

©А. В. Пантус

Івано-Франківський національний медичний університет
e-mail: surgery stomat@ifnmu.edu.ua

Морфологічне та мікробіологічне обґрунтування антибіотикосорбуючої здатності синтезованих біополімерних мікроволокон

ІНФОРМАЦІЯ

Надійшла до редакції/Received:
03.03.2020 р.

Ключові слова: матриксні матеріали; колаген; полікапролактон; імпрегнація антибіотиками; цефазолін; лінкоміцин.

АНОТАЦІЯ

Резюме. На сьогодні в медицині простежується новий напрямок, який включає поєднання волокнистих матеріалів із лікувальними засобами як система доставки ліків чи живих клітин. У зв'язку з цим у реконструктивній хірургії сформувався новий напрямок – тканинна інженерія, метою якої є відновлення біологічних функцій, тобто регенерація тканини, а не тільки заміщення її синтетичним матеріалом.

Мета дослідження – вивчити морфологічну структуру та антибіотико-сорбуючу здатність тривимірних нетканинних матриксів для реконструкції дефектів кісткової тканини, які ми створили.

Матеріали і методи. У дослідженні використано зразки тривимірних мікроволокнистих нетканинних матриксів для реконструкції дефектів кісткової тканини, виготовлених за розробленою нами методикою із полікапролактону. В якості контролю використовували фрагменти колагену.

Результати досліджень та їх обговорення. Оцінку збереження антибіотиків у зразках матриксних матеріалів виконували на 1-й, 3-й, 5-й, 7-й, 14-й, 18-й і 21-й дні експерименту. Одержані експериментальні дані свідчать, що обидва використані препарати (і «Цефазолін», і «Лінкоміцин») у достатній кількості зберігалися як в колагеновому, так і у полікапролактоновому матриксах упродовж усього терміну спостереження.

Висновки. Матриксні матеріали, які ми розробили, є засобом одноразової локальної доставки препарату в тканини у зоні ушкодження. Це особливо актуально у хірургічній стоматології, оскільки навіть суворе дотримання правил асептики не може забезпечити потрапляння поодиноких мікробних клітин із поверхні слизової оболонки ротової порожнини та слини в ділянку хірургічного втручання.

Вступ. Хірургічні стоматологічні втручання при таких патологіях, як кісти щелеп, хронічні остеомиєліти та парадонтити часто передбачають застосування кістковопластичних матеріалів для відновлення кісткової тканини. Їхню роль виконує гранульований каркас на основі трикальцій-фосфату та гідроксиапатиту, проте все ж залишається істотною проблемою неможливість відновлення повноцінної за структурою кістки. На сьогодні в медицині простежується новий напрямок, який включає поєднання волокнистих матеріалів із лікувальними засобами як система

доставки ліків чи живих клітин. У зв'язку з цим у реконструктивній хірургії сформувався новий напрямок – тканинна інженерія, метою якої є відновлення біологічних функцій, тобто регенерація тканини, а не тільки заміщення її синтетичним матеріалом. Такий підхід дозволяє цілеспрямовано управляти структурно-функціональним станом клітин, який бере участь у регенеративних процесах [1].

Одним із принципів створення тканинно-інженерного імплантату є розробка функціонального носія для клітин (матриці) на основі біосумісних біодеградуючих матеріалів. Такі

імплантати заповнюють дефект органа або ушкодженої тканини в живому організмі та надають при цьому лікувальний ефект. Але у визначені терміни вони повинні зазнати біодеградації з одночасною заміною новими тканинними структурами. В якості перспективних інструментів керованої реконструктивної репарації тканин розглядаються природні полімери (гіалуронова кислота, колаген, желатин, фібриноген, хітозан, пектини, агароза, альгінати, целюлоза, крохмаль, декстран, матригель) та синтетичні матеріали (полікапролактон, полілактид) [2].

При створенні тканинно-інженерного імплантату важливе значення має надання матриксному матеріалу складної тривимірної волокнистої каркасної структури (нетканинний скаффолд) із високим відношенням площі поверхні до загального об'єму, яка імітує міжклітинний тканинний матрикс. Унікальним методом формування пористих нетканинних матриксів є електроспінінг. Завдяки використанню електростатичних сил він дозволяє отримувати з полімерних розчинів або розплавів тонкі волокна діаметром від нанодо мікрметрів як з хаотичним, так і з орієнтованим розташуванням волокон. Тривимірний каркас імплантату за рахунок своєї архітекtonіки та наявності активних функціональних груп (що визначається видом полімерного матеріалу) сприяє адгезії і міграції клітин у ділянку тканинного дефекту, забезпечує складні каскади міжклітинних сигнальних взаємодій, які лежать в основі ангиогенезу, трофіки і репарації [3].

У реконструктивній хірургії некротизуючих інфекційних процесів м'яких тканин тканинні імплантати використовуються одночасно в якості локальних систем доставки протимікробних препаратів (антибіотиків, сульфадіазину срібла, наноксидів металів) у зону ушкодження [4–8]. У практиці хірургічної стоматології подібні мікроволокнисті матеріали, виготовлені методом електроспінінгу, ще не знайшли широкого застосування. Сам електроспінінг як метод є дороговартісним та енергоємним. На даний час залишаються актуальними більш дешевий та безпечний метод синтезу волокнистих матриксів та застосування імпрегнованих антибіотиками таких матриксних імплантатів у хірургічній стоматології.

Метою дослідження було вивчити морфологічну структуру та антибіотикосорбуючу

здатність тривимірних нетканинних матриксів для реконструкції дефектів кісткової тканини, які ми створили.

