

Оценка бактерицидных свойств керамических покрытий на основе титана и циркония, сформированных методом магнетронного напыления

Аннотация

Определены бактерицидные свойства ряда перспективных керамических покрытий, сформированных методом магнетронного напыления, в отношении наиболее частых возбудителей острых гнойных воспалений и хирургических осложнений. Оценены перспективы использования синтезированных покрытий в изделиях медицинского назначения.

Введение

Актуальной научной задачей в профилактике и лечении инфекций, связанных с применением изделий специального назначения, является обоснование выбора защитных керамических покрытий, предотвращающих бактериальную адгезию и колонизацию микробными возбудителями, а также их пролиферацию в окружающие ткани; кроме того, такие покрытия должны обладать высокой адгезионной прочностью к материалу подложки и коррозионной стойкостью.

Следует отметить, что на сегодняшний день наиболее распространенным инертным керамическим материалом для стоматологических, ортопедических имплантатов и эндопротезов является стабилизированный оксид циркония, который получают преимущественно методом высокотемпературного спекания порошков. Однако существующие методы стабилизации оксида циркония (оксидом иттрия), получения стабильного композиционного порошка, синтеза керамики, механической обработки являются трудоемкими и дорогостоящими, что делает рациональным переход на экономные металлические материалы с функциональными покрытиями [1], [2].

С точки зрения фундаментальных подходов к сложной комплексной проблеме разработки многофункциональных керамических покрытий для медицины, целесообразно поэтапно решать материаловедческие, технологические и биомиметические задачи. Группа специалистов в областях материаловедения, медицины и биологии должна объединить усилия, чтобы исследовать особенности процессов взаимодействия бактерий и живых организмов с поверхностью медицинского изделия [3]–[8].

Перспективным направлением является развитие новых подходов к разработке технологий при получении покрытий. Прогресс в данной области приведет к созданию нового поколения бактерицидных биокерамических материалов и покрытий, которые успешно могут быть использованы как для ортопедических имплантатов, эндопротезов, так и для медицинских инструментов, что особенно важно в условиях перехода Российской Федерации на отечественные технологии (импортозамещение).

На сегодняшний день нет единого представления о том, какими параметрами должна обладать идеальная поверхность медицинского изделия. Отсутствуют также конкретные требования к структуре и эксплуатационным свойствам покрытий [8], [9]. Следует отметить, что разработка покрытий затруднена необходимостью процедуры аттестации, что усложняет возможность ухода от сертифицированных импортных технологий.

Специалистами НИЦ «Курчатовский институт» – ЦНИИ КМ «Прометей» проводятся исследования по созданию научно-технического задела в области биоматериалов и технологий для медицины [10], [11]. В данных работах описываются технологические подходы к получению композитных материалов, функциональных и функционально-градиентных покрытий на их основе для решения актуальных медицинских проблем. В частности, на основании технологических решений [12]–[14] авторами для проведения биологических испытаний

выделено несколько типов перспективных керамических тонкослойных покрытий, сформированных методом магнетронного напыления в газовых средах.

Цель рассматриваемой работы – определение бактерицидных свойств керамических покрытий, сформированных методом магнетронного напыления, в отношении к наиболее частым возбудителям острых гнойных воспалений и хирургических осложнений.

Объект и методика исследований

В рассматриваемой работе керамические покрытия наносились методом магнетронного напыления. Метод основан на испарении металлического материала катода в катодно-анодной сборке вакуумной установки и последующем осаждении его на металлическую подложку. В зависимости от состава плазмообразующего и реакционного газов в рабочей камере на подложке могут быть получены функциональные покрытия как из чистых металлов, так и из тугоплавких неметаллических соединений на основе карбидов, нитридов и оксидов металлов.

Нанесение покрытий осуществлялось на установке магнетронного напыления «Магна ТМ 5».

В качестве металлической подложки использован материал хирургического инструмента – сталь 12Х18Н10Т. Методом магнетронного напыления на подложках сформированы три типа перспективных керамических покрытий на основе:

- оксинитрида титана (желтый цвет);
- оксида титана (зеленый цвет);
- нитрида циркония («соломенный» цвет).

