

Оценка оригинального герметизирующего покрытия с антибактериальным эффектом для синтетических сосудистых протезов

Для корреспонденции:

Алдар Андреевич Шаданов,
shadanovaldar@mail.ru

Поступила в редакцию 14 ноября 2022 г.

Исправлена 15 декабря 2022 г.

Принята к печати 19 декабря 2022 г.

Цитировать: Шаданов А.А., Журавлева И.Ю., Самойлова Л.М., Тимченко Т.П., Владимиров С.В., Карпова Е.В., Лучников Н.Е., Сирота Д.А., Едемский А.Г., Богачев-Прокофьев А.В., Чернявский А.М. Оценка оригинального герметизирующего покрытия с антибактериальным эффектом для синтетических сосудистых протезов.

Патология кровообращения и кардиохирургия. 2023;27(1):38-46. <https://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2023-1-38-46>

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда и правительства Новосибирской области (проект № 22-15-20005).

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов

Концепция и дизайн работы: И.Ю. Журавлева, А.А. Шаданов, Д.А. Сирота
Сбор и анализ данных: А.А. Шаданов, Л.М. Самойлова, С.В. Владимиров, Т.П. Тимченко, Н.Е. Лучников, Е.В. Карпова
Статистическая обработка данных: А.А. Шаданов
Написание статьи: А.А. Шаданов, Л.М. Самойлова, Т.П. Тимченко, А.Г. Едемский
Исправление статьи: Д.А. Сирота, И.Ю. Журавлева, А.В. Богачев-Прокофьев, А.М. Чернявский
Утверждение окончательного варианта статьи: все авторы

ORCID

А.А. Шаданов, <https://orcid.org/0000-0002-1176-8125>

И.Ю. Журавлева, <https://orcid.org/0000-0002-1935-4170>

А.А. Шаданов¹, И.Ю. Журавлева¹, Л.М. Самойлова¹, Т.П. Тимченко¹, С.В. Владимиров¹, Е.В. Карпова², Н.Е. Лучников³, Д.А. Сирота¹, А.Г. Едемский¹, А.В. Богачев-Прокофьев¹, А.М. Чернявский¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Новосибирск, Российская Федерация

² Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Российская Федерация

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Новосибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Новосибирск, Российская Федерация

Аннотация

Актуальность. Инфицирование сосудистого протеза является серьезным осложнением в сердечно-сосудистой хирургии, характеризуется тяжелым течением и высокой смертностью. Несмотря на то что антибактериальные покрытия для сосудистых протезов широко распространены, в мире продолжают работы по их улучшению.

Цель. Разработка и экспериментальное изучение свойств герметизирующего покрытия с антимикробным эффектом для синтетических сосудистых протезов из дакрона.

Методы. Использовали 2 типа сосудистых протезов: протез № 1 (полотняный ткацкий раппорт) с исходным уровнем водопроницаемости $78,8 \pm 2,7$ мл/см²/мин, протез № 2 (саржа 2/1 + атлас 6/4) — уровень водопроницаемости $549,8 \pm 20,7$ мл/см²/мин. Разработали оригинальную методику желатиновой пропитки, выполнили сканирующую электронную микроскопию, тесты на водопроницаемость и устойчивость к радиальному перегибу. Антибактериальную активность желатиновой пропитки с ванкомицином оценили диско-диффузионным методом на средах с *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 и *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 путем измерения зон задержки роста микроорганизмов после 24-часовой инкубации. Для этого использовали образцы, выкроенные из протезов с пропиткой, содержащей ванкомицин (опытная группа) и не содержащей ванкомицин (контрольная группа).