Матеріали і методи. У роботі використано зразки тривимірних мікроволокнистих нетканинних матриксів для реконструкції дефектів кісткової тканини, виготовлених за розробленою нами методикою із полікапролактону. При цьому діаметр мікроволокон у волокнистому скаффолді сягав від 1 до 10 мкм. В якості контролю використовували фрагменти колагену. Морфологічний аналіз структури мікроволокон проводили під світловим мікроскопом Leica DME. Цифрові копії оптичного зображення ділянок мікроскопічних препаратів мікроволокон отримували за допомогою цифрової фотокамери Nikon Coolpix 4500 при використанні різних об'єктивів мікроскопа ($\times 4$, $\times 10$, $\times 20$), при фіксованому освітленні та відповідно до збільшення об'єктива звууженій апертурній діафрагмі. В подальшому цифрові копії зображення аналізували за допомогою комп'ютерної програми Image Tool 3.0 for Windows (вільна ліцензія). Виготовлений нами мікроволокнистий каркас та колагенові подушечки розділяли на фрагменти і стерилізували g-випромінюванням. Імпрегнацію зразків матриксів здійснювали в асептичних умовах шляхом нанесення на них мікропіпеткою розчинів антибіотиків («Цефазолін» у кінцевій дозі 30 мкг і «Лінкоміцин» – 10 мкг) із наступним висушуванням у сухожировій шафі при температурі не більше 30 °С. Дозу антибіотиків для імпрегнації у зразки матриксних матеріалів встановлювали із урахуванням чутливості до даних препаратів сенсорної мікробної культури. У дослідженні використано препарати «Цефазолін» (Борщівський ХФЗ, Україна) і «Лінкоміцину гідро-хлорид» (Фармацевтична фірма «Дарниця», Україна).

Усі зразки були розділені на 3 серії, які зберігали упродовж 3 тижнів у різних умовах: при кімнатній температурі, при кімнатній температурі у темноті та в темноті у холодильнику при температурі +4 °С. Додаткову серію зразків із внесеними в них антибіотиками висушуванню не піддавали і досліджували в 1-й день у вологому вигляді. На 1-й, 3-й, 5-й, 7-й, 14-й, 18-й і 21-й дні експерименту із кожної серії відбирали зразки для мікробіологічних досліджень.

Уміст антибіотиків у зразках матриксних матеріалів та їх вивільнення в навколишнє середовище за допомогою біологічного тесту.

В якості біосенсора використано культуру чутливого до вказаних антибіотиків клінічного штаму *S. aureus*, ідентифікованого на основі морфологічних, та комплексу морфологічних і культуральних властивостей згідно з рекомендаціями 9-го видання «Визначника бактерій Берджі» [9] та біохімічних мікротестів «СТАРНУtest 16» (Lachema, Чехія).

Відібрані у відповідні терміни зразки поміщали на поверхню поживного агару, попередньо засіяного тест-культурою *S. aureus* (стандартизованою за оптичним стандартом мутності 5×10^5 КУО/мл). Після культивування в термостаті при температурі 37°C упродовж 18 год визначали діаметри зон затримки росту тест-культур. Одержували цифрові зображення посівів на чашках, оброблення яких здійснювали за допомогою комп'ютерної програми UTHSCSA ImageTool 2.0 (The University of Texas Health Science Center in San Antonio, ©1995–1996) [10].

З метою кількісної оцінки вивільнення антибіотика, імпрегнованого в матриксний матеріал, використано метод серійних розведень у бульйоні. Дослідження виконували при наступних термінах зберігання зразків – 1, 5, 7, 14 і 21 дні. Зразок матриксу з імпрегнованим антибіотиком поміщали у пробірку

з 2,0 мл поживного бульйону. Елюцію антибіотика здійснювали на шейкері MR-1 (SIA BIOSAN, Латвія) при частоті перемішування 20 разів/хв упродовж 10 хв при кімнатній температурі. Далі готували двократні серійні розведення елюенту в стерильному поживному бульйоні. В усі пробірки вносили по 10 мкл тест-культури *S. aureus*, стандартизованої за оптичним стандартом мутності 5×10^7 КУО/мл. Після інкубації в термостаті при температурі 37°C упродовж 18 год візуально оцінювали появу ознак росту мікроорганізмів і визначали експериментальне значення МПК. За відношенням експериментального МПК до реального МПК для тест-культури вираховували кратність зниження дози антибіотика, вивільненої із зразка матриксу при різних термінах його зберігання.

Результати експериментів обробляли методами варіаційної статистики й одно- та двофакторним дисперсійним аналізом (ANOVA).

Результати досліджень та їх обговорення. Як показують результати морфологічних досліджень усі біополімерні мікрОВОлокна за своєю мікроструктурою умовно можна поділити на певні типи, які в тій чи іншій кількості були наявні в усіх мікрОВОлокнистих каркасах (рис. 1).

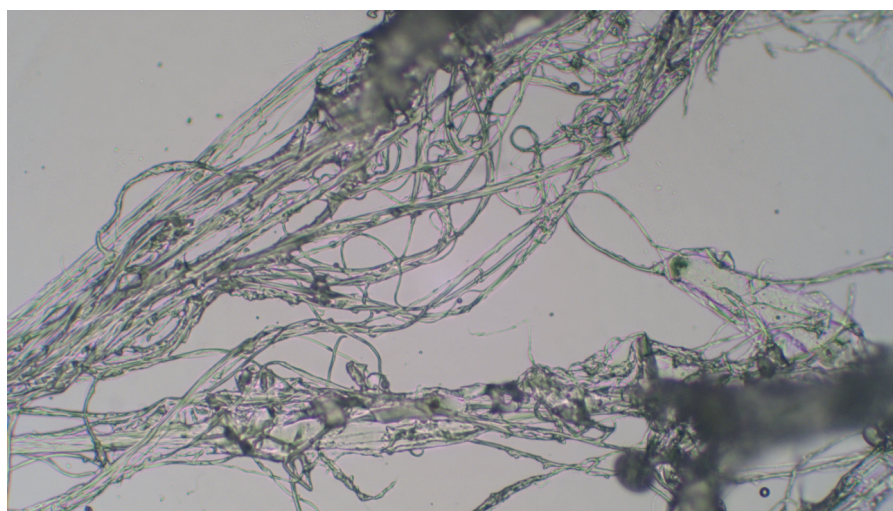


Рис.1. МікрОВОлокна із повздовжнім розташуванням. Зб.: ок. 20, об. 20.

