

полимерам, используемым для модификации поверхности медико-биологических изделий, предъявляется еще ряд требований: био- и гемосовместимость, отсутствие цитотоксического эффекта. Этим требованиям по всем параметрам удовлетворяют хитозан и карбоксиметил целлюлоза натрия.

Получение мультислоев на поверхности имплантатов проводили с использованием 0,01 М растворов полиэлектrolитов низкомолекулярного хитозана ($M_w=50-190$ kDa) и карбоксиметилцеллюлозы натрия ($M_w=700$ kDa) (фирмы Sigma Aldrich). Каждый полиэлектrolит последовательно адсорбировался на поверхности имплантата в течение 10 мин. Каждый этап осаждения сопровождается промывкой буферным раствором при определенном значении pH (буферные растворы pH 4,0 и 9,18 (ГОСТ 8,135-2004)). После осаждения каждого полиэлектrolита на субстрат поверхность сушится в потоке воздуха при комнатной температуре для усиления адсорбции полиэлектrolитов, общая схема получения представлена (Фиг. 1).

Длительность контакта имплантатов в организме предполагает прочного сцепления мультислоев с основой имплантата. В связи с этим, дальнейшим этапом получения мультислоев является сшивка полислоев в растворе 1% глутаральдегида, который способствует образованию поперечных сшивок в полиэлектrolитах. Так как глутаральдегид является летучим соединением опыты проводят с его охлажденным раствором и под вытяжным шкафом, время контакта 10-12 часов с последующей промывкой дистиллированной водой. Сшивка объясняется тем, что две реакционноспособные альдегидные группы глутаральдегида позволяют сшивать молекулы хитозана и карбоксиметилцеллюлозы с помощью ковалентных связей, вытесняя атомы водорода (Фиг. 2). После связывания полиэлектrolитов между собой глутаральдегидом мультислои становятся более однородными (Фиг. 3).

Для связывания биологически активных соединений, полученные вышеописанным способом мультислойные пленки погружаются в раствор антибактериального агента (хлоргексидин), с концентрацией 0,05 М в воде при pH= 2-3 в течение 36-40 ч. Предполагается, что молекулы хлоргексидина адсорбируются не только на поверхности, но и в межслойных пространствах, тем самым увеличивая длительное пролонгирующее действие.

Определение антимикробной активности титановых и стальных имплантатов с антибактериальными покрытиями основано на их способности угнетать рост микроорганизмов. Для

подтверждения антимикробной активности полученных образцов проведены микробиологические исследования *in vitro* (Фиг. 4). В качестве тест-культур использовали: *Esherichia coli* ATCC25922 (ATCC - Американская коллекция типовых культур), *S.Aureus* ATCC29213, *K.pneumonia* ATCC700603 и *Pseudomonas aeruginosa*. Определение проводили методом диффузии в агар-агар на плотной питательной среде путем сравнения размеров зон угнетения роста тест-микробов, образующихся при испытании растворов определенных концентраций. В стерильные чашки Петри наливали по 20 мл питательного агара. Толщина агарового слоя влияет на результаты определения, поэтому строго соблюдали указанное количество питательной среды. В качестве питательных сред применяли среду Мюллера-Хинтона и Сабуро агар. Для получения газонов приготовили гомогенную суспензию бактериальных клеток в физиологическом растворе, соответствующую стандарту 0,5 ЕД мутности по МакФарланду. Бактериальную взвесь нанесли стерильным тампоном на поверхность агара в трех различных направлениях. Через 5-10 мин. после инокулирования на подсыхшую поверхность агара нанесли имплантаты с антимикробными свойствами. Чашки в течение 30 мин. оставляли при комнатной температуре, а затем, не переворачивая, инкубировали в термостате при температуре 28-37°C 24-48 ч. до 5 сут. Зоны угнетения микробного роста измеряли миллиметровой линейкой. Было задействовано 13 образцов имплантатов и контрольный образец.

Результаты антимикробной активности образцов (Таблица 1) показали, что все образцы имели противобактериальный эффект в отношении музейного штамма *Esherichia coli* ATCC25922 (опыт 1), *S.Aureus* ATCC29213 (опыт 2), *K.pneumonia* ATCC700603 (опыт 3) и дикого штамма *P. Aeruginosa* (опыт 4); при этом наиболее действующим (с большей зоной задержки роста бактерии) на изучаемые музейные и дикие штаммы бактерии оказались пластины с хлоргексидином, проявив хорошую чувствительность к *S.Aureus* ATCC29213, *K.pneumonia* ATCC700603 и дикого штамма *P. aeruginosa*; далее противобактериальным действием обладали образцы с $AgNO_3$. Антибактериальная активность имплантатов с хлоргексидином показали смещение зоны до 20 мм., что значительно выше, чем показывали контрольные антибактериальные агенты ($AgNO_3$ и KI). ингибировав рост *S.Aureus* ATCC29213, *K.pneumonia* ATCC700603 и дикого штамма *P. aeruginosa* (Фиг. 5).

Таблица 1

Изучение антимикробной активности методом диффузии

Исследуемый материал	Зона задержки роста, мм			
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>K. pneumonia</i>	<i>Paeruginosa</i>
	ATCC25922	ATCC29213	ATCC700603	