Результаты. Желатиновое покрытие на образцах визуализируется в виде тонкой ровной пленки и обеспечивает нулевую водопроницаемость. Негативным эффектом является увеличение

Л.М. Самойлова, <https://orcid.org/0000-0003-3273-3498>
Т.П. Тимченко, <https://orcid.org/0000-0002-1812-2845>
С.В. Владимиров, <https://orcid.org/0000-0002-5902-1442>
Е.В. Карпова, <https://orcid.org/0000-0001-8803-4237>
Н.Е. Лучников, <https://orcid.org/0000-0002-2524-1375>
Д.А. Сирота, <https://orcid.org/0000-0002-9940-3541>
А.Г. Едемский, <https://orcid.org/0000-0002-6661-7826>
А.В. Богачев-Прокофьев, <https://orcid.org/0000-0003-4625-4631>
А.М. Чернявский, <https://orcid.org/0000-0001-9818-8678>

© Шаданов А.А., Журавлева И.Ю., Самойлова Л.М., Тимченко Т.П., Владимиров С.В., Карпова Е.В., Лучников Н.Е., Сирота Д.А., Едемский А.Г., Богачев-Прокофьев А.В., Чернявский А.М., 2023



Введение

Протезы из полиэтилентерефталата (дакрон, полиэстер) используются в хирургии сосудов среднего и большого диаметров более 60 лет и являются эффективными и долговечными [1]. Тканые сосудистые протезы имеют поры различных размеров, способствующие формированию неоинтимы на внутренней поверхности и наружной инкапсуляции соединительной тканью. С другой стороны, такие поры обуславливают и основной недостаток — высокую проницаемость для жидкостей, что может привести к значительной интраоперационной кровопотере через стенку протеза. В конце 50-х и начале 60-х гг. прошлого века предложили два способа преодоления указанного недостатка: предварительную обработку протеза цельной кровью пациента непосредственно перед имплантацией (преклоттинг) либо его пропитку биорезорбируемыми веществами на этапе изготовления.

Преκлоттинг основан на формировании тромботических масс в порах сосудистого протеза. Пропитка сосудистого протеза биорезорбируемыми веществами предложена в 1960 г. [2]. Обычно использовали нецитотоксичные и нетромбогенные материалы белковой природы: коллаген или желатин, позже — альбумин [3–7]. После пропитки протез становится непроницаемым, а последующая резорбция герметизирующего субстрата способствует его биоинтеграции.

Методы преклоттинга и пропитки появились практически одновременно, однако преклоттинг в первое время считался более популярным из-за отсутствия готовых пропитанных протезов, которые стали коммерчески доступными лишь с 1980-х гг.

жесткости и, соответственно, радиуса перегиба. Введение ванкомицина в покрытие привело к значительной задержке роста в культурах микроорганизмов: средний диаметр зоны задержки роста в культуре *Staphylococcus aureus* составил $15,60 \pm 0,65$ мм, в культуре *Enterococcus faecalis* — $14,40 \pm 0,66$ мм. В протезах, не обработанных ванкомицином, не обнаружили зон задержки роста.

Заключение. Обработка желатиновой пропиткой с раствором ванкомицина — простая профилактическая мера для предотвращения роста грамположительных бактерий на материалах сосудистых протезов.

Ключевые слова: водонепроницаемость; желатин; сосудистый протез

Бактериальная инвазия с последующим генерализованным инфекционным процессом — одно из наиболее тяжелых осложнений, сопровождается высоким уровнем летальности. Частота развития инфекций, по различным данным, составляет 1–6 %. В раннем послеоперационном периоде возбудителями в 60–70 % случаев являются грамположительные бактерии (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) [8]. Раннее инфицирование инициирует бактериальная адгезия с последующим формированием бактериальной биопленки на его люминальной поверхности. Эта пленка обладает высокой устойчивостью к иммунной защите реципиента и проникновению антибиотиков, что является основным препятствием для лечения инфекций протеза [9; 10].

В связи с этим рекомендована дополнительная обработка протезов антибактериальными агентами, для чего использовали ионы серебра, триклозан и, конечно, антибиотики [11–13]. Наиболее предпочтительным был рифампицин [11; 14]. Его использовали как в составе пропитки, так и для замачивания протезов перед имплантацией. Однако уже доказана высокая цитотоксичность рифампицина в отношении всех типов клеток — эндотелиальных, гладкомышечных, фибробластов.

Для данного исследования выбрали ванкомицин, обладающий наиболее низкой цитотоксичностью [11].

Цель — разработка и экспериментальное изучение свойств герметизирующего покрытия с антимикробным эффектом для синтетических сосудистых протезов из дакрона.