Для проведения бактериологических исследований использовали четыре вида бактерий: стафилококк эпидермальный (*Staphylococcus epidermidis*), стафилококк золотистый (*Staphylococcus aureus*), кишечная палочка (*Escherichia coli*), синегнойная палочка (*Pseudomonas aeruginosa*) – в концентрации $10^3 \dots 10^4$ микробных клеток в 1 мл 0,9%-ного раствора хлорида натрия. В 5 мл исходной микробной суспензии помещали тестируемый образец стандартного размера и инкубировали при температуре 37 °С. Через 0,5; 1; 2; 3 и 4 ч переносили пипеткой 50 мкл суспензии в пробирки с 5 мл 0,9%-ного раствора хлорида натрия. Содержимое пробирок перемешивали на вортексе для равномерного распределения микроорганизмов в объеме, далее делали высев 100 мкл содержимого флаконов на чашки с Мюллер-Хинтон агаром. Чашки инкубировали в термостате при 35 °С в течение 24 ч, после чего подсчитывали количество колоний, выросших на чашках (КОЕ). О количестве погибших бактерий судили по отношению (в процентах) к количеству бактерий в исходной взвеси бактерий в течение всего периода наблюдения.

Для повторного испытания покрытия его обеззараживали протиранием спиртом (95 % мас.) с последующим прожиганием и автоклавированием при 2 атм в течение 20 мин. Общее количество обработок – 12 раз.

Результаты исследований

Толщина формируемых магнетронным напылением покрытий составила порядка 3...7 мкм. Сплошность покрытий со-

ставила 100 %, открытая пористость – не более 1 %, на поверхности прослеживается антибликовый эффект. Адгезия керамического слоя к подложке – 50 МПа.

Следует отметить, что коррозионного повреждения рассматриваемых в работе покрытий по результатам испытаний не обнаружено. Результаты биологических исследований оформлены в виде графиков (рис. 1-4).

Испытания покрытий во взвеси *S. epidermidis* свидетельствуют о высокой бактерицидной активности покрытий на основе оксинитрида титана и нитрида циркония, что проявлялось в более чем двукратном снижении количества микробных клеток в течение первого часа контакта. Следует отметить, что бактерицидность покрытий не зависела от многократной обработки для обеззараживания хирургических инструментов.

В отношении *S.aureus* экспериментально установлено, что бактерицидный эффект покрытия на основе оксинитрида ти-

тана проявлялся уже в течение первых 30...60 мин. Однако отмечалось некоторое замедление действия после десятикратной обработки. Выраженный бактерицидный эффект покрытия из оксида титана, установленный при первичном исследовании в течение первых 30 мин, после обработки образцов также значительно замедлялся и достигал условного уровня через 3 ч контакта с бактериями, в то время как активность покрытия из нитрида циркония, наоборот, увеличивалась после обработки.

При воздействии на взвесь *E.coli* были установлены различные эффекты тестируемых образцов покрытий. В частности, выявлена бактерицидная активность покрытия из оксинитрида титана после контакта с бактериями в течение 1...3 ч, причем наблюдалась некоторая тенденция к уменьшению срока появления этого эффекта по мере увеличения количества обработок. Покрытие из оксида титана через 3...4 ч контакта стимулировали рост кишечных палочек или задерживали их гибель.

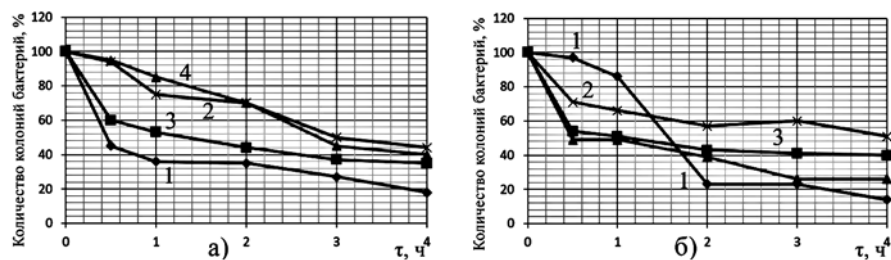


Рис. 1. Изменение количества колоний бактерий на поверхности титана без покрытия (контрольные образцы): а) разовая обработка; б) десятикратная обработка. Виды бактерий: 1 – стафилококк эпидермальный; 2 – стафилококк золотистый; 3 – кишечная палочка; 4 – синегнойная палочка

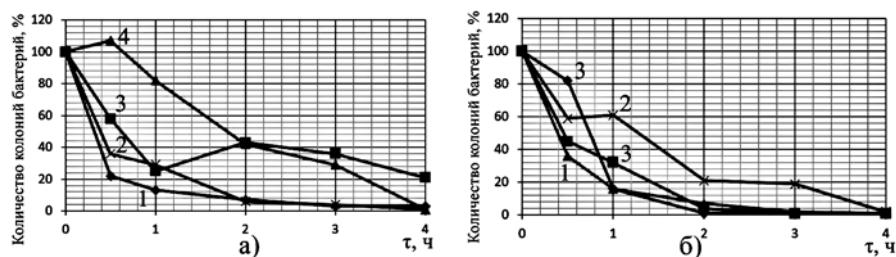


Рис. 2. Изменение количества колоний бактерий на поверхности покрытия из оксинитрида титана: а) разовая обработка; б) десятикратная обработка. Виды бактерий: 1 – стафилококк эпидермальный; 2 – стафилококк золотистый; 3 – кишечная палочка; 4 – синегнойная палочка