При оцінці морфології самих мікрОВОлокон у всіх зразках були виявлені окремі або групи волокон правильної циліндричної форми з веретеноподібними дефектами. Переважна більшість мікрОВОлокон розташовувалась повздовжньо, на окремих ділянках переплітаючись між собою. Більша частина волокон мала деякі відгалуження у вигляді більш тонких

прямих організованих груп мікрОВОлокон, а також у вигляді густого переплетення сітчастих глобул.

Окрім повздовжнього типу відмічались також мікрОВОлокна іншого, так званого павутинного типу. МікрОВОлокна із чітко організованим зіркоподібним розташуванням в поєднанні з їхньою широкою основою утво-

рювали своєрідну трабекулярну структуру каркасу. Структура волокон не змінювалась як посередині довжини волокна, так і в точці їхнього прикріплення, на відміну від широ-

ких волокон, де ширина по центру волокна була меншою за ширину в точках його прикріплення до основи (рис. 2).

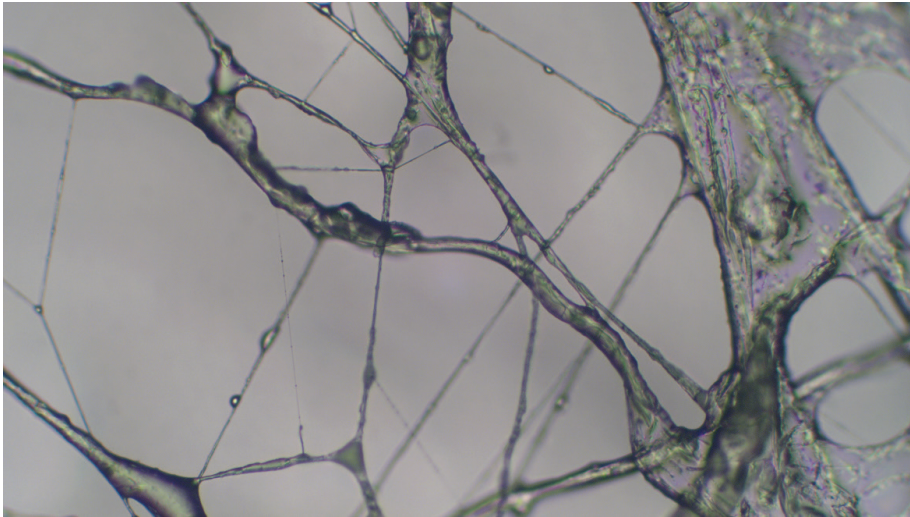


Рис. 2. Знімок трабекулярної будови мікрОВОЛОКОН. Зб.: ок. 20, об. 20.

В інших зразках виявлений ще один тип чіткої повздожньої організації мікрОВОЛОКОН, але він носив характер зібраних в джгути

повздожніх мікроструктур, а саме характер розгорнутої сітки із однаковими мікрОВОЛОКОНАМИ по всій довжині (рис. 3).

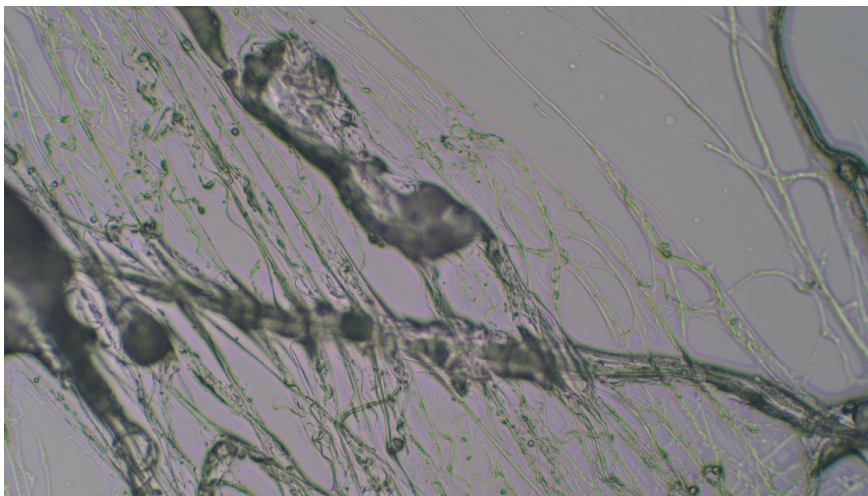


Рис. 3. Знімок організованої повздожньої будови мікрОВОЛОКОН. Зб.: ок. 20, об. 20.

Після морфологічного аналізу нетканинного біополімерного матриксу переходили до мікробіологічних тестів на ефект їхньої гідрофільності, або оцінки їхньої сорбційної здатності. Для оцінки збереження антибіотиків у зразках матриксних матеріалів та можливості їх вивільнення в активному стані у навколишнє середовище використано найбільш доступний і достатньо чутливий біологічний тест [1]. В якості біосенсора використано культуру чутливого до вказаних антибіотиків клінічного штаму *S. aureus*. Використаний у досліджен-

ні тест-штам перевірено на чутливість до цефазоліну і лінкоміцину дискодифузійним методом (диски HiMedia, Індія) і методом серійних розведень в бульйоні відповідно до рекомендацій EUCAST 2019 (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) [3]. Значення діаметрів зон пригнічення росту тест культури становили для цефазоліну (CZ 30 мкг) $(29,96 \pm 0,14)$ мм, лінкоміцину (L 10 мкг) – $(29,60 \pm 0,17)$ мм.