Методы

1. Технология нанесения герметизирующего покрытия

Материалы. Использовали два типа тканых гофрированных сосудистых протезов (Республиканское инновационное унитарное предприятие «Научно-технологический парк БНТУ “Политехник”», Минск, Беларусь), различающихся ткацким раппортом:

- 1) полотняное переплетение — раппорт утка и основы представлены как 2/2 ($Ry/Ro = 2/2$);
- 2) сложное переплетение — саржевое 2/1 в комбинации с атласным 6/4.

Реактивы:

- раствор для внутривенных инфузий «Гелофузин» 4 % (B. Braun SE, Мельзунген, Германия);
- желатин типа В из кожи крупного рогатого скота № G9391 (Sigma-Aldrich, Сент-Луис, США);
- изопропиловый спирт (АО «Вектон», Санкт-Петербург, Россия);
- глицерин 99–101 % (PanReac – AppliChem, ITW Reagents, Барселона, Испания);
- глутаровый альдегид 25 % (PanReac – AppliChem, ITW Reagents, Барселона, Испания).

Приготовление раствора для герметизирующей пропитки. На первом этапе готовили 8%-й раствор желатина типа В из кожи крупного рогатого скота № G9391 (Sigma-Aldrich, Сент-Луис, США), заливая дистиллированной водой. Тщательно перемешивали при температуре окружающей среды (24–26 °C) в течение 10–15 мин, после чего помещали в термостат при 37 °C в течение 24 ч для набухания. Затем к раствору добавляли сукцинированный желатин «Гелофузин» 4 % для внутривенных инфузий (B. Braun SE, Мельзунген, Германия) в коли-

честве, необходимом для получения 6%-го раствора желатина, используемого для пропитки.

Технология герметизирующей обработки сосудистых протезов. Отмывали образцы в 3%-м растворе перекиси водорода и подвергали низкотемпературной стерилизации в этиленоксиде (стерилизатор 3M Steri-Vac 8XL, ООО «Стерипро», Москва, Россия), после чего каждый образец фиксировали на специальные площадки для расправления гофр протеза, а затем загружали в контейнер, содержащий 750 мл раствора желатина.

Для деаэрации контейнер подключали к вакуумному насосу (750 мм рт. ст.) и выдерживали при низком вакууме в течение 30 мин. Для формирования гелеобразной желатиновой пленки протезы экспонировали 30 мин в герметизирующем растворе, после чего высушивали в течение 24 ч в асептических условиях ламинарной зоны (5 по классификации Международной организации по стандартизации (англ. International Organization for Standardization, ISO — ИСО) при температуре окружающей среды.

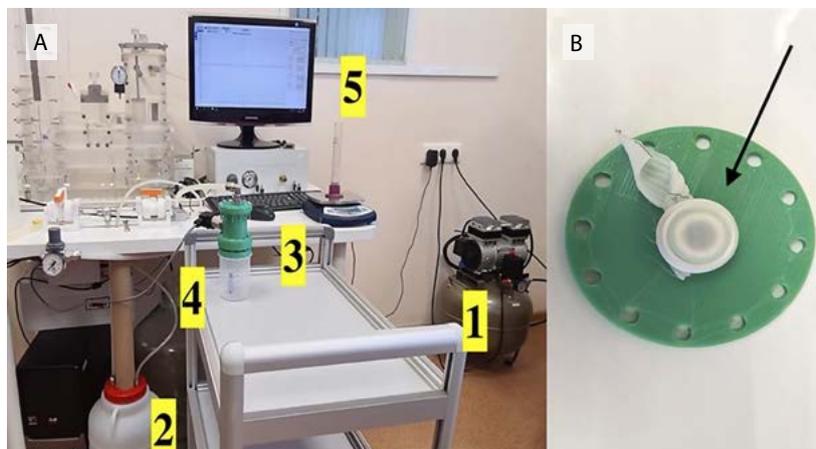
Высушенные образцы погружали для химической сшивки желатина на 8 ч в раствор глутарового альдегида 0,02 %, глицерина 15 % и изопропилового спирта 75 %, приготовленный на стерильной дистиллированной воде. После завершения сшивки протезы промывали пятикратно по 7 мин в 15%-м растворе глицерина на дистиллированной воде, а затем высушивали в асептических условиях при температуре окружающей среды.

