www.wordlyknowledge.uz Volume: 3, Issue: 1, 2023

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БАКТЕРИЙ С ЧАСТИЦАМИ ОКСИДА ГРАФЕНА СНИЖАЕТ ИХ СПОСОБНОСТЬ К ОБРАЗОВАНИЮ БИОПЛЕНКИ НА МИКРОПЛАСТИНКАХ ПВХ

Рахмонова Бахора Каххоровна.

Ахтамов Шохжахон Тоштемир ўғли

Насимов Озод Жамшид ўғли

Зарипова Шоира Шухратовна

Самаркандский государственный медицинский университет, Самарканд, Узбекистан.

Аннотация: Прогресс в диагностике и лечении заболеваний человека невозможен без использования катетеров и имплантатов, контактирующих с кожей, эпителием слизистых оболочек и кровью пациента. Важной задачей при изготовлении имплантируемых медицинских устройств является их устойчивость к белковому биообрастанию и образованию бактериальной биопленки на их поверхности. Взаимодействие бактерий с частицами оксида графена способствовало снижению количества бактерий Staphylococcus aureus (58,6±1,9% КОЕ) и Escherichia coli (28,7±2,0% КОЕ). Инкубация стафилококка обработка клеток aureus и Escherichia coli частицами оксида графена приводила к снижению способности к образованию биопленки на 96-луночном прозрачном ПВХ Микропланшеты. Создание композитных материалов на основе поливинилхлорида и графена может стать одной из стратегий уменьшения образования биопленки на поверхности имплантируемых медицинских устройств.

Ключевые слова: Бактерий, ПВХ, биопленки, имплант, материал

Abstract: Progress in the diagnosis and treatment of human diseases is impossible without the use of catheters and implants in contact with the skin, the epithelium of the mucous membranes and the patient's blood. An important task in the manufacture of implantable medical devices is their resistance to protein biofouling and the formation of bacterial biofilm on their surface. The interaction of bacteria with graphene oxide particles contributed to a decrease in the number of Staphylococcus aureus bacteria (58.6±1.9% CFU) and Escherichia coli (28.7±2.0% CFU). Staphylococcus incubation treatment of aureus and Escherichia coli cells with graphene oxide particles led to a decrease in the ability to form biofilms on 96-well transparent PVC Microplates. The creation of composite materials based on polyvinyl chloride and graphene can become one of the strategies to reduce the formation of biofilm on the surface of implantable medical devices.

Keywords: Bacteria, PVC, biofilms, implant, material

1 вступление.

Сегодня использование имплантируемых медицинских устройств является распространенной медицинской процедурой, используемой в диагностических и терапевтических целях. ПВХ (поливинилхлорид) зарекомендовал себя как надежный, безопасный и экономичный материал для 70 лет использования в клинической практике. Свойства поливинилхлорида – простая технология производства, прозрачность, химическая стабильность при взаимодействии с биологическими жидкостями - способствуют тому, что предварительно простерилизованные одноразовые медицинские изделия изготавливаются из ПВХ. Диапазон применения ПВХ в клинической практике

