, а также усиление разрастания соединительной ткани и неоангиогенеза в экспериментальной группе. К 7-м сут. отмечено появление менее выраженной, хорошо васкуляризованной фиброзной капсулы вокруг экспериментальных имплантатов, что указывает на более благоприятное заживление мягких тканей в сравнении с контролем.

Заключение. Слабовыраженные морфологические проявления тканевых реакций в ответ на внедрение контаминированных имплантатов с антибактериальным покрытием могут быть связаны как с прямым противомикробным действием компонентов покрытия, так и с противовоспалительной активностью входящих в его состав наночастиц серебра и ципрофлоксацина.

Ключевые слова: имплантаты, антибактериальное покрытие, ципрофлоксацин, наночастицы серебра, *Staphylococcus aureus*, контаминация, тканевые реакции.

 Савчук О.П., Тапальский Д.В., Зиновкин Д.А., Николаев В.И., Ярмоленко М.А., Рогачев А.А. Перифокальные реакции мягких тканей на введение контаминированных имплантатов с композиционным антибактериальным покрытием: экспериментальное исследование. *Травматология и ортопедия России*. 2023;29(1):36-45. <https://doi.org/10.17816/2311-2905-2000>.

 Тапальский Дмитрий Викторович; e-mail: tapalskiy@gmail.com

Рукопись получена: 03.10.2022. Рукопись одобрена: 01.02.2023. Статья опубликована онлайн: 15.02.2023.

© Савчук О.П., Тапальский Д.В., Зиновкин Д.А., Николаев В.И., Ярмоленко М.А., Рогачев А.А., 2023



Perifocal Soft Tissue Reactions in Response to Contaminated Implants With a Composite Antibacterial Coating: Experimental Study

Oleg P. Savchuk¹, Dmitry V. Tapalski¹, Dmitry A. Zinovkin¹, Vladimir I. Nikolaev¹, Maksim A. Yarmolenko², Aleksandr A. Rogachev³

¹ Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

² Francisk Skorina Gomel State University, Gomel, Belarus

³ Institute of Chemistry of New Materials of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Belarus

Background. Protection against microbial colonization of surface fixators for metal osteosynthesis can reduce the number of infectious complications.

The aim of the study was to experimentally assess early perifocal tissue reactions to metal implants with a composite antibacterial coating under microbial load.

Methods. Fragments of steel pins for osteosynthesis (diameter 1 mm) with a four-component antibacterial coating based on polylactide, polyurethane, ciprofloxacin and silver nanoparticles were contaminated by methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) 43431. They were implanted in rats within the quadriceps femoris. Contaminated uncoated pins were used as a control. The animals were withdrawn from the experiment on the 2nd, 4th, 7th day after implantation. Histopathological specimens from tissue around implants were prepared. A semiquantitative assessment of reactions was performed.

Results. The microbial load before implantation was $(1.12 \pm 0.26) \times 10^6$ *S. aureus* cells for the control implants and $(0.86 \pm 0.31) \times 10^6$ cells for implants with antibacterial coating. Tissue inflammatory reactions on the second day of implantation were equally evident in the control and investigated groups. There was a significant reduction in the number of immune cells and necrotic detritus, as well as increased growth of connective tissue and neoangiogenesis in the experimental group by the 4th day. The appearance of a less pronounced well-vascularized fibrous capsule around the experimental implants was noted by the 7th day. It indicates a more favorable healing of soft tissues in comparison with the control.

Conclusion. Weak morphological manifestations of tissue reactions in response to the fitting of contaminated implants with an antibacterial coating can be associated with both the direct antimicrobial effect of the coating components and the anti-inflammatory activity of silver nanoparticles and ciprofloxacin included in its composition.

Keywords: implants, antibacterial coating, ciprofloxacin, silver nanoparticles, *Staphylococcus aureus*, contamination, tissue reactions.

Cite as: Savchuk O.P., Tapalski D.V., Zinovkin D.A., Nikolaev V.I., Yarmolenko M.A., Rogachev A.A. [Perifocal Soft Tissue Reactions in Response to Contaminated Implants With a Composite Antibacterial Coating: Experiment]. *Travmatologiya i ortopediya Rossii* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2023;29(1):36-45. (In Russian). <https://doi.org/10.17816/2311-2905-2000>.

✉ Dmitry V. Tapalski; e-mail: tapalskiy@gmail.com

Submitted: 03.10.2022. Accepted: 01.02.2023. Published Online: 15.02.2023.

© Savchuk O.P., Tapalski D.V., Zinovkin D.A., Nikolaev V.I., Yarmolenko M.A., Rogachev A.A., 2023

ВВЕДЕНИЕ

Частота ранней раневой инфекции области хирургического вмешательства после внутреннего остеосинтеза при закрытых переломах составляет от 0,5 до 10,0%, а при открытых переломах — до 50% [1]. В этиологической структуре имплантат-ассоциированных инфекций доминируют *Staphylococcus aureus* и коагулазонегативные стафилококки [2, 3].

Активная защита от микробной колонизации поверхностей имплантируемых фиксаторов для остеосинтеза является многообещающей стратегией, которая позволит значительно сократить количество послеоперационных раневых инфекционных осложнений [4, 5]. Разработано множество различных типов покрытий, обеспечивающих локальную противомикробную активность или доставку антимикробных веществ в область хирургического вмешательства. Главными недостатками большинства из них являются неоптимальная кинетика высвобождения антибактериальных веществ, которая чаще всего бывает слишком быстрой и не обеспечивает защиту поверхности на протяжении всего периода имплантации, возможность индуцирования устойчивости микроорганизмов к антибиотикам, высокая восприимчивость к механическим воздействиям [6, 7].