Методом двократних серійних розведень в бульйоні встановлено значення мінімальних

пригнічуючих концентрацій (МПК) цефазоліну – 0,234 мкг/мл, лінкоміцину – 0,039 мкг/мл. Вказаний штамп *S. aureus* відповідно до критеріїв EUCAST 2019 [11] є високочутливим до обох протимікробних препаратів.

Із урахуванням одержаних результатів чутливості тест-штаму *S. aureus* було визначено кінцеві дози антибіотиків для імпрегнації у зразки матеріалів. Експериментальним способом встановлено, що сорбційні властивості матриксних матеріалів здатні утримувати без втрат об'єм води, який відповідає їх масі (1:1, m/v). Зразки матриксних матеріалів було розділено на фрагменти масою 15,0 мг, які за площею поверхні відповідали стандартним

паперовим диском для тестування антибіотикочутливості. Антибіотики («Цефазолін» і «Лінкоміцин») попередньо розводили стерильним ізотонічним розчином до необхідних робочих концентрацій. Цефазолін вносили в кінцевій дозі 30 мкг на зразок у вигляді розчину, об'ємом 6 мкл. Лінкоміцин вносили в кінцевій дозі 10 мкг на зразок у вигляді розчину.

На 1-й день експерименту досліджували вміст антибіотиків у зразках матриксних матеріалів негайно після нанесення на них розчинів та після висушування зразків упродовж 60 хв. На активність цефазоліну процедура висушування зразків (як колагенових, так і полікапронових) абсолютно не впливала (табл. 1).

Таблиця 1. Вміст антибіотиків у зразках матриксних матеріалів до і після процедури висушування (діаметри зон затримки росту тест-культури *S. aureus*, мм)

Антибіотик	Колаген		Полікапрон	
	до висушування	після висушування	до висушування	після висушування
Цефазолін, 30 мкг	28,91±0,25	29,02±0,44	27,23±0,41	27,78±0,46
Лінкоміцин, 10 мкг	29,64±0,43	29,29±0,47	30,11±0,54	27,31±0,75*

Примітка. * – $p < 0,05$ порівняно зі зразками до і після висушування.

Активність лінкоміцину в процесі висушування не змінилася лише у випадку імпрегнації антибіотика в колагеновий матрикс. На полікапролактоновому матриксі після висушування спостерігалось незначне зниження активності лінкоміцину.

Оцінку збереження антибіотиків у зразках матриксних матеріалів виконували на 1-й, 3-й, 5-й, 7-й, 14-й, 18-й і 21-й дні експерименту. Одержані експериментальні дані свідчать, що обидва використані препарати (і «Цефазолін», і «Лінкоміцин») в істотних кількостях зберігалися як в колагеновому, так і в полікапролактоновому матриксах (рис. 4) упродовж усього терміну спостереження. Про це свідчить формування виразних, зіставимих за розмірами зон пригнічення росту тест-культури золотистого стафілокока.

Протимікробна активність імпрегнованих цефазоліном зразків полікапролактонового матриксу утримувалася на початковому рівні впродовж 3 днів, колагенового матриксу – впродовж 5 днів. Після 7 днів зберігання при кімнатній температурі на колагеновому матриксі активність імпрегнованого цефазоліну знизилася на 9,0 % ($p < 0,05$), на полікапролактоновому – на 16,4 % ($p < 0,05$). Зниження активності цефазоліну, імпрегнованого в колагено-

вий матрикс, продовжувалося до 14-го дня спостереження (воно сягнуло 20,7 %, $p < 0,01$), але у більш віддалені терміни зберігання зразків (на 18–21-й дні) вже припинилося. В ці ж терміни спостерігали прогресуюче зниження активності цефазоліну, імпрегнованого в полікапролактоновий матрикс. На кінець періоду спостереження (після 21-го дня зберігання) діаметр зони затримки росту тест-культури зменшився на 35,2 % ($p < 0,01$).

Протимікробна активність зразків матриксів, імпрегнованих лінкоміцином, знижувалася в процесі їх зберігання у більш стрімкому темпі. На 7-й день спостереження діаметри зон пригнічення росту тест-культури *S. aureus* навколо зразків колагенового матриксу зменшилася на 21,4 %, полікапролактонового – на 39,8 % ($p < 0,01$). Прогресуюче зниження активності лінкоміцину, імпрегнованого в колагеновий матрикс, продовжувалося до кінця терміну спостереження (21 день) і досягнуло 37,6 % ($p < 0,01$).

Вплив часу зберігання зразків матриксних матеріалів на протимікробну активність, імпрегнованих у них антибіотиків, підтвердився в ході статистичного оброблення одержаних експериментальних даних методом однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA) (табл. 2). Для усіх досліджених зразків матриксних