www.wordlyknowledge.uz Volume: 3, Issue: 1, 2023

широк, начиная от мягких пакетов для крови, мочи средства для воздержания, онтейнеры для внутривенных растворов, кислородные маски, эндотрахеальные трубки, для осмотра и хирургические перчатки. Катетеры и канюли из ПВХ отвечают всем требованиям, необходимым для клинического применения - гибкость, прозрачность, прочность, устойчивость к перегибам и пригодность для стерилизации. Несмотря на то, что в клинической практике используются трубки из других материалов (латекс, силикон...), поливинилхлоридные трубки являются “золотым стандартом”. Фактически, единственной, но важной проблемой при использовании медицинских изделий из ПВХ в клинической практике является короткое время их использования - благодаря адгезии белков плазмы, иммунокомпетентных клеток и бактерий. Поэтому одной из первоочередных задач, стоящих перед учеными, является увеличение времени использования медицинских изделий из ПВХ - создание покрытий или композитных материалов с антиадгезивными и бактерицидными свойствами, которые предотвращают адгезию сывороточных белков, эукариотических клеток и бактерий. Сегодня эта задача осложняется растущей устойчивостью бактерий к большинству антибактериальных препаратов и антисептических веществ, используемых в клинической практике. Поэтому необходим поиск стратегий по снижению бактериальной контаминации и образования биопленки на поверхности катетеры и имплантируемые устройства являются одним из приоритетов. Таким образом, одной из стратегий предотвращения образования бактериальной биопленки на медицинских изделиях является модификация их поверхности. Полученные материалы против биопленки можно разделить на инженерные поверхности с нано- и микрорельефом, которые препятствуют бактериальной адгезии, материалы с поверхностями, выщелачиваемыми биоцидом, и материалы с иммобилизованными антибиотиками. Однако использование материалов с иммобилизованными антибиотиками приводит к появлению бактерий с множественной лекарственной устойчивостью, ызывающих внутрибольничные инфекции. Кроме того, врачи в стоматологической практике часто с талкиваются с инфекционными осложнениями (стоматитом) при длительном ношении зубных протезов. Таким образом, было отмечено, что ношение полимерных мостовидных протезов более 7 месяцев не только способствует восстановлению физиологических функций (защитных, жевательных, эстетических, коммуникативных), но и может быть источником инфекционных осложнений, приводящих к неэффективности ортопедического лечения. Точне, графен (GBNs - наноматериалы на основе графена) - это “новые материалы”. Которые характеризуются двумерной плоской сетчатой структурой, богатой кислородсодержащими функциональными группами, легкой модификацией поверхности, хорошей гидрофильностью и биосовместимостью. Они обладают превосходными электрическими, фототермическими и механическими свойствами. Биосенсоры (изготовленные из наноматериалов на основе графена) используются для обнаружения РНК/ДНК, пептидов, гормонов, глюкозы, аденозинтрифосфата (АТФ) и перекиси водорода. Наноматериалы на основе графена широко используются в молекулярных датчиках, новых источниках энергии, транзисторах, химическом катализе, солнечных элементах и электрохимии. Сегодня во всем мире идет интенсивная разработка материалов, предотвращающих заселение поверхности бактериями, материалов с низкой бактериальной адгезией. Несмотря на то, что в научной литературе описано множество методов оценки эффективности таких поверхностей. Однако из-за отсутствия стандартизации этих методов результаты, полученные разными исследователями, трудно сравнивать друг с другом. Одним из решений этой проблемы может стать междисциплинарный подход, основанный на дело в том, что физико-химические свойства материала, биосовместимость

www.wordlyknowledge.uz Volume: 3, Issue: 1, 2023

и антибактериальные свойства оцениваются одним и тем же методологическим способом. Наше исследование посвящено анализу влияния частиц оксида графена на способность к образованию биопленки клиническими штаммами золотистого стафилококка и кишечной палочки на Микропластинки из ПВХ-пластин.

2 Материалы и методы.

2.1 Характеристика материала.

В нашей работе мы использовали порошок оксида графена (Самарканд, Узбекистан) со следующими характеристиками: размер частиц (11-110 мкм); цвет (темно-коричневый); насыпная плотность (2,1 - 2,6 г/см4); суспензия: вода, аммиачная вода, водный этанол, N-метилпирролидон, диметилсульфоксид, диметилформамид; состав (C - 48 мас.%; O - 51 мас.%; H - 2,4 мас.%; S - 2,7 мас.%; другие примеси < 0,3 мас.% (рис. 1)



Рис. 1. Порошок оксида графена (GO): А - насыпью; Б - в упаковке.

2.2 Бактерии.

Мы использовали биопленкообразующие штаммы клинических изолятов бактерий из урогенитального тракта при инфекциях мочевыводящих путей (кишечная палочка (12 штаммов) и раневые выделения - золотистый стафилококк (12 штаммов). Бактериальные суспензии готовили в 0,17 М растворе NaCl и стандартизировали в соответствии со стандартным тестом Макфарланда (0,7 единиц). Впоследствии бактериальные суспензии разводили 1:110 и на их основе готовили рабочие растворы.

2.3 Образование биопленки.

Образование биопленки изучали фотометрическим методом. Для клинических изолятов Золотистый стафилококк, Кноблох Дж.К. и др., а для клеток Escherichia coli – О тул Г.Ф. и др. Интенсивность вымывания красителя соответствовала степени образования

www.wordlyknowledge.uz Volume: 3, Issue: 1, 2023

биопленки. Оптическую плотность измеряли на концентрационном фотоэлектрическом колориметре KFK 2 МП

(Самарканд, Узбекистан) при λ=550 нм.