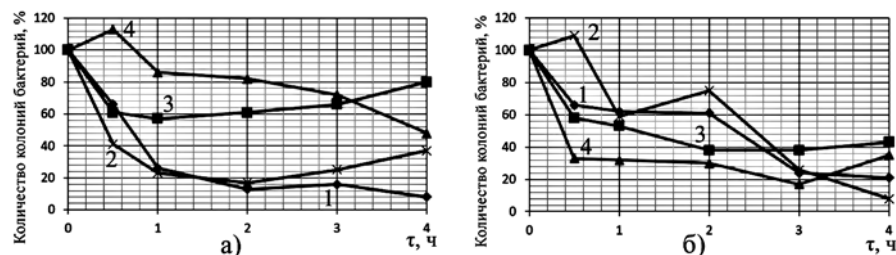


Рис. 3. Изменение количества колоний бактерий на поверхности покрытия из оксида титана: а) разовая обработка; б) десятикратная обработка. Виды бактерий: 1 – стафилококк эпидермальный; 2 – стафилококк золотистый; 3 – кишечная палочка; 4 – синегнойная палочка

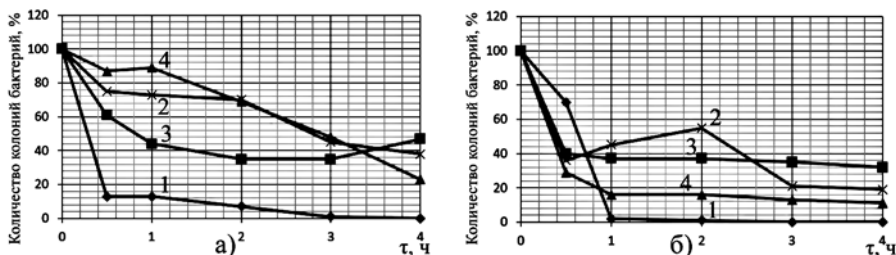


Рис. 4. Изменение количества колоний бактерий на поверхности покрытия из нитрида циркония: а) разовая обработка; б) десятикратная обработка. Виды бактерий: 1 – стафилококк эпидермальный; 2 – стафилококк золотистый; 3 – кишечная палочка; 4 – синегнойная палочка

Покрытие из оксинитрида титана также продемонстрировало бактерицидную активность в отношении *P. Aeruginosa*. При этом выявленное уменьшение времени обнаружения этого эффекта с 2...4 до 1 ч по мере увеличения количества обработок покрытия для обеззараживания хирургических инструментов свидетельствует об увеличении бактерицидной активности. Примерно такое же влияние на данный вид бактерий оказывает покрытие из нитрида циркония.

Практические исследования показали, что в зависимости от задаваемого парциального давления смеси газов при магнетронном напылении возможно регулировать в широком диапазоне цветовую гамму синтезируемых из оксинитрида титана покрытий. Можно наблюдать, что с увеличением содержания кислорода (смещение стехиометрии оксинитрида по кислороду) материал покрытия изменяет цветовую гамму в широком диапазоне от желтого до синего цвета. Данный факт может быть полезен при эксплуатации покрытий в медицинских инструментах, которые в процессе использования могут быть разделены медиками на функциональные группы в соответствии с цветовой гаммой.

Результаты исследований подтверждены актами испытаний ВНИИ пульмонологии Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Выводы

1. Покрытие из оксинитрида титана обладает бактерицидным эффектом в отношении стафилококков, который обнаруживался через 30...60 мин контакта с бактериями и практически не изменялся в процессе обработки покрытий. Бактерицидный эффект этого покрытия в отношении грамотрицательных бактерий был значительно слабее и наблюдался лишь при длительном контакте, но несколько усиливался после многократной обработки образцов антисептиками. Данное покрытие может быть рекомендовано авторами для использования в изделиях медицинского назначения.

2. Покрытие из оксида титана характеризуется нестабильным действием в отношении стафилококков, что ограничивает эффективность использования данного материала как бактерицидного.

3. Покрытие из нитрида циркония эффективно в отношении эпидермального стафилококка, но значительно слабее действует на золотистый стафилококк. Практически не влияет на сохранение кишечной палочки. Бактерицидное действие в отношении синегнойной палочки отчетливо усиливается после обработки покрытий обычным комплексом способов, принятым при обеззараживании хирургических инструментов.