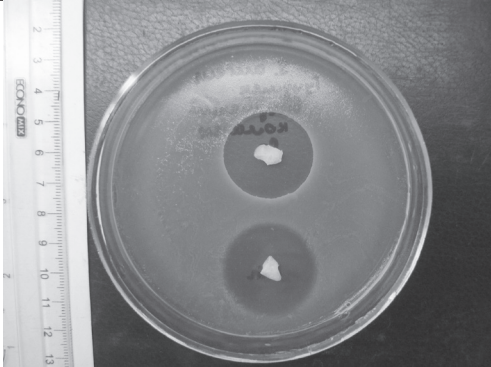
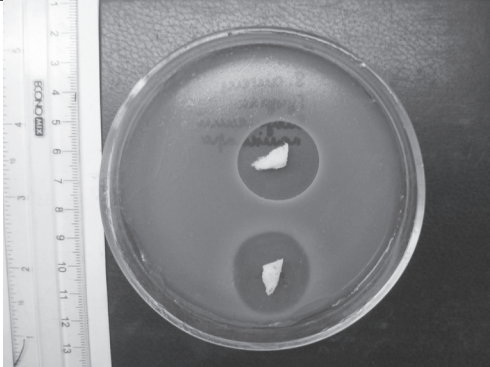
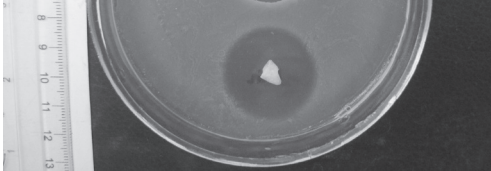
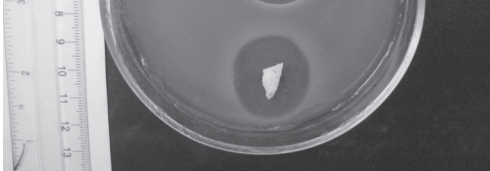
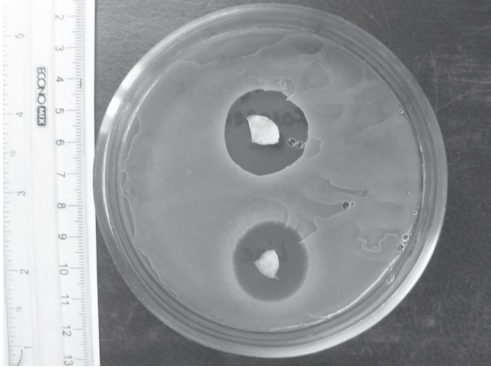
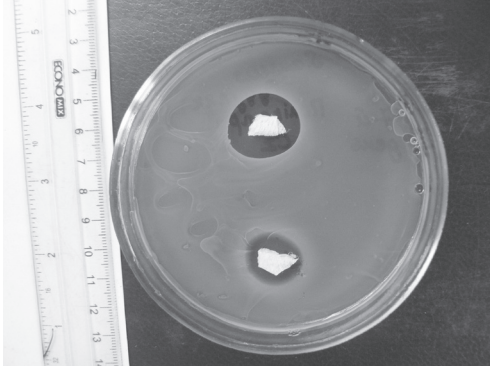
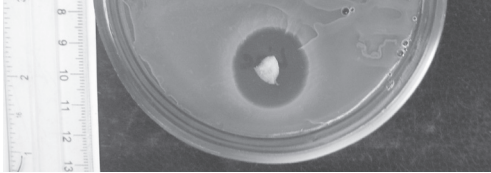
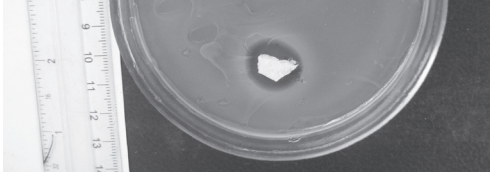
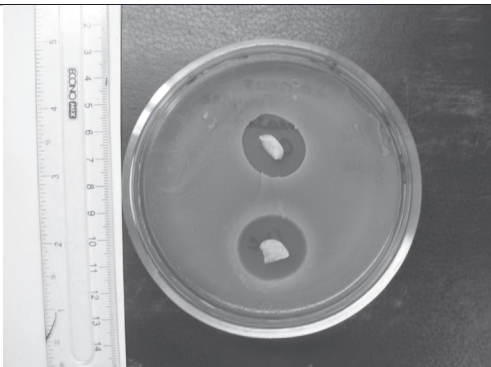
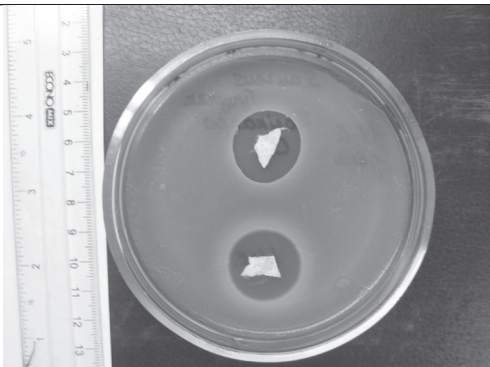
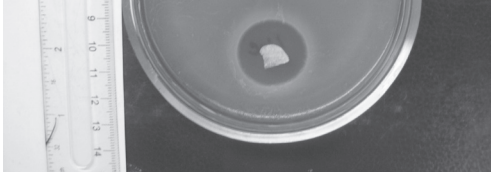
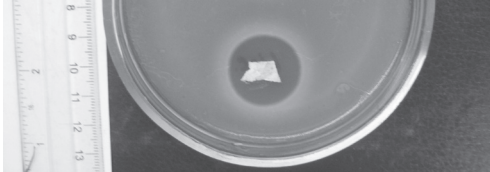
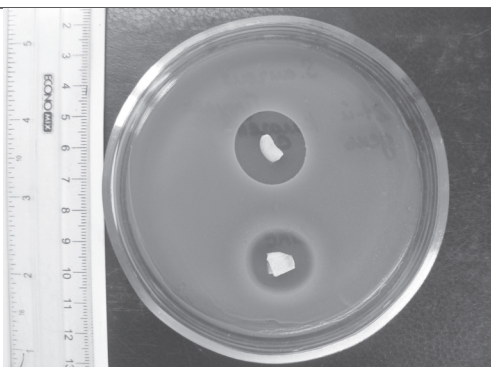
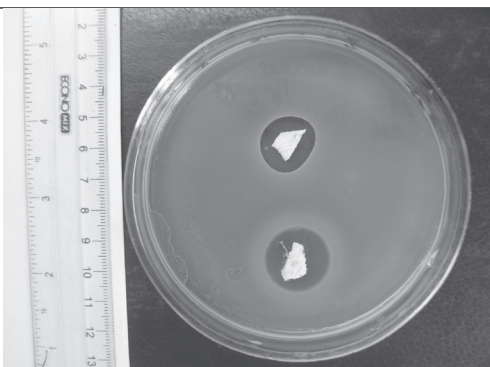
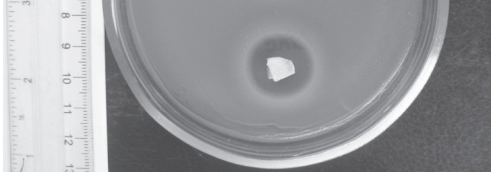
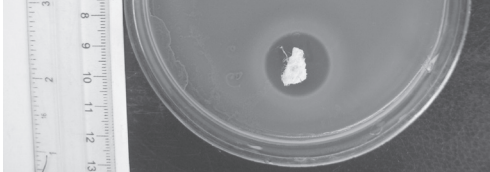
Термін зберігання	Колаген	Полікапролактон
1 день Цефазолін		
Лінкоміцин		
7 днів Цефазолін		
Лінкоміцин		
14 днів Цефазолін		
Лінкоміцин		
21 день Цефазолін		
Лінкоміцин		