2.4 Взаимодействие бактерий и частиц оксида графена.

Для изучения устойчивости/чувствительности бактерий к частицам оксида графена мы использовали разведения порошка оксида графена в 0,16 М растворе NaCl при конечной концентрации 0,6 мкг/мл. Бактерии и частицы оксида графена (GO) инкубировали в термостате (39°C, 50 минут). После инкубации экспериментальный раствор (60 мкл) наносили на поверхность твердой питательной среды. После этого бактерии выращивали в термостате (39°C, 22 часа). Подсчет количества КОЕ на твердой питательной среде проводили на следующий день.

2.5 Статистические методы.

Полученные результаты были подвергнуты статистической обработке методами вариационной статистики.

3 Результаты и обсуждение.

Оксид графита (GO) представляет собой соединение со слоистой структурой, получаемое окислением природного графита с высокой степенью кристалличности, и легко диспергируется в H2O. Каждая частица графита имеет плотный двумерный углеродистый каркас, который построен из большого количества sp3- (C) и меньшего количества sp2- (C). В коллоидной дисперсии каждая частица имеет размер от 6 до 12 нм. При изменении состава коллоида, при добавлении соли, как мы использовали в нашей работе (0,17 М раствор NaCl), изменяется состояние частиц изменения. Существует по меньшей мере два типа вторичных конформаций частиц графита, в которых они обнаруживаются в растворах, содержащих соли. Образование в растворе крупномасштабных частиц "слоистого заполнителя", состоящего из множества тонкопленочных частиц, уложенных друг на друга. Каждый прямой участок "слоистого слоя заполнителя" содержит большой изгиб, причем каждая первичная частица также резко изогнута. Другой тип вторичной конформации частиц графена называется “случайной формой агрегат” (рис. 2). На изображении видно, что скопления тонкопленочных частиц неравномерно изогнуты и деформированы, как смятая бумага. Это указывает на то, что сродство между частицами и дисперсионной средой очень низкое и частицы агрегируются подобно линейному гибкому полимеру. Это может снизить степень их межчастичной ориентации и может привести к агрегации частиц. Эти особенности поведения частиц графена в растворах, содержащих соли, необходимо учитывать из-за возможной агрегации частиц и уменьшения адгезия бактерий на поверхности частиц оксида графена.