Поверхности имплантатов могут быть химически модифицированы или физически покрыты различными антибактериальными веществами, например наночастицами металлов, полимерами, гидрогелями и антибиотиками [8, 9].

На основании результатов комплекса физико-химических и медико-биологических исследований нами были разработаны и оптимизированы составы многокомпонентных покрытий, в которых в качестве полимерной матрицы выступают полиуретан, биосовместимый и биodeградируемый полилактид, а в качестве биоцидных компонентов — ципрофлоксацин и наночастицы серебра. Покрытия наносятся на металлические подложки (титан, нержавеющая сталь) методом электронно-лучевого осаждения из активной газовой фазы [10, 11].

Установлен выраженный бактерицидный эффект синтезированных покрытий и показана его универсальность в отношении микроорганизмов различных таксономических групп, не зависящая от сопутствующей устойчивости к антибактериальным препаратам. Выявлена способность полного предотвращения формирования микробных биопленок. С использованием клеточных культур НЕР-2, NaCaT и первичной культуры фибробластов сделано заключение о биосовместимости четырехкомпонентного антибактериального покрытия полиуретан-полилактид-ципрофлоксацин-хло-

рид серебра и отсутствию у него цитотоксичности. Исследование местного действия после имплантации нелинейным крысам показало, что титановые имплантаты с композиционным антибактериальным покрытием обладают большей биосовместимостью и лучшей биоинтеграцией в окружающую соединительную ткань по сравнению с имплантатами без покрытий [12, 13].

На сегодняшний день изучение антибактериальной активности и биологической совместимости имплантатов с четырехкомпонентным композиционным покрытием в условиях контаминации клинически значимыми антибиотикорезистентными микроорганизмами является актуальным.

Цель исследования — экспериментально оценить ранние перифокальные тканевые реакции на металлические имплантаты с композиционным антибактериальным покрытием в условиях микробной нагрузки.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Имплантаты

Использовали фрагменты спиц для остеосинтеза диаметром 1 мм и длиной 20 мм из коррозионностойкой стали аустенитного класса (Научно-технологический парк БНТУ «Политехник», Беларусь, ТУ РБ 14576608.002-2000). Четырехкомпонентное композиционное антибактериальное покрытие на основе полиуретана, полилактида, ципрофлоксацина и наночастиц серебра наносили вакуумно-плазменным методом из активной газовой фазы [10, 12]. Контрольные имплантаты не имели покрытия на своей поверхности.

Стерилизацию имплантатов проводили паровым методом в режиме давления пара $0,11 \pm 0,02$ Мпа при температуре 121°C, экспозиция 45 мин.

Культура микроорганизмов

В качестве тест-культуры использовали штамм метициллин-резистентного *S. aureus* (MRSA) 43431 из коллекции НИИ антимикробной химиотерапии Смоленского государственного медицинского университета. Штамм был выделен от пациента с посттравматическим остеомиелитом, характеризовался выраженной способностью к формированию микробной биопленки и имел устойчивость к оксациллину (минимальная подавляющая концентрация 256 мг/л), гентамицину (64 мг/л), тетрациклину (32 мг/л), рифампицину (256 мг/л), ципрофлоксацину (256 мг/л), левофлоксацину (32 мг/л).

Контаминация имплантатов

Из суточной культуры *S. aureus* 43431 в стерильном изотоническом растворе хлорида натрия готовили суспензию с оптической плотностью

1 МакФарланд (2×10^8 клеток/мл). Стерильным пинцетом погружали имплантаты в бактериальную суспензию, после чего переносили в стерильные пробирки Эппендорф объемом 1,5 мл (отдельная пробирка для каждого имплантата). Пробирки выдерживали открытыми в ламинарном боксе в течение 2 ч., после высушивания имплантатов пробирки закрывали и хранили при $+8^\circ\text{C}$ не более суток до проведения имплантации. Для подтверждения наличия жизнеспособных микробных клеток на поверхности имплантатов и определения их количества для части образцов экспериментальной и контрольной групп делался посев на поверхность кровяного агара полуколичественным методом D. Maki с соавторами [14]. Также выполнялось ресуспендирование микробных клеток в 1 мл стерильного изотонического раствора с последующим количественным исследованием. Исследование выполнялось в шести повторах.

Общая характеристика животных

В экспериментальное исследование были включены 30 крыс линии Вистар обоего пола в возрасте 9–10 нед. весом $272,0 \pm 16,6$ г. При распределении животных в группы проводилась их рандомизация с использованием генератора случайных чисел. Хирургическая операция, последующая имплантация металлоконструкции, выхаживание и содержание животных, выведение их из эксперимента и забор материала выполнялись в выделенном отдельном боксе, который соответствовал всем правилам и нормам при работе с патогенными микроорганизмами.

Имплантация

Выполнялась общая ингаляционная анестезия препаратом «Севофлуран» (Фармлэнд, Беларусь). Положение животного — на спине. Задние конечности фиксировались в положении отведения. Кожа бедренно-ягодичной области обрабатывалась дважды антисептиком «Септоцид Р» (БелАсептика, Беларусь). Скальпелем по передней поверхности бедра продольно на протяжении 2 см послойно рассекались кожа, подкожная клетчатка, фасция и мышцы до бедренной кости. Края кожной раны разводились крючками. В толщу четырехглавой мышцы продольно имплантировалось по одному фрагменту спицы. После этого операционная рана послойно ушивалась наглухо узловыми капроновыми швами без дренирования. В дальнейшем крысы находились в индивидуальных клетках для предотвращения перегрызания лигатур и нанесения дополнительных травм друг другу. Нагрузка конечности после имплантации спиц искусственно не ограничивалась. Падежа животных за весь период наблюдения, вплоть до выведения из эксперимента, не отмечалось.