Рис. 4. Вміст антибіотиків у зразках матриксних матеріалів при різних термінах їх зберігання при кімнатній температурі.

Таблиця 2. Однофакторний дисперсійний аналіз (ANOVA) впливу термінів зберігання зразків матриксних матеріалів на протимікробну активність імпрегнованих в них антибіотиків

Досліджуваний зразок	Критерій Фішера F	Значення P	F критичне
Колаген + Цефазолін	26,57 417	0,000 239	4,747 225
Полікапрон + Цефазолін	18,75 035	0,000 978	4,747 225
Колаген + Лінкоміцин	19,66 946	0,000 814	4,747 225
Полікапрон +Лінкоміцин	12,81 067	0,003 788	4,747 225

матеріалів зниження активності імпрегнованих антибіотиків у процесі зберігання упродовж 3 тижнів було статистично достовірним.

Більш точним методом, який дозволяє встановити концентрацію антибіотика в досліджуваному зразку, є метод серійних розведень в бульйоні. Цей метод також дозволяє

оцінити вивільнення антибіотика, імпрегнованого в матриксний матеріал, у рідке середовище, що оточує імплантат. В ході проведеного дослідження оцінювали кратність зниження дози антибіотика, вивільненої із зразка матриксу при різних термінах його зберігання (рис. 5).

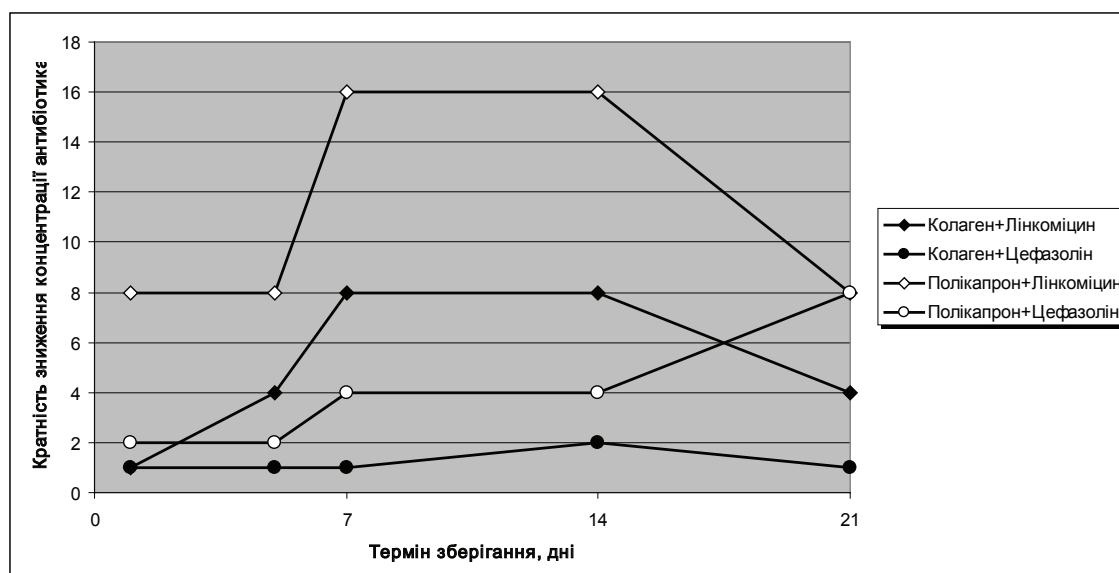


Рис. 5. Кратність зниження концентрації антибіотика в елюенті досліджуваних матриксів після різних термінів їх зберігання при кімнатній температурі.

Найбільш вираженим у процесі зберігання було зниження концентрації лінкоміцину, імпрегнованого в полікапролактоновий матрикс. У елюенті відповідних зразків уже після 1–5 днів зберігання вона знизилася у 8 разів, а після 7–14 днів – у 16 разів відносно початкового рівня ($F=27,0938$; $F>F_{\text{крит.}}=5,3177$; $p=0,0008$). Концентрація цефазоліну, імпрегнованого в полікапролактоновий матрикс, також достовірно знижувалася ($F=7,5000$; $F>F_{\text{крит.}}=5,3177$; $p=0,0255$), але в менш стрімкому темпі: упродовж 14 днів зберігання не більше ніж в 4 рази, через 21 день – у 8 разів. Колагеновий матрикс проявив здатність утримувати імпрегновані антибіотики більш ефективно, ніж полікапролактоновий. Проте активність

лінкоміцину, імпрегнованого в колаген, з часом також достовірно знижувалася ($F=8,8889$; $F>F_{\text{крит.}}=5,3177$; $p=0,0176$), особливо після зберігання зразків упродовж 7–14 днів – у 8 разів.

Найбільшу стабільність в процесі зберігання виявили зразки колагенового матриксу з імпрегнованим цефазоліном, що цілком узгоджується з результатами, отриманими при дослідженні методом дифузії в агар. Упродовж усього періоду спостереження концентрація цефазоліну в елюенті зразків колагенового матриксу зберігалася на незмінному початковому рівні. В даному випадку достовірного впливу часу зберігання на активність антибіотика не встановлено ($F=1,0000$; $F<F_{\text{крит.}}=5,3177$; $p=0,3466$).