www.wordlyknowledge.uz Volume: 3, Issue: 1, 2023

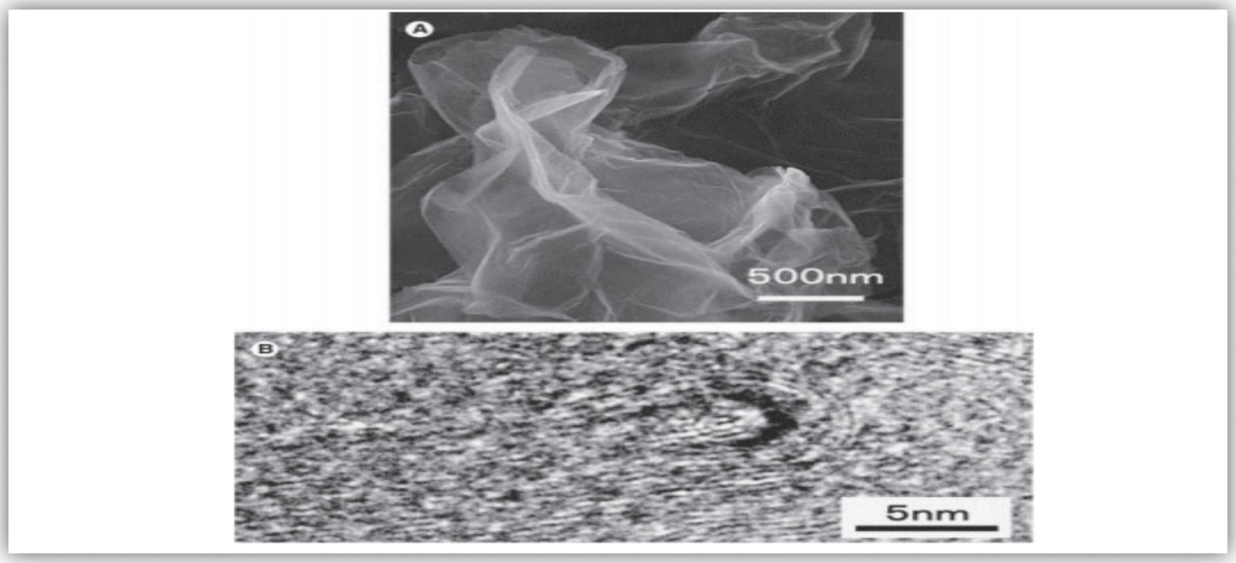


Рис. 2. Тонкая структура агрегата случайной формы. (А) СЭМ-изображение множества изгибов, (Б) ПЭМ -изображение центра одного изгиба (М. Хирата и др. Углерод 44,0 (2022)).

На первом этапе нашего исследования мы попытались оценить бактерицидное действие частиц оксида графена при инкубации частиц оксида графена (GO) с грамотрицательными микроорганизмами. (Кишечная палочка) и грамположительные бактерии (золотистый стафилококк). Оценить бактерицидный эффект частиц оксида графена в растворе по оптической плотности было невозможно, поскольку оксид графена (GO) окрашивал раствор, содержащий суспензию бактерий и порошок оксида графена, в черный цвет. Следовательно, после инкубации (39°C, 50 мин) экспериментальной смеси. (0,6 мл (бактериальная суспензия) + 0,6 мл (раствор оксида графена 0,6 мкг/мл), аликвоты (60 мкл) были взяты и растерты шпателем по поверхности твердой питательной среды. В контрольном образце вместо оксида графена использовался 0,16 М раствор NaCl. На следующий день подсчитывали количество КОЕ и рассчитывали индекс бактериальной чувствительности по формуле:

Индекс (чувствительность) = 100 - КОЕ (эксперимент) / КОЕ (контроль) × 100 (1)

В результате расчета индекса чувствительности (1) мы отметили, что индекс чувствительности реакция клеток золотистого стафилококка на частицы оксида графена характеризовалась межштаммовой вариабельностью - от 45% до 50% КОЕ (рис. 3), но в среднем она была высокой (49,7±1,8 % КОЕ). Для штаммов Escherichia coli с высокой межштаммовой вариабельностью - от 19% до 40% КОЕ - индекс чувствительности был значительно ниже - 30,0±2,2 КОЕ.