Список литературы:

1. Kannan S., Balamurugan A., Rajeswari S., Subbaiyan M. Metallic Implants – An Approach for Long Term Applications in Bone Related Defects // *Corrosion Reviews*. 2002. Vol. 20 (4-5). PP. 339-358
2. Chevalier J., Gremillard L., Deville S. Low-temperature degradation of zirconia and implications for biomedical implants // *Annual Review of Materials Research*. 2007. Vol. 37 (1). PP. 1-32.
3. Pruzansky J.S., Bronson M.J., Grelsamer R.P. et al. Prevalence of modifiable surgical site infection risk factors in hip and knee joint arthroplasty patients at an urban academic hospital // *J. Arthroplasty*. 2014. Vol. 29. № 2. PP. 272-276.
4. Иголкин А.И. Титан в медицине // *Титан*. 1993. № 1. С. 86.
5. Foster T.J., Geoghegan J.A., Ganesh V.K., Hook M. Adhesion, invasion and evasion: The many functions of the surface proteins of *Staphylococcus aureus* // *Nature Reviews Microbiology*. 2014. № 12. PP. 49-62.
6. Jackson M.J., Ahmad W. Surface Engineered Surgical Tools and Medical Devices. – NY: Springer, 2007. P. 581.
7. Cats-Baril W., Gehrke T., Huff K., Kendoff D., Maltenfort M., Parvizi J. International consensus on periprosthetic joint

infection: Description of the consensus process // *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 2013. № 471. PP. 4065-4075.

8. Kaali P., Stromberg E., Karlsson S. Prevention of biofilm associated infections and degradation of polymeric materials used in biomedical applications. – *Biomedical Engineering, Trends in Materials Science*. Edit. A. Laskovski. Rijeka (Croatia). In: Tech Europe. 2011. PP. 513-540.
9. Егоров А.А., Дровосеков М.Н., Аронов А.М., Рожнова О.М., Егорова О.П. Сравнительная характеристика материалов, применяемых в стоматологической имплантации // *Бюллетень сибирской медицины*. 2014. Т. 13. № 6. С. 41-47.
10. Горынин И.В., Орыщенко А.С., Фармаковский Б.В., Васильева О.В., Васильев А.Ф., Виноградова Т.С., Ешиметьева Е.Н., Мухамедзянова Л.В., Самоделкин Е.А., Кузнецов П.А. Биотехнологические исследования, проводимые в научном нанотехнологическом центре ФГУП ЦНИИ КМ «Прометей» // *Вопросы материаловедения*. 2016. № 3. С. 82-96.
11. Горынин И.В., Орыщенко А.С., Фармаковский Б.В., Кузнецов П.А. Перспективные исследования и разработки научного нанотехнологического центра ФГУП «ЦНИИ КМ «Прометей» в области новых наноматериалов // *Вопросы материаловедения*. 2014. № 2 (78). С. 118-127.
12. Быстров Р.Ю., Беляков А.Н., Васильев А.Ф., Геращенко Д.А., Геращенко Е.Ю., Барковская Е.Н., Коркина М.А., Самоделкин Е.А., Фармаковский Б.В. Получение композиционного катода для магнетронного напыления функциональных покрытий // *Вопросы материаловедения*. 2018. № 1 (93). С. 76-81.
13. Быстров Р.Ю., Беляков А.Н., Тараканова Т.А., Коркина М.А., Васильев А.Ф., Ешиметьева Е.Н., Шолкина М.Н., Фармаковская А.Я. Способ получения многослойного градиентного покрытия методом магнетронного напыления / Патент RU № 2551331. 20.05.2015.
14. Васильев А.Ф., Тараканова Т.А., Коркина М.А., Боримский В.А., Прудников И.С., Фармаковский Б.В., Быстров Р.Ю., Бережко А.И. Способ получения наноструктурированного градиентного оксидного покрытия из каталитического материала методом магнетронного напыления / Патент RU № 2428516. 10.09.2011.

Алексей Филиппович Васильев,
начальник лаборатории,
Михаил Александрович Марков,
канд. техн. наук, ст. научный сотрудник,
Марина Евгеньевна Фаустова,
пенсионер,
Екатерина Николаевна Барковская,
инженер 1 категории,
Алексей Владимирович Красиков,
канд. хим. наук, зам. начальника
научно-исследовательского отдела,
Антон Николаевич Беляков,
инженер 2 категории,
НИЦ «Курчатовский институт» –
ЦНИИ КМ «Прометей»,
Светлана Анатольевна Божкова,
д-р мед. наук, зав. научным отделением
профилактики и лечения раневой инфекции
и отделением клинической фармакологии,
ФГБУ «РНИИТО им. Р.Р. Вредена
Минздрава России»,
Алина Дмитриевна Быкова,
инженер, аспирант,
НИЦ «Курчатовский институт» –
ЦНИИ КМ «Прометей»,
г. С.-Петербург,
e-mail: bykova.ad@gmail.com