Изготовление патогистологических препаратов

Животных выводили из эксперимента по 10 особей в контрольной и экспериментальной группах на 2-е, 4-е и 7-е сут. после имплантации путем декапитации под ингаляционным наркозом. Имплантаты удаляли, фрагменты тканей, прилежающих к месту имплантации, фиксировали в 10% растворе забуференного нейтрального формалина в течение 48 ч. Фиксированные мышцы разрезали перпендикулярно ходу раневого канала на пластины толщиной не более 3 мм и укладывали в гистологические кассеты. Биоптаты укладывали в гистологический процессор Thermo Microm STP-120 (Thermo Scientific, США). Выполнялись гистологическая проводка в возрастающих концентрациях изопропилового спирта, изопропилового спирта и вазелинового масла, а также инфильтрация тканей парафином в средах вазелиновое масло и парафин, парафин. Фрагменты тканей заливали в парафиновые блоки, из которых при помощи санного микротомы Thermo Fisher Scientific HM 450 (Thermo Scientific, США) готовили гистологические срезы толщиной 5–7 мкм. Полученные срезы переносили на предметные стекла, окрашивали гематоксилином и эозином по стандартной методике и заключали под покровные стекла.

Морфометрическая оценка

Оценка периимплантных тканевых реакций проводилась с использованием полуколичественной шкалы на основе ГОСТ Р ИСО 10993-6-2009 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий». Часть 6 «Исследование местного действия после имплантации». Микроскопию проводили с применением микроскопа Nikon Eclipse 50i (Nikon, Япония) при увеличении $\times 400$ в 10 неперекрывающихся полях зрения.

Статистический анализ

Тест Шапиро–Уилка выявил, что распределение показателей отличалось от нормального ($p < 0,05$), в связи с чем результаты были представлены медианой (25- и 75-процентилями). Сравнения групп проводились с использованием теста Манна–Уитни. Сравнение баллов производили, используя тест Краскела–Уоллиса с применением критерия Данна. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Статистический анализ проводили с использованием пакета программ GraphPad Prism v 9.01 (GraphPad Software, США).

РЕЗУЛЬТАТЫ

В предварительном микробиологическом исследовании подтверждено присутствие жизнеспособных бактериальных клеток на поверхности контаминированных контрольных и эксперимен-

тальных образцов. Расчетная микробная нагрузка составляла 10^6 микробных клеток *S. aureus* 43431 на образец. При посевах контаминированных контрольных и экспериментальных имплантатов на кровяной агар полуколичественным методом D. Маки отмечался обильный микробный рост. Фактическая микробная нагрузка, определенная при ресуспендировании микробных клеток с поверхности контаминированных имплантатов с последующим количественным посевом, составляла $(1,12 \pm 0,26) \times 10^6$ клеток для контрольных имплантатов и $(0,86 \pm 0,31) \times 10^6$ клеток — для экспериментальных имплантатов с антибактериальным покрытием.

При проведении гистологического исследования на 2-е сут. в месте имплантации как контрольных, так и экспериментальных спиц отмечались обширные участки некроза с плотными нейтрофильными инфильтратами в местах непосредственного контакта с поверхностью имплантата (рис. 1).

По периферии некротически измененных тканей располагались небольшие группы лимфоцитов, плазмочитов и макрофагов. Единичные пролиферирующие фибробласты отмечались только в группе животных с контаминированным имплантатом. Сравнение параметров тканевых реакций представлено в таблице 1.

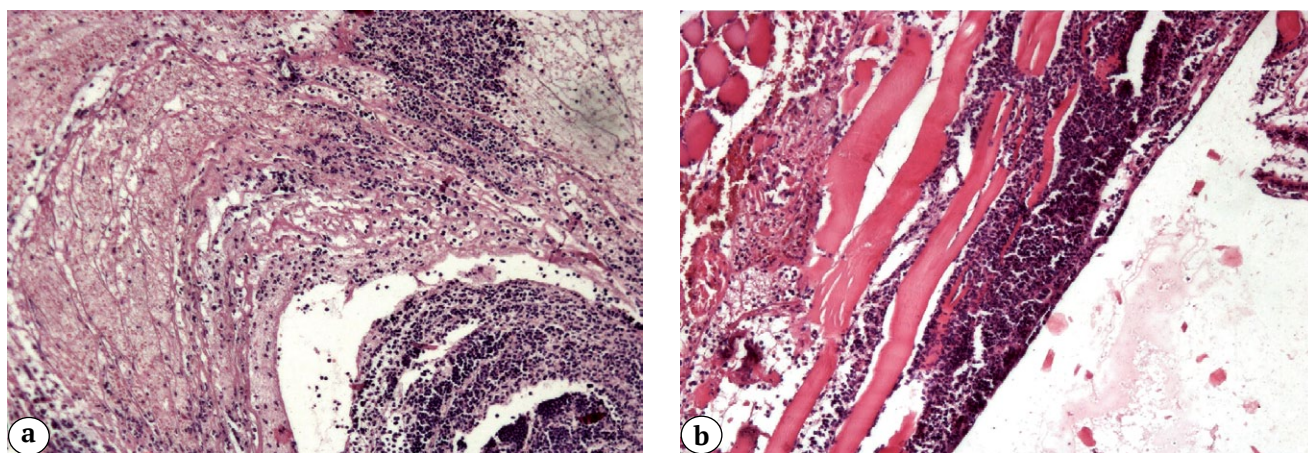


Рис. 1. Патогистологическая картина в месте имплантации на 2-е сут.: а — в контрольной группе; б — в экспериментальной группе. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$