Исследование проницаемости воды. Проницаемость оценивали по скорости протекания дистиллированной воды через стенку протеза. Испытания проводили при комнатной температуре в специально разработанном устройстве, сконструированном в соответствии с ГОСТ Р ИСО 7198-2013 (рис. 1).

Рис. 1. Устройство для испытания на водопроницаемость: стенд (А); фиксация образца в расправленном состоянии резиновым ободком (указано черной стрелкой) в аперттуру 0,78 см² (В)

Примечание.

- 1 — воздушный компрессор,
- 2 — резервуар для дистиллированной воды,
- 3 — устройство фиксации образца,
- 4 — датчик давления воды BD Sensor DMP 331, установленный в устройство фиксации,
- 5 — информация о давлении на мониторе.



Состав испытательного стенда:

- 1) устройство для оценки проницаемости, включающее в себя датчик давления воды BD Sensor DMP 331, чувствительный в диапазоне 0,0–0,4 бар (ООО «БД СЕНСОРС РУС», Москва, Россия), и устройство фиксации образца;
- 2) блок контроля давления стенда для проверки гидродинамических характеристик протезов клапанов сердца с программным обеспечением (ЗАО НПП «МедИнж», Пенза, Россия);
- 3) безмасляный воздушный компрессор, резервуар (10 л) для дистиллированной воды, соединительные патрубки и вентили, мерная емкость.

Каждый образец после максимального растяжения гофрированных складок герметично фиксировали в устройстве с помощью резиновых прокладок (рис. 1В); площадь поперечного сечения апертуры составляла 0,78 см². Гидростатическое давление в системе постепенно поднимали до постоянного уровня 120 ± 2 мм рт. ст. и контролировали на мониторе стенда. Проходящий через стенку протеза за 1 мин объем жидкости фиксировали с использованием мерной емкости. Тест повторяли пятикратно для каждого образца. После испытаний рассчитывали скорость утечки воды на 1 см² по формуле:

проницаемость для воды = Q/A ,

где Q — скорость потока (мл/мин), A — площадь поперечного сечения апертуры (см²).

Оценка поверхности протезов методом сканирующей электронной микроскопии (СЭМ). Для оценки равномерности распределения герметизи-

рующего агента на поверхности протезов выполняли СЭМ на аппарате FlexSEM 1000 (Hitachi High-Tech, Токио, Япония) в Новосибирском институте органической химии им. Н.Н. Ворожцова. Образцы фиксировали двусторонним углеродным скотчем к предметному столику.

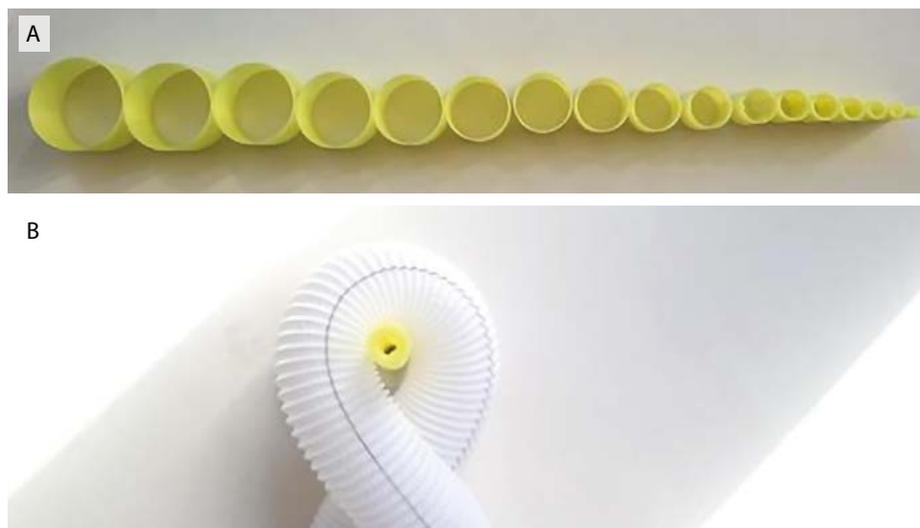
Определение радиального перегиба. Измеряли перегиб с помощью цилиндрических калибров радиусом от 4,0 до 42,5 мм с шагом 1,5 мм (рис. 2А). Формировали петлю из испытуемых образцов, внутрь которой помещали цилиндрический калибр максимального диаметра, и затягивали концы протеза в противоположных направлениях для уменьшения петли (рис. 2В) с последующей заменой на калибр меньшего диаметра, повторяя испытания до появления перегиба или деформации, уменьшающей просвет. Радиусом перегиба считали размер калибра, при использовании которого появлялся перегиб или деформация протеза.