www.wordlyknowledge.uz Volume: 3, Issue: 1, 2023

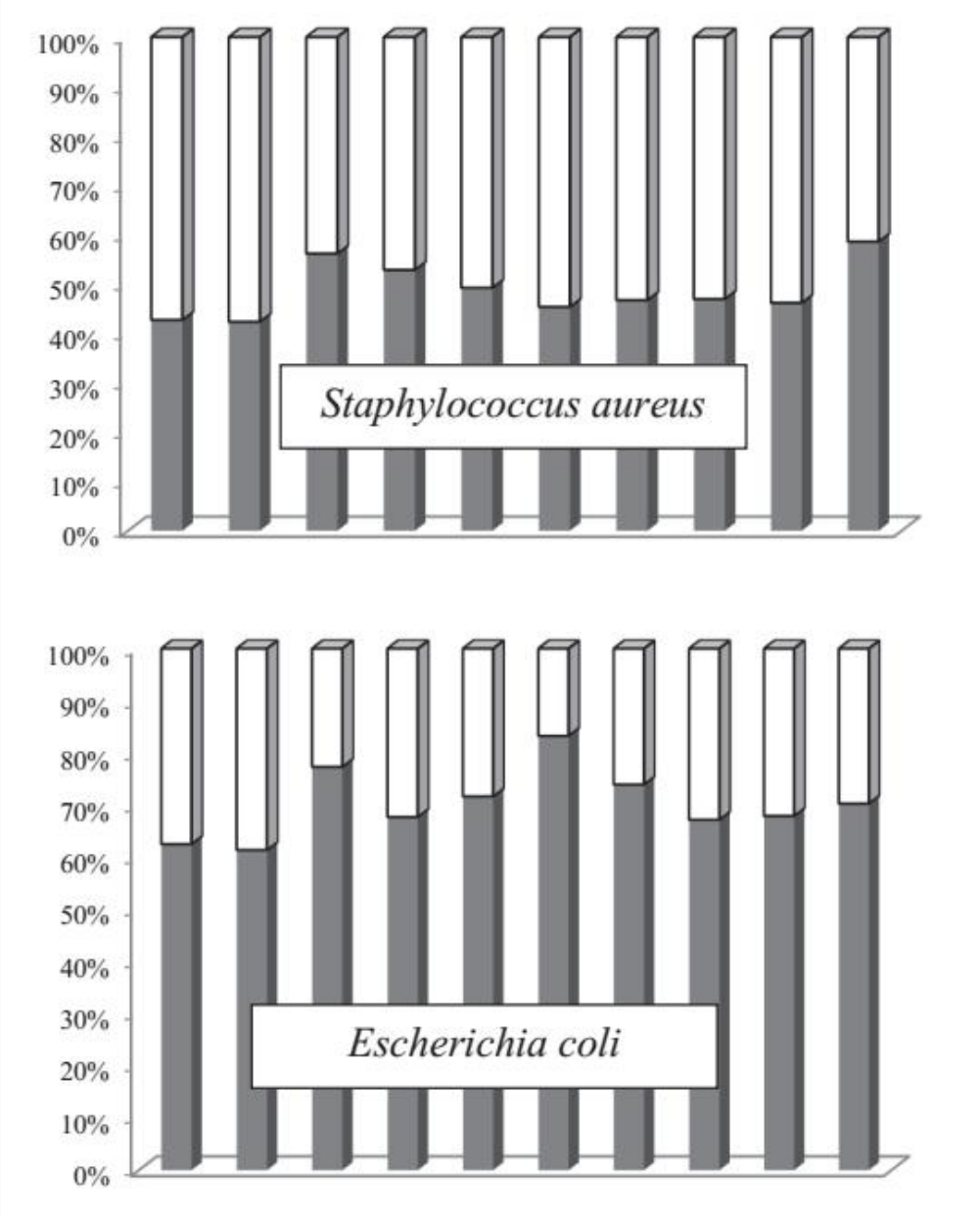


Рис. 3. Снижение КОЕ после взаимодействия клинических штаммов золотистого стафилококка (12 штаммов) и кишечной палочки (12 штаммов) с частицами оксида графена.

На втором этапе исследования перед нами была поставлена задача исследовать влияние оксида графена (GO) на способность бактерий к образованию биопленки в лунках пластин из поливинилхлорида. В нашей работе мы использовали одни и те же клинические бактериальные изоляты (12 штаммов Escherichia coli и 12 штаммов золотистого стафилококка). Для клинических штаммов золотистого стафилококка толщина биопленки, оцененная методом экстинкции красителем, значительно варьировала (от 0,25 до 0,43 МКМ). Кроме того, 5 из 12 штаммов Золотистый стафилококк не образовывал биопленки. Средние значения образования биопленки по количество клеток золотистого стафилококка составляло 0,35±0,01 ед. (рис. 4А). Способность образовывать биопленки в лунках поливинилхлоридных планшетов для

www.wordlyknowledge.uz Volume: 3, Issue: 1, 2023

клинических штаммов Escherichia coli значительно варьировала (от 0,20 до 0,41 ед.). Средние значения были следующими 0,27±0,03 OD (по экстинкции красителя).