Fig. 1. Pathohistological picture at the site of implantation on the 2nd day: а — in the control group; б — in the experimental group. Stained with hematoxylin and eosin. Mag. $\times 200$

Таблица 1

Характеристика тканевых реакций в ответ на имплантацию контаминированных спиц, содержащих и не содержащих антибактериальное покрытие, баллы

Параметр	2-е сут.		4-е сут.		7-е сут.	
	эксперимент	контроль	эксперимент	контроль	эксперимент	контроль
Полиморфноядерные лейкоциты	4,0 (4,0;4,0)	4,0 (4,0;4,0)	2,2 (2,0;2,5)	2,7 (2,2;3,1)	0,1 (0,0;0,5)	0,4 (0,3;0,5)
	$p = 1,00$		$p = 0,1060$		$p = 0,0080$	
Лимфоциты	3,4 (3,2;3,6)	3,4 (3,2;3,6)	3,2 (3,0;3,3)	3,6 (3,6;3,9)	1,3 (1,0;1,4)	1,0 (1,0;1,3)
	$p = 1,00$		$p = 0,0022$		$p = 0,3720$	
Плазматические клетки	2,0 (2,0;2,0)	2,0 (2,0;2,0)	1,0 (0,8;1,3)	1,6 (1,5;1,9)	0,8 (0,8;0,8)	1,4 (1,2;1,4)
	$p = 1,00$		$p = 0,0043$		$p = 0,0022$	
Макрофаги	1,8 (1,6;2,8)	1,9 (1,6;2,8)	1,3 (1,0;1,8)	2,5 (2,1;3,0)	0,5 (0,4;0,7)	0,8 (0,6;1,1)
	$p = 1,00$		$p = 0,0022$		$p = 0,1320$	
Гигантские клетки	–	–	2,0 (2,0;2,3)	2,7 (2,2;2,8)	0,2 (0,1;0,4)	1,0 (1,0;1,0)
	–		$p = 0,0470$		$p = 0,0022$	

Окончание таблицы 1

Параметр	2-е сут.		4-е сут.		7-е сут.	
	эксперимент	контроль	эксперимент	контроль	эксперимент	контроль
Некроз	4 (3,8;4,0)	3,9 (3,8;4,0)	0,4 (0,4;0,9)	1,2 (1,2;1,4)	0,0 (0,0;0,2)	0,0 (0,0;0,0)
	$p = 1,0000$		$p = 0,0022$		$p = 0,4500$	
Неоваскуляризация	-	-	0,4 (0,4;0,5)	1,5 (1,4;1,7)	1,4 (1,2;1,7)	0,3 (0,4;0,5)
	-		$p = 0,0020$		$p = 0,0020$	
Фиброз	0,2 (0,0;0,4)	0,0 (0,0;0,0)	2,1 (1,7;2,3)	2,8 (2,6;2,8)	1,0 (1,1;1,3)	2,8 (2,8;3,0)
	$p = 1,0000$		$p = 0,0022$		$p = 0,0022$	

Полужирным шрифтом указаны статистически значимые различия ($p < 0,05$).

При сравнении суммарных баллов статистически значимые различия не определялись ($p = 0,786$) (рис. 2). Итоговое значение разницы сумм баллов (средний показатель) образцов на 2-е сут. составило 0,2.

В контрольной группе на 4-е сут. определялась толстая полоса незрелой соединительной ткани с отдельными группами пролиферирующих новообразованных сосудов и легкими некротическими изменениями в участках, непосредственно контактирующих с имплантированной спицей (рис. 3а). Полиморфноклеточные лейкоциты были представлены в виде небольших плотных инфильтратов. Лимфоциты инфильтрировали незрелую соединительную ткань, формируя диффузные обильные скопления. Плазматические клетки, макрофаги и гигантские многоядерные клетки формировали единичные выраженные инфильтраты новообразованной стромы, располагаясь преимущественно по периферии новообразованной соединительной ткани.

В экспериментальной группе отмечалась умеренно выраженная полоса незрелой соединительной ткани с небольшими (от 4 до 7 в поле зрения) группами пролиферирующих новообразованных капилляров и участками минимального некроза в месте контакта с имплантатом. Полиморфноклеточные лимфоциты инфильтриро-

вали новообразующую строму в виде небольших групп клеток от 5 до 12 в поле зрения. Лимфоциты были представлены в виде диффузного обильного инфильтрата. Плазмоциты, макрофаги и гигантские многоядерные клетки были представлены слабовыраженными очаговыми инфильтратами так же, как и в контрольной группе, располагавшимися преимущественно по периферии новообразованной соединительной ткани (рис. 3б). При сравнении сумм баллов выявлялись статистически значимые различия ($p = 0,0022$) (рис. 4).

В контрольной группе на 7-е сут. определялась обширная слабо васкуляризованная соединительнотканная капсула вокруг имплантата с единичными некротизированными клетками (рис. 5а). Определялись единичные полиморфноклеточные лейкоциты и гигантские многоядерные клетки, слабовыраженная лимфоидная, макрофагальная и плазмоцитарная инфильтрация.

На 7-е сут. в экспериментальной группе выявлялась умеренно выраженная хорошо васкуляризованная соединительнотканная капсула, инфильтрированная единичными полиморфноклеточными лейкоцитами, лимфоцитами, макрофагами, плазмоцитами и гигантскими многоядерными клетками (рис. 5б).

При сравнении сумм баллов выявлялись статистически значимые различия ($p = 0,0022$) (рис. 6).