Таким чином, імпрегнований у полімерні матрикси лінкоміцин характеризується меншою стабільністю в процесі зберігання, ніж цефазолін. Антибіотики, імпрегновані у колагеновий матрикс, зберігаються дещо краще, ніж при імпрегнації у полікапролактон, що пов'язано із меншим діаметром пор у колагені й відповідно краще вираженим капілярним ефектом. Проте тієї концентрації антибіотика, яка утримувалась на полікапролактоновому матриксі цілком достатньо для вираженого протимікробного ефекту на початкових термінах регенерації тканин. Концентрації антибіотиків в елюенті досліджуваних зразків максимально наближались до контрольних значень при зберіганні імпрегнованих матриксних матеріалів упродовж терміну не більше 5 днів.

Описаний нами метод дозволив оцінити вивільнення антибіотика, імпрегнованого у зразок в гелеве середовище. Воно відбувається за рахунок переходу антибіотика у розчинну фазу за умов достатньої вологості й подальшої дифузії в агарозний гель. Цей процес імітує події, які відбуваються після імплантації матриксу в тканини і насичення його тканинною рідиною. За законами дифузії імпрегнований препарат надходить в навколишні тканини. Але елюція антибіотика доволі швидко припиняється у зв'язку із швидким зниженням градієнта концентрації. Її тривалість залежить від дози антибіотика, імпрегнованого у матриксний матеріал. Уточнення цього питання може бути предметом додаткового експериментального дослідження.

©А. В. Пантус

Ивано-Франковский национальный медицинский университет

Морфологическое и микробиологическое обоснование антибиотикосорбирующей способности синтезированных биополимерных микроволокон

Резюме. В настоящее время в медицине прослеживается новое направление, которое включает сочетание волокнистых материалов с лечебными средствами как система доставки лекарств или живых клеток. В связи с этим в реконструктивной хирургии сформировалось новое направление – тканевая инженерия, целью которой является восстановление биологических функций, то есть регенерация ткани, а не только замещение ее синтетическим материалом.

Цель исследования – изучить морфологическую структуру и антибиотикосорбирующую способность созданных нами трехмерных нетканевых матриксов для реконструкции дефектов костной ткани.

Материалы и методы. В работе использованы образцы трехмерных микроволокнистых нетканевых матриксов для реконструкции дефектов костной ткани, изготовленных по разра-

Висновки. Розроблені нами матриксні матеріали є засобом одноразового локального надходження препарату в тканини у зоні ушкодження. Враховуючи викладені міркування, можна прогнозувати їх найбільшу ефективність в плані профілактики післяопераційних інфекційних ускладнень. Це особливо актуально у хірургічній стоматології, оскільки навіть суворе дотримання правил асептики не може забезпечити потрапляння поодиноких мікробних клітин із поверхні слизової оболонки ротової порожнини та слини в ділянку хірургічного втручання. Негайний контакт мікробних клітин із елюйованим з імплантованого матриксу антибіотиком зумовлює їх швидку загибель і унеможлиблює реалізацію їх інвазивного потенціалу. Патогенна і умовно-патогенна оральна мікрофлора представлена в основному стрептококами, стафілококами та актиноміцетами, які здебільшого характеризуються високою чутливістю до цефалоспоринів і лінкозамідів (що й зумовило вибір протимікробних препаратів для даної розробки).

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження можуть бути спрямовані на вивчення клінічної ефективності імплантів із розроблених матриксних матеріалів, імпрегнованих антибіотиками. Потребує уточнення тривалість елюції імпрегнованих антибіотиків з різних матриксних матеріалів. Питанням далекої перспективи може бути розробка і вивчення нових матриксних матеріалів, здатних забезпечувати пролонговане вивільнення антибіотиків у тканини в ділянці їх інфекційного ураження.

ботанной нами методике с поликапролактона. В качестве контроля использовали фрагменты коллагена.

Результаты исследований и их обсуждения. Оценку сохранения антибиотиков в образцах матричных материалов проводили на 1-й, 3-й, 5-й, 7-й, 14-й, 18-й и 21-й дни эксперимента. Полученные экспериментальные данные свидетельствуют, что оба использованы препарата (и «Цефазолин», и «Линкомицин») в достаточном количестве хранились как в коллагеновых, так и в поликапролактоновому матриксах в течение всего срока наблюдения.

Выводы. Разработанные нами матричные материалы являются средством одноразовой локальной доставки препарата в ткани в зоне повреждения. Это особенно актуально в хирургической стоматологии, поскольку даже строгое соблюдение правил асептики не может обеспечить попадания отдельных микробных клеток с поверхности слизистой оболочки ротовой полости и слюны в зону хирургического вмешательства.

Ключевые слова: матричные материалы; коллаген; поликапролактон; импрегнация антибиотиками; цефазолин; линкомицин.

©A.V. Pantus

Ivano-Frankivsk National Medical University

Morphological and microbiological substantiation of antibioticsorbent capacity of synthesized biopolymer microfibers

Summary. Combinations of fibrous materials with therapeutic agents as a drug delivery system are currently studied. A new direction has appeared in reconstructive surgery – tissue engineering, which aims to restore biological functions, i.e. tissue regeneration, not only to replace it with synthetic material.

The aim of the study – to evaluate the antibiotic-sorbing ability of the three-dimensional non-woven matrices we created for reconstructing bone defects.

Materials and Methods. The study was conducted with using the samples of three-dimensional microfibrillar non-woven matrix for the defects' reconstruction of the bone tissue made of polycaprolactone according to the developed technique. Collagen fragments were used as control.

Results and Discussion. The evaluation of the preservation of antibiotics in samples of matrix materials was performed on the 1st, 3rd, 5th, 7th, 14th, 18th and 21st day of the experiment. The obtained experimental data indicate that both drugs (cefazolin and lincomycin) were stored in significant quantities both in the collagen and polycaprolactone matrix, throughout the entire observation period.