2. Исследование антибактериальной эффективности покрытия, содержащего ванкомицин

Использовали негофрированные сосудистые протезы с полотняным переплетением ткацким раппортом $Ry/Ro = 2/2$ (Республиканское инновационное унитарное предприятие «Научно-технологический парк БНТУ «Политехник»», Минск, Беларусь).

Антибактериальная модификация герметизирующего раствора. В качестве антибактериального агента использовали раствор ванкомицина (ООО «Фармконцепт», Москва, Россия) с концентрацией 0,1 г/мл в стерильной дистиллированной воде для инъекций, приготовленный в стерильных условиях в соответствии с инструкциями производителя.

Рис. 2. Определение радиуса перегиба: цилиндрические калибры радиусом от 4,0 до 42,5 мм с шагом 1,5 мм (А); формирование петли протеза № 1, диаметр цилиндрического калибра 8 мм (радиус 4 мм) (В)



Изменение физико-технических показателей протезов после нанесения герметизирующего покрытия

Протез	До пропитки	Пропитка желатином 6 %		Пропитка желатином 6 % и ванкомицином
		Проницаемость для воды, мл/см ² /мин		
№ 1	78,8 ± 2,7	0	0	0
№ 2	549,8 ± 20,7	0	0	0
Радиус перегиба, мм				
№ 1	< 4	17	17	17
№ 2	12,5	> 42,5	> 42,5	> 42,5

Для придания антибактериальных свойств герметизирующему раствору желатина на начальном этапе (до помещения в термостат) вводили ванкомицин из расчета 3,3 г/л.

Подготовка образцов. В ходе эксперимента разделили образцы на 2 группы герметизирующей обработки:

- 1) контрольная — желатином;
- 2) опытная — раствором с желатином и ванкомицином.

После герметизирующей обработки из каждого протеза на лазерной установке «МЕЛАЗ-Кардио» (ФГБУН Институт лазерной физики СО РАН, Новосибирск, Россия) вырезали круглые образцы диаметром 5 мм.

Бактериологическое исследование проводили на основе диско-диффузионного метода в соответствии с методическими указаниями «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам». Использовали питательную среду агар Мюллера – Хинтона (Bio-Rad Laboratories, Inc., Геркулес, США) и культуры грамположительных микроорганизмов *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 и *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Для приготовления инокулята использовали метод прямого суспендирования колоний в стерильном изотоническом растворе до плотности 0,5 по стандарту мутности МакФарланда. Суспензию микроорганизмов наносили на поверхность агара Мюллера – Хинтона и затем размещали в каждой чашке Петри 4–6 дисков опытной или контрольной группы. Инкубировали чашки в термостате при температуре 36 °С в течение 24 ч, после чего учитывали результат путем измерения диаметра зоны подавления роста вокруг дисков.

Рис. 3. Сканирующая электронная микроскопия: протез № 1 без ванкомицина (А, В, С); протез № 1 с ванкомицином (D, E, F); протез № 2 без ванкомицина (G, H, I)

Примечание. Шкалы: 1000 мкм — А, D, G; 300 мкм — В, E, H; 100 мкм — С, F, I.