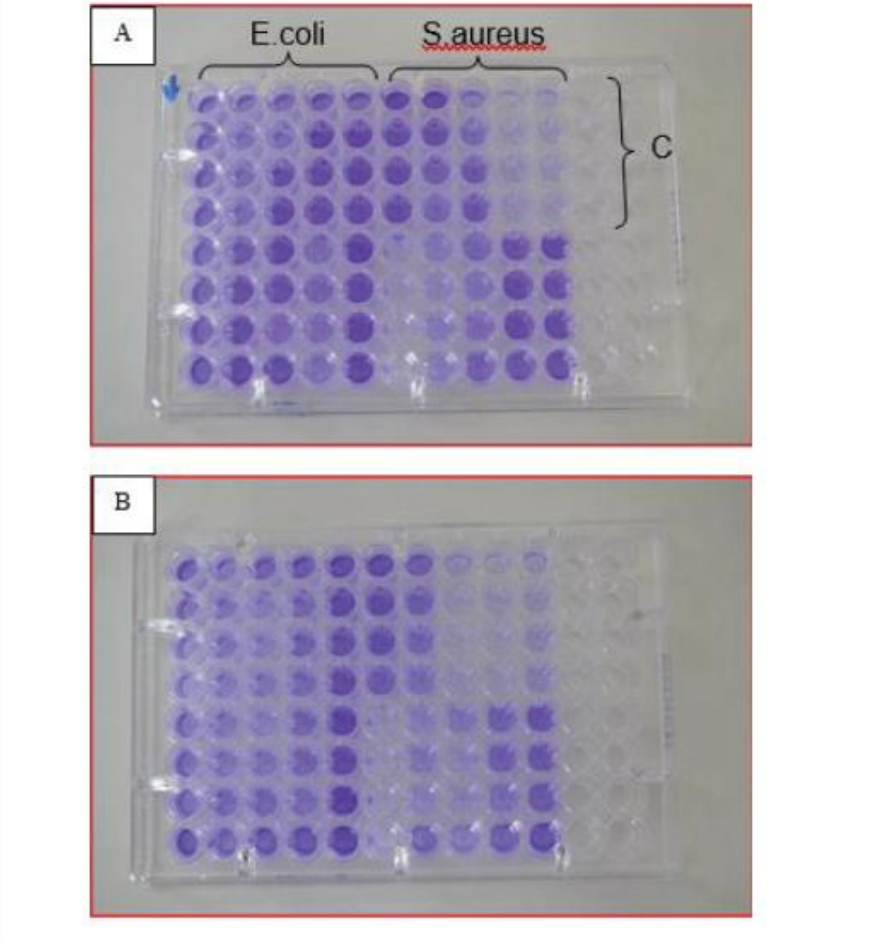


Рис. 4. Образование биопленки на 98-луночных прозрачных микропланшетах из ПВХ: (А) - образование биопленки до взаимодействия с GO; (Б) - образование биопленки после взаимодействия с GO; В - контроль;штаммы Escherichia coli - 12 (2 клетки), штаммы золотистого стафилококка - 12 (2 клетки).

Бактерии инкубировали с частицами оксида графена, как описано нами ранее. Способность к образованию биопленки после взаимодействия с частицами оксида графена снижалась как для клетки золотистого стафилококка (0,22±0,05 ед.) и кишечной палочки (0,25±0,01ед.) (рис. 4Б).

4 Выводы.

Таким образом, взаимодействие бактерий с частицами оксида графена способствовало снижению количества клеток золотистого стафилококка (на 49,9±1,9% КОЕ) и кишечной палочки (на 29,9±2,3% КОЕ). Инкубация клеток золотистого стафилококка и кишечной палочки с частицами оксида графена приводила к снижению способности к образованию биопленки на пластинах из поливинилхлорида. Методология и результаты нашего исследования могут быть использованы для оценки адгезии бактерий и образования биопленок при тестировании новых композиционных материалов на основе поливинилхлорида и графен. Некоторые из этих композитных материалов уже находятся в

стадии исследования. Таким образом, была разработана методика получения композиционного материала на основе графен-поливинилхлорида и графенорганосилана. Частицы оксида графена стали частью полимерных и хитозановых композитов, которые могут быть использованы в биомедицинских целях. Одним из перспективных применений графена может стать производство композиционных материалов с использованием аддитивных технологий. Таким образом, покрытие графеновым слоем гидрофобных материалов (поли(диметилсилоксан)) (PDMS), полимолочная кислота MakerBot (PLA), акрилонитрилбутадиенстирол MakerBot (ABS), объектные акрилаты Stratasys и акриловые краски), полученные методами трехмерной (3D) печати и используемые для изготовления имплантатов, могут значительно уменьшить белковое обрастание и адгезию иммунокомпетентных клеток и бактерий. В будущем это может стать одной из стратегий химической модификации поверхности имплантируемых медицинских устройств. В стоматологической практике протезный стоматит является одним из наиболее распространенных заболеваний полости рта в мире. пожилой. Это заболевание связано с длительным ношением коронок и мостовидных протезов, часто контаминированных пародонтопатогенными бактериями (Prevotella intermedia, Porphyromonas gingivalis, Aggregatibacter actinomycetemcomitans, Fusobacterium periodonticum, Actinomyces naeslundii, Streptococcus intermedius) и Candida albicans. Адгезия бактерий пародонтопатогенной группы была значительно снижена на “таблетках”, приготовленных из микронаполненного гибрида NextDent C & B и УФ-фотополимера Detax Freeprint temp. смолы по сравнению с самополимеризующимися композитами Luxatemp Automix Plus и