Conclusions. The developed matrix materials are a means of a one-time local delivery of the drug to tissues in the damaged zone. This is especially relevant in surgical dentistry, since even strict adherence to aseptic rules cannot ensure that individual microbial cells from the surface of the oral mucosa and saliva get into the surgery area.

Key words: matrix materials; collagen; polycaprolactone; impregnation with antibiotics; cefazolin; lincomycin.

Список літератури

1. Sharma A. Regenerative materials for surgical reconstruction: current spectrum of materials and a proposed method for classification / A. Sharma, W.A. Faubion, A.B. Dietz // Mayo Clin Proc. – 2019. – Vol. 94 (10). – P. 2099–2116.
2. Khotimchenko Yu. S. Biocompatible matrix implants from natural and synthetic polymers as promising products intended for treatment of degenerative and post-injury diseases of central nervous system / Yu.S. Khotimchenko, A.V.Shcheblyikina, V.V. Kumeiko // Pacific Medical Journal. – 2012. – Vol. 2. – P. 54–60.
3. Conway J. Cell matrix adhesion in cell migration / J. Conway, G. Jacquemet // Essays in Biochemistry. – 2019. – Vol. 63 (5). – EBC20190012.
4. Local antibiotic delivery systems: current and future applications for diabetic foot infections / K. Markakis, A. R. Faris, H. Sharaf [et al.] // Int. J. Lower Extremity Wounds. – 2018. – Vol. 17 (1). – P. 14–21.
5. Marson B. A. A systematic review of local antibiotic devices used to improve wound healing following the surgical management of foot infections in diabetics / B. A. Marson, S. R. Deshmukh, D. J. C. Grindlay // Bone Joint Journal. – 2008. – Vol. 100 B (11). – P. 1409–1415.
6. The release kinetics, antimicrobial activity and cytocompatibility of differently prepared collagen/hydroxyapatite/vancomycin layers: microstructure vs. nanostructure / T. Suchý, M. Šupová, E. Klapková [et al.] // Eur. J. Pharm. Sci. – 2017. – Vol. 100. – P. 219–229.
7. The possibility of using fibrin-based collagen as an antibiotic delivery system / J. Nishimura, K. Nakajima, Y. Souma [et al.] // Surgery Today. – 2013. – Vol. 43 (2). – P. 185–190.

8. Gentamicin-impregnated collagen sponge: effectiveness in preventing sternal wound infection in high-risk cardiac surgery / F. Rapetto, V.D. Bruno, G. Guida [et al.] // *Drug Target Insights*. – 2016. – Vol. 10 (Suppl.1). – P. 9–13.
9. *Bergey's manual of determinative bacteriology* / J. G. Holt, N. R. Krieg, P. H. A. Sneath [et al.]. – 9th ed. – Baltimore: Lippincott, Williams &Wilkins; 2000.

REFERENCES

1. Sharma, A., Faubion, W.A., & Dietz, A.B. (2019). Regenerative materials for surgical Reconstruction: current spectrum of materials and a proposed method for classification. *Mayo Clin. Proc.*, 94 (10), 2099-2116.
2. Khotimchenko, Yu.S., Shchablyikina, A.V., & Kumeiko, V.V. (2012). Biocompatible matrix implants from natural and synthetic polymers as promising products intended for treatment of degenerative and post-injury diseases of central nervous system. *Pacific Medical Journal*, 2, 54-60.
3. Conway, J., & Jacquemet, G. (2019). Cell matrix adhesion in cell migration. *Essays in Biochemistry*, 63 (5), EBC20190012.
4. Markakis, K., Faris, A.R., Sharaf, H., Barzo Faris, Rees, S., & Bowling, F.L. (2018). Local antibiotic delivery systems: current and future applications for diabetic foot infections. *Int. J. Lower Extremity Wounds*, 17 (1), 14-21.
5. Marson, B.A., Deshmukh, S.R., Grindlay, D.J.C., Ollivere, B.J., & Scammell, B.E. (2008). A systematic review of local antibiotic devices used to improve wound healing following the surgical management of foot infections in diabetics. *Bone Joint Journal*, 100-B (11), 1409-1415.

10. UTHSCSA ImageTool 2.0, The University of Texas Health Science Center in San Antonio, ©1995-1996. – Access mode: <http://ddsdx.uthscsa.edu> (accessed 03 Jan 2020).
11. EUCAST Clinical breakpoints – bacteria (v 9.0) (1 Jan, 2019). Available at http://www.eucast.org/clinical_breakpoints (accessed 03 Jan 2020).

6. Suchý, T., Šupová, M., & Klapková, E. (2017). The release kinetics, antimicrobial activity and cytocompatibility of differently prepared collagen/hydroxyapatite/vancomycin layers: microstructure vs. nanostructure. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 100, 219-229.
7. Nishimura, J., Nakajima, K., & Souma, Y. (2013). The possibility of using fibrin-based collagen as an antibiotic delivery system. *Surgery Today*, 43 (2), 185-190.
8. Rapetto, F., Bruno, V.D., Guida, G., Marsico, R., Chivasso, P., & Zebele, C. (2016). Gentamicin-impregnated collagen sponge: effectiveness in preventing sternal wound infection in high-risk cardiac surgery. *Drug Target Insights* 10 (1), 9-13.
9. Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., & Williams, S.T. (Eds.). (2000). *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 9th ed. Baltimore: Lippincott, Williams &Wilkins.
10. UTHSCSA ImageTool 2.0. The University of Texas Health Science Center in San Antonio, ©1995-1996. Retrieved from: <http://ddsdx.uthscsa.edu> (accessed 03 Jan 2020).
11. EUCAST Clinical breakpoints – bacteria (v 9.0) (1 Jan, 2019). Retrieved from: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints (accessed 03 Jan 2020).