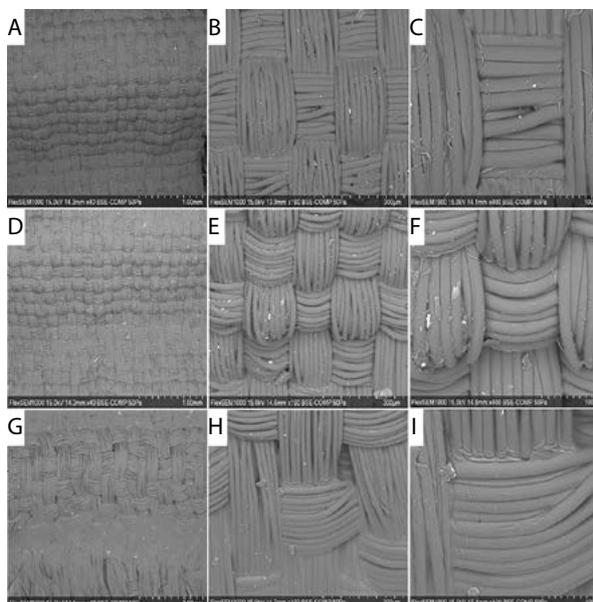
Статистический анализ

Статистическую обработку выполняли в программе Stata 14.0. Нормальность распределения в каждой группе проверяли с использованием критерия Шапиро – Уилка. Количественные данные с нормальным распределением представлены как среднее ± стандартное отклонение.

Результаты

Оценка герметичности покрытия. Несмотря на то что исходная водопроницаемость протеза № 2 со сложным ткацким раппортом была намного выше, непроницаемость для воды после герметизирующей обработки была полной у обоих образцов (*таблица*). При этом введение ванкомицина в раствор не влияло на герметичность.

Результаты СЭМ показали относительно равномерное покрытие поверхности, толщина которого была немного больше в глубине гофр. Межволоконные поры были заполнены желатином (рис. 3).



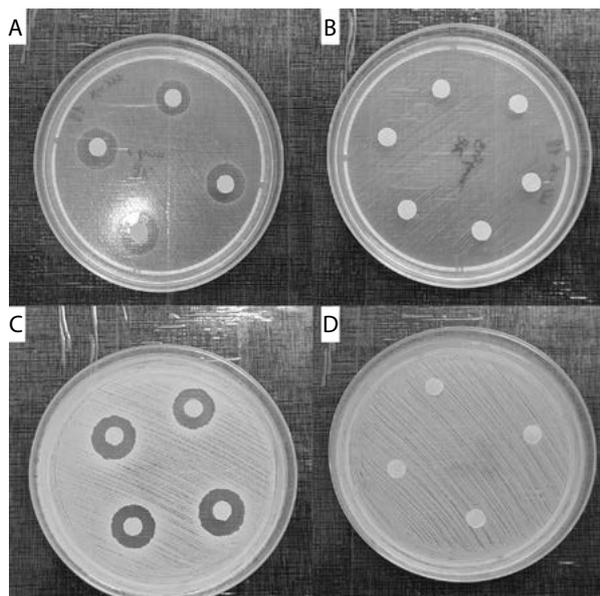


Рис. 4. Эффективность пропитки протеза: чашки инокулированы *Enterococcus faecalis* ATCC 29212; раствор с ванкомицином (А), без ванкомицина (В); чашки инокулированы *Staphylococcus aureus* ATCC 29213; раствор с ванкомицином (С), без ванкомицина (D)

Радиальный перегиб. До пропитывания радиус перегиба протеза № 1 был минимальным — менее 4 мм, протеза № 2 — 12,5 мм. После нанесения герметизирующего покрытия жесткость увеличилась: радиальный перегиб протеза № 1 составил 17 мм, протеза № 2 — более 42,5 мм (таблица).

Антибактериальная эффективность покрытия. Вокруг дисков контрольной группы, пропитанных желатином без ванкомицина, зона подавления роста отсутствовала. В то же время вокруг образцов опытной группы диаметр зоны подавления роста *Staphylococcus aureus* составил $15,60 \pm 0,65$ мм, а зона подавления роста *Enterococcus faecalis* — $14,40 \pm 0,66$ мм (рис. 4).