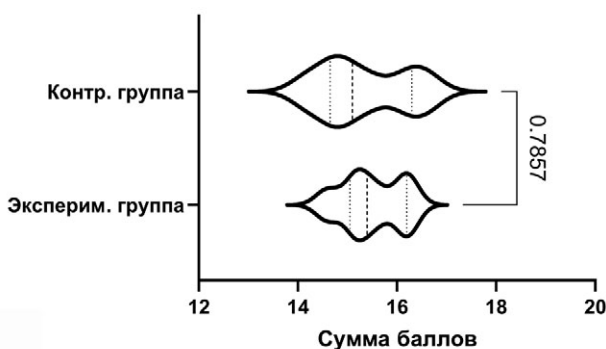


Рис. 2. Статистическая характеристика сумм баллов в группах на 2-е сут.

Примечание: вертикальной жирной пунктирной линией на графике отмечена медиана, обычными пунктирными линиями отмечены 25 и 75-й перцентили. Изгибы наружных линий, формирующих фигуры на графике, демонстрируют распределение случаев в группе

Fig. 2. Statistical characteristics of the scores in the groups on the 2nd day

Note: The vertical bold dotted line the median line on the graph, the normal dotted line indicates the 25th and 75th percentiles. The curves of the outer lines which form shapes at the graph, show the distribution of cases in the group

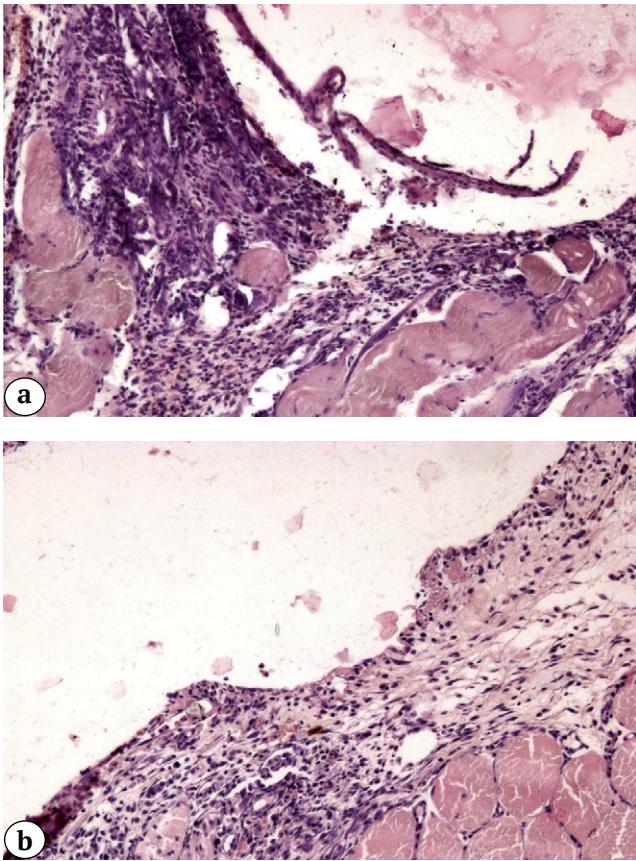


Рис. 3. Патогистологическая картина в месте имплантации на 4-е сут.:
 а — в контрольной группе; б — в экспериментальной группе. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$
Fig. 3. Pathohistological picture at the site of implantation on the 4th day:
 а — in the control group; б — in the experimental group. Stained with hematoxylin and eosin. Mag. $\times 200$

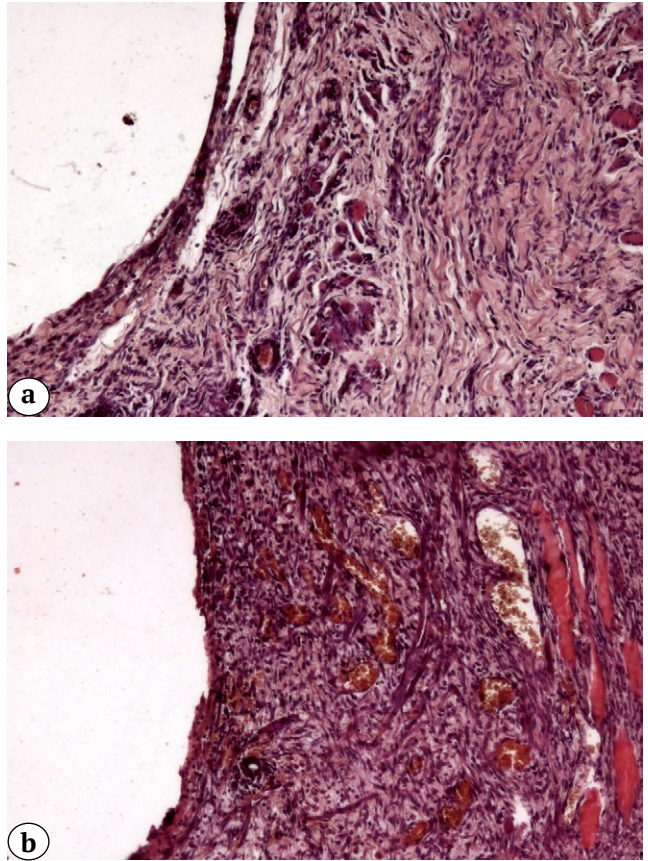


Рис. 5. Патогистологическая картина в месте имплантации на 7-е сут.:
 а — в контрольной группе; б — в экспериментальной группе. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. $\times 200$
Fig. 5. Pathohistological picture at the site of implantation on the 7th day:
 а — in the control group; б — in the experimental group. Stained with hematoxylin and eosin. Mag. $\times 200$