Акриловые полимеры. Добавление частиц оксида графена к фотополимерным смолам значительно уменьшит количество прилипших бактерий благодаря бактерицидному эффекту. На сегодняшний день не существует унифицированных методов оценки материалов, используемых для изготовления медицинских катетеров и имплантируемых устройств. Это не позволяет сравнивать результаты, полученные разными методами, и не позволяет судить о коммерческих перспективах разработка новых материалов для медицинских имплантируемых устройств, в том числе на основе графена.

Рекомендации:

1. Admakin A.L., Sokolov V.A. Surgical treatment of the consequences of burn injury//Combustiology.-2011.- No. 41-42. – P.31-32.

2 . ANTHROPOMETRIC RESULTS OF THE MAXILLOFACIAL REGION IN CHILDREN WITH ADENOID HYPERTROPHY. Rakhmonova Bakhora Kakhhorovna. Barotov Bobosher Ikrom coals. Toshmurodova Mavluda Rustamovna. Samarkand State Medical University. INTERDISCIPLINARY INNOVATION AND INNOVATION IN UZBEKISTAN. JOURNAL OF SCIENTIFIC RESEARCH No. 19 FROM 05/20/2023.

3. Volume-11| Issue-4| 2023 Published: |22-04-2023| Publishing Center of Finland 2095 CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE DISSEMINATED PERIODONTITIS IN INFECTED PATIENTS https://doi.org/10.5281/zenodo.7884961 Rakhmonova Bakhora Kakhhorovna Kosimov Sardar Abdullo ugli Kosimov Daler Abdullo ugli Samarkand Russian State Medical University.

4. ACHIEVEMENTS AND DISADVANTAGES OF MODERN ENDOSCOPIC SURGERY OF THE FACE AND JAW Rakhmanova Bakhora Kahorovna Tursunov Shokhrukhkhon Abduvali ugli Samarkand State Medical University

www.wordlyknowledge.uz Volume: 3, Issue: 1, 2023

Faculty of Dentistry. INTERDISCIPLINARY INNOVATIONS AND INNOVATIONS IN UZBEKISTAN JOURNAL OF SCIENTIFIC RESEARCH No. 17 03.20.2023.

5. MODERN ENDOSCOPIC SURGERY ON THE FACE AND JAW ACHIEVEMENTS AND DISADVANTAGES Rakhmanova Bahora Kakharovna Bozorov Xushnud Mekhrojiddinovich *Samarkand state medical universeteti Faculty of Dentistry. INTERDISCIPLINARY INNOVATIONS AND INNOVATIONS IN UZBEKISTAN JOURNAL OF SCIENTIFIC RESEARCH No. 17 03.20.2023*

6. COVID-19 INFECTION IN PATIENTS WITH BIPOLAR DISORDER AND BIPOLAR DISORDER HAS A HISTORY OF FEVERS AND THEIR COMPLICATIONS Prof. Boymuradov Sh.A., Maksudov D.D., Rakhmonova B.K., Kholmamatov F.Z Samarkand State Medical University. Samarkand Uzbekistan. JANUARY 2023 JOURNAL OF INTEGRATED EDUCATION AND RESEARCH.

7. JOURNAL OF INTEGRATED EDUCATION AND RESEARCH OF MODERN ENDOSCOPIC SURGERY OF THE FACE AND JAW ACHIEVEMENTS AND DISADVANTAGES Saparbayev Hasanboy Ilham ogly, Rakhmanova Bakhora Kakharovna Samarkand State Medical University Faculty of Dentistry

8. IMPROVING THE SURGICAL METHOD OF SCAR MICROSTOMY Rakhmonova Bakhora Kakhorovna Marupova Madina Khikmatullayevna. Toshtemirova Mokhira Makhmud kizi Samarkand State Medical University, Samarkand, Uzbekistan mohitoshtemirova1998@gmail.com МЕЖДУНАРОДНЫЙ МЕЖДИСЦИПЛИНАРНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЖУРНАЛ GALAXY (GIIRJ). ISSN (E): 2347-6915. Том. 11, выпуск 09, сентябрь (2023 г.).