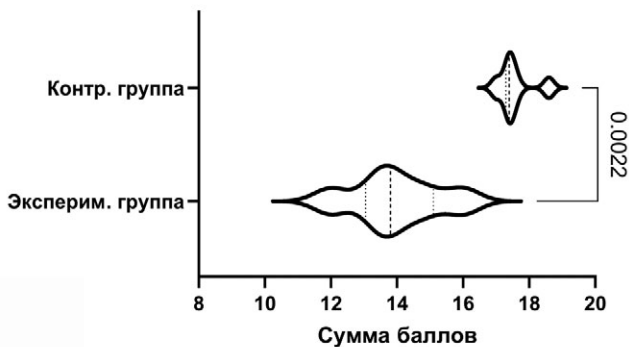


Рис. 4. Статистическая характеристика сумм баллов в группах на 4-е сут. *Примечание:* см. рис. 2
Fig. 4. Statistical characteristics of the scores in the groups at the day 4
Note: See Figure 2

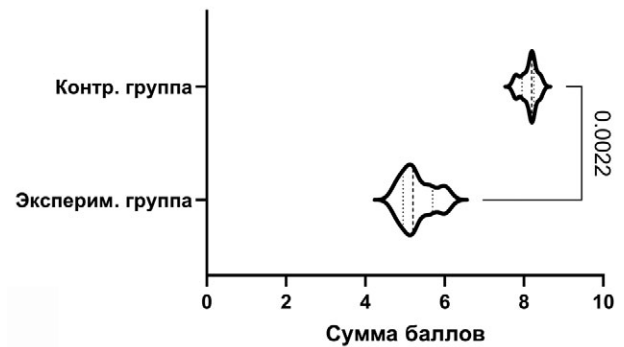


Рис. 6. Статистическая характеристика сумм баллов в группах на 7-е сут. *Примечание:* см. рис. 2
Fig. 6. Statistical characteristics of the scores in the groups at the day 7
Note: See Figure 2

ОБСУЖДЕНИЕ

Заживление послеоперационной раны является динамическим процессом, на который влияют как экзогенные, так и эндогенные факторы [15, 16]. Бактериальные инфекции являются важной причиной неудач при имплантации. Образование микробных биопленок на поверхности стальных или титановых имплантатов может привести к развитию периимплантитов. Микробная контаминация имплантируемых материалов и сопутствующая воспалительная реакция препятствуют адгезии остеобластов. Бактериальные инфекции периимплантационной области могут стать причиной развития остеомиелита [17].

Исследовались перифокальные реакции мягких тканей в условиях, максимально приближенных к реальным, когда контаминация микроорганизмом происходит уже в момент формирования открытого перелома. Микробная нагрузка при этом, как правило, невысокая, но развитию инфекционных осложнений способствует наличие имплантата в зоне раневого дефекта. Ранние инфекционные осложнения чаще всего локализованы в мягких тканях, а при длительном их течении в процесс вовлекается и кость.

Выявленная выраженная инфильтрация полиморфноклеточными лейкоцитами, наличие некроза и слабая лимфо-макрофагальная реакция в обеих группах на 2-е сут. были связаны с активацией damage-associated molecular patterns (DAMP) и pathogen-associated molecular patterns (PAMP) сигнальных путей, ассоциированных с неспецифическими паттернами врожденного иммунного ответа [18].

К 4-м сут. статистически значимое снижение в экспериментальной группе количества иммунных клеток, некротического детрита, а также усиление разрастания соединительной ткани и неоангиогенеза могли быть связаны как с непосредственным антибактериальным воздействием ципрофлоксацина и наночастиц серебра, так и с выявленным F. Sasche с соавторами противовоспалительным эффектом ципрофлоксацина [19]. Данные эффекты антибактериальных покрытий

к 7-м сут. имплантации приводили к появлению менее выраженной, хорошо васкуляризованной фиброзной капсулы вокруг экспериментальных имплантатов, имеющей более слабую инфильтрацию иммунными клетками. Перечисленные морфологические изменения вокруг экспериментального имплантата указывают на более благоприятное заживление мягких тканей [20].

Антибактериальная активность серебросодержащих покрытий в отношении штаммов MRSA ранее неоднократно демонстрировалась *in vitro* [21, 22]. Известно, что, кроме прямого противомикробного действия, наночастицы серебра могут контролировать высвобождение противовоспалительных цитокинов, тем самым способствуя ускорению заживлению ран без образования рубцов [23]. Стимулируя дифференцировку миофибробластов из нормальных фибробластов, они позволяют контролировать инфекционный процесс и ускорять процесс заживления. Наночастицы серебра также усиливают реэпителизацию эпидермиса, стимулируя пролиферацию и миграцию кератиноцитов, а в сочетании с тетрациклином значительно снижают бактериальную нагрузку в поверхностных и глубоких слоях тканей в мышинной модели, что приводит к ускоренному заживлению ран [24, 25].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты позволили установить слабовыраженные патологические морфологические проявления тканевых реакций в ответ на использование экспериментальных имплантатов с четырехкомпонентным композиционным антибактериальным покрытием в условиях бактериальной контаминации хирургической раны. На 7-е сут. морфологические проявления воспаления в местах имплантации контаминированных MRSA экспериментальных спиц в мягких тканях у лабораторных животных минимальны, что может быть связано как с прямым противомикробным действием компонентов покрытия на микроорганизмы, так и с противовоспалительной активностью наночастиц серебра и ципрофлоксацина в раннем послеоперационном периоде.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Заявленный вклад авторов

Все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Все авторы прочли и одобрили финальную версию рукописи статьи. Все авторы согласны нести ответственность за все аспекты работы, чтобы обеспечить надлежащее рассмотрение и решение всех возможных вопросов, связанных с корректностью и надежностью любой части работы.

DISCLAIMERS

Author contribution

All authors made equal contributions to the study and the publication.

All authors have read and approved the final version of the manuscript of the article. All authors agree to bear responsibility for all aspects of the study to ensure proper consideration and resolution of all possible issues related to the correctness and reliability of any part of the work.

Источник финансирования. Государственное бюджетное финансирование.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Этическая экспертиза. До начала исследования было получено одобрение локального этического комитета Гомельского государственного медицинского университета (протокол № 2 от 24.03.2021). Исследование проведено с соблюдением принципов гуманного обращения с лабораторными животными в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и других научных целей, и директивой 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

Информированное согласие на публикацию. Не требуется.

Funding source. State budgetary funding.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Ethics approval. Approval from the local ethics committee was obtained before the start of the study. The study was conducted in compliance with the principles of humane treatment of laboratory animals in accordance with the requirements of the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experiments and other Scientific Purposes and Directive 2010/63/EU of the European Parliament and the Council of the European Union of 22.09.2010 on the protection of animals used for scientific purposes.

Consent for publication. Not required.

ЛИТЕРАТУРА [REFERENCES]

- Romanò C.L., Bozhkova S.A., Artyukh V., Romanò D., Tsuchiya H., Drago L. Local antibacterial implant protection in orthopedics and trauma: what's new? *Traumatologiya i ortopediya Rossii* [Traumatology and Orthopedics of Russia]. 2019;25(4):64-74. doi: 10.21823/2311-2905-2019-25-4-64-74.
- Harris L.G., Richards R.G. Staphylococci and implant surfaces: a review. *Injury*. 2006;37 Suppl 2:S3-14. doi: 10.1016/j.injury.2006.04.003.
- Tande A.J., Patel R. Prosthetic joint infection. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27(2):302-45. doi: 10.1128/CMR.00111-13.
- Bohara S., Suthakorn J. Surface coating of orthopedic implant to enhance the osseointegration and reduction of bacterial colonization: a review. *Biomater Res*. 2022;26(1):26. doi: 10.1186/s40824-022-00269-3.
- Zilberman M., Elsner J.J. Antibiotic-eluting medical devices for various applications. *J Control Release*. 2008;130(3):202-215. doi: 10.1016/j.jconrel.2008.05.020.
- Tobin E.J. Recent coating developments for combination devices in orthopedic and dental applications: A literature review. *Adv Drug Deliv Rev*. 2017;112:88-100. doi: 10.1016/j.addr.2017.01.007.
- Nie B., Huo S., Qu X., Guo J., Liu X., Hong Q. et al. Bone infection site targeting nanoparticle-antibiotics delivery vehicle to enhance treatment efficacy of orthopedic implant related infection. *Bioact Mater*. 2022;16:134-148. doi: 10.1016/j.bioactmat.2022.02.003.
- Chouirfa H., Bouloussa H., Migonney V., Falentin-Daudré C. Review of titanium surface modification techniques and coatings for antibacterial applications. *Acta Biomater*. 2019;83:37-54. doi: 10.1016/j.actbio.2018.10.036.
- Hasan J., Crawford R.J., Ivanova E.P. Antibacterial surfaces: the quest for a new generation of biomaterials. *Trends Biotechnol*. 2013;31(5):295-304. doi: 10.1016/j.tibtech.2013.01.017.
- Тапальский Д.В., Бойцова Н.Ю., Осипов В.А., Рогачев А.А., Ярмоленко М.А., Рогачев А.В. и др. Новое антибактериальное покрытие на основе смеси полиуретана с поли-L-лактоидом. *Доклады Национальной академии наук Беларуси*. 2013;57(4):89-95.
- Tapalski D.V., Boytsova N. Yu., Osipov V.A., Rogachev A.A., Yarmolenko M.A., Rogachev A.V. et al. [New antibacterial coating based on the mixture of polyurethane and poly-L-lactide]. *Doklady Nacional'noj akademii nauk Belarusi* [Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus]. 2013;57(4):89-95. (In Russian).
- Rogachev A.A., Yarmolenko M.A., Rogachou A.V., Tapalski D.V., Liu X., Gorbachev D.L. Morphology and structure of antibacterial nanocomposite organic-polymer and metal-polymer coatings deposited from active gas phase. *RSC Adv*. 2013;3(28):11226-11233. doi: 10.1039/C3RA23284K.
- Qi C., Rogachev A.V., Tapalski D.V., Yarmolenko M.A., Rogachev A.A., Jiang X. et al. Nanocomposite coatings for implants protection from microbial colonization: Formation features, structure, and properties. *Surf Coatings Technol*. 2017;315:350-358. doi: 10.1016/j.surfcoat.2017.02.066.
- Тапальский Д.В., Осипов В.А., Сухая Г.Н., Ярмоленко М.А., Рогачев А.А., Рогачев А.В. Биосовместимые композиционные антибактериальные покрытия для защиты имплантатов от микробных биопленок. *Проблемы здоровья и экологии*. 2013; (2):129-134. doi: 10.51523/2708-6011.2013-10-2-24.
- Tapalski D.V., Osipov V.A., Sukhaya G.N., Yarmolenko M.A., Rogachiov A.A., Rogachiov A.V. [Biocompatible composite antibacterial coatings for protection of implants against microbial biofilms]. *Problemy zdorov'ya i ekologii* [Health and Ecology Issues]. 2013;(2):129-134. (In Russian). doi: 10.51523/2708-6011.2013-10-2-24.
- Maki D.G., Weise C.E., Sarafin H.W. A semiquantitative culture method for identifying intravenous-catheter-related infection. *N Engl J Med*. 1977;296(23):1305-1309. doi: 10.1056/NEJM197706092962301.
- Velnar T., Bailey T., Smrkolj V. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms. *J Int Med Res*. 2009;37(5):1528-1542. doi: 10.1177/147323000903700531.
- Takeo M., Lee W., Ito M. Wound healing and skin regeneration. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015;5(1):a023267. doi: 10.1101/cshperspect.a023267.

17. Sharma S., Bano S., Ghosh A.S., Mandal M., Kim H.W., Dey T. et al. Silk fibroin nanoparticles support in vitro sustained antibiotic release and osteogenesis on titanium surface. *Nanomedicine*. 2016;12(5):1193-1204. doi: 10.1016/j.nano.2015.12.385.
18. Wilkinson H.N., Hardman M.J. Wound healing: cellular mechanisms and pathological outcomes. *Open Biol*. 2020;10(9):e200223. doi: 10.1098/rsob.200223.
19. Sachse F., von Eiff C., Becker K., Rudack C. Anti-inflammatory effects of ciprofloxacin in *S. aureus* Newman induced nasal inflammation in vitro. *J Inflamm*. 2008;5(1):e11. doi: 10.1186/1476-9255-5-11.
20. Pastar I., Wong L.L., Egger A.N., Tomic-Canic M. Descriptive vs mechanistic scientific approach to study wound healing and its inhibition: Is there a value of translational research involving human subjects? *Exp Dermatol*. 2018;27(5):551-562. doi: 10.1111/exd.13663.
21. Гордина Е.М., Божкова С.А., Ерузин А.А. Высокоэффективные оксиды серебра: влияние концентрации кислорода на антибактериальную активность в отношении клинических штаммов *Staphylococcus aureus*. *Сибирское медицинское обозрение*. 2021;(5): 54-60. doi: 10.20333/25000136-2021-5-54-60.
- Gordina E.M., Bozhkova S.A., Erusin A.A. [Highly effective silver oxides: influence of oxygen concentration on antibacterial activity against clinical strains of *Staphylococcus aureus*]. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie* [Siberian Medical Review]. 2021;(131):54-60. (In Russian). doi: 10.20333/25000136-2021-5-54-60.
22. Necula B.S., Fratila-Apachitei L.E., Zaat S.A., Apachitei I., Duszczuk J. In vitro antibacterial activity of porous TiO₂-Ag composite layers against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Acta Biomater*. 2009;5(9):3573-3580. doi: 10.1016/j.actbio.2009.05.010.
23. Hamdan S., Pastar I., Drakulich S., Dikici E., Tomic-Canic M., Deo S. et al. Nanotechnology-Driven Therapeutic Interventions in Wound Healing: Potential Uses and Applications. *ACS Cent Sci*. 2017;3(3):163-175. doi: 10.1021/acscentsci.6b00371.
24. Vijayakumar V., Samal S.K., Mohanty S., Nayak S.K. Recent advancements in biopolymer and metal nanoparticle-based materials in diabetic wound healing management. *Int J Biol Macromol*. 2019;122:137-148. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.10.120.
25. Szmyd R., Goralczyk A.G., Skalniak L., Cierniak A., Lipert B., Filon F.L. et al. Effect of silver nanoparticles on human primary keratinocytes. *Biol Chem*. 2013;394(1):113-123. doi: 10.1515/hsz-2012-0202.

Сведения об авторах

✉ **Тапальский Дмитрий Викторович** — д-р мед. наук
 Адрес: Республика Беларусь, 246050, г. Гомель,
 ул. Ланге, д. 5
<https://orcid.org/0000-0002-9484-7848>
 e-mail: tapalskiy@gmail.com

Савчук Олег Петрович
<https://orcid.org/0000-0003-4360-7091>
 e-mail: osa78@tut.by

Зиновкин Дмитрий Александрович — канд. биол. наук
<https://orcid.org/0000-0002-3808-8832>
 e-mail: zinovkin2012@gmail.com

Николаев Владимир Иванович — канд. мед. наук
<https://orcid.org/0000-0001-9886-7216>
 e-mail: nikolaev.52.52@mail.ru

Ярмоленко Максим Анатольевич — д-р техн. наук
<https://orcid.org/0000-0002-1283-8762>
 e-mail: simmak79@mail.ru

Рогачев Александр Александрович — д-р техн. наук,
 член-корр. НАН Беларуси
<https://orcid.org/0000-0003-4993-0519>
 e-mail: rogachev78@mail.ru

Authors' information

✉ **Dmitry V. Tapalski** — Dr. Sci. (Med.)
 Address: 5, Lange st., Gomel, 246050, Belarus
<https://orcid.org/0000-0002-9484-7848>
 e-mail: tapalskiy@gmail.com

Oleg P. Savchuk
<https://orcid.org/0000-0003-4360-7091>
 e-mail: osa78@tut.by

Dmitry A. Zinovkin — Cand. Sci. (Biol.)
<https://orcid.org/0000-0002-3808-8832>
 e-mail: zinovkin2012@gmail.com

Vladimir I. Nikolaev — Cand. Sci. (Med.)
<https://orcid.org/0000-0001-9886-7216>
 e-mail: nikolaev.52.52@mail.ru

Maksim A. Yarmolenko — Dr. Sci. (Tech.)
<https://orcid.org/0000-0002-1283-8762>
 e-mail: simmak79@mail.ru

Aleksandr A. Rogachev — Dr. Sci. (Tech.)
<https://orcid.org/0000-0003-4993-0519>
 e-mail: rogachev78@mail.ru