Обсуждение

Желатин — биосовместимый материал, получаемый в результате разложения коллагена посредством кислотного или щелочного гидролиза. Желатин отличается низкой видовой и тканевой специфичностью и, соответственно, антигенностью, в связи с чем его применяют в качестве плазмозамениителя [15]. Благодаря биоинертным свойствам, а также способности к гелеобразованию, желатин широко используют в биомедицинских продуктах. В частности, желатин применяют для созда-

ния герметизирующего покрытия синтетических сосудистых протезов, используя его способность к образованию аквагелей низкой вязкости, которые после высыхания создают тонкую эластичную пленку на внутренней и наружной поверхностях пористого протеза (Fleckenstein P., Werner H.H. Mit vernetzter Gelatine imprägnierte Gefäßprothese und Verfahren zu ihrer Herstellung. European Patent Office EP0237037. 14 August 1991; Maini R. Vascular grafts. United States patent US 4747848. 31 May 1988).

Однако, если использование желатина в качестве основы герметизирующего покрытия не имеет новизны, то методы создания таких покрытий различаются: каждый производитель применяет оригинальную методику. Все методы объединяют требования к покрытию: оно должно быть эластичным, равномерным по толщине и прочно связанным с поверхностью, не должно отшелушиваться при хранении и интраоперационных манипуляциях с протезом и значительно увеличивать его жесткость. В то же время разнообразие методов обусловлено различием технологических подходов к выполнению этих требований, а также представлений об оптимальной скорости десорбции покрытия и механических свойствах конечного продукта обработки.

Наш метод герметизации обеспечил нулевую порозность всех испытанных тканых сосудистых протезов, несмотря на то что исходный уровень водопроницаемости образца № 2 в 7 раз превышал показатели образца № 1. При исследовании поверхностей методом СЭМ мы выяснили, что покрытия тонки, однородны, равномерны и практически не отличаются от покрытий протеза Gelweave Siena (Terumo Aortic, Инчиннан, Великобритания), который мы считаем лучшим по соотношению герметичности и гибкости [16]. Негативным эффектом герметизирующего покрытия является увеличение радиуса перегиба протеза за счет образования пленки и закрытия пустот между волокнами, однако для протеза № 1 данный показатель имеет вполне приемлемые значения — 17 мм.

Таким образом, мы продемонстрировали состоятельность разработанной технологии герметизации тканых сосудистых протезов с использованием желатина. Вместе с тем для нанесения покрытия нужно выбирать протезы, имеющие минимальный исходный радиус перегиба.

Мы оценили антибактериальную активность покрытия при введении ванкомицина в герметизирующий аквагель. Для описания конкуренции между бактериями и клетками реципиента на поверхностях имплантатов A.G. Gristina использовал термин

race for the surface (гонка за поверхность) [17]. Колонизация протеза клетками ткани приводит к достаточной иммунной защите и усложняет возможную колонизацию бактериями. В целом результат этой «гонки» зависит от поверхности и состава материала имплантата. Таким образом, на бактериальную инвазию сосудистых протезов влияют два основных фактора: природа материала и адгезивные свойства бактерий. Так, например, вязаные дакроновые протезы из-за чрезмерной пористости более подвержены инфицированию, нежели тканые [18]. Грамположительные микроорганизмы наиболее агрессивны и являются причиной раннего инфицирования в большинстве случаев [8]. Именно по этой причине мы использовали в работе штаммы грамположительных бактерий: *Staphylococcus aureus* и *Enterococcus faecalis*.

Выбор антибактериального агента с учетом «гонки за поверхность» также представляет собой нетривиальную задачу. Необходимо, чтобы он, обладая бактерицидным (или выраженным бактериостатическим) действием, был в то же время лишен цитотоксичности. В противном случае заселение внутренней поверхности клетками реципиента будет затруднено. Огромное разнообразие антибиотиков существенно осложняет выбор.

Использование антибиотиков для пропитки сосудистых протезов впервые предложили W.S. Moore и соавт. в 1981 г. [19]. Пропитку можно осуществлять двояко: либо замачивать протез в растворе антибиотика, либо вводить его в состав герметизирующего раствора. В любом случае это обеспечивает немедленную антибактериальную защиту имплантата, однако при замачивании (пассивной адсорбции) депо антибиотика истощается быстро [20]. Если антибиотик связан с основным компонентом герметизирующего покрытия (коллагеном, альбумином, желатином и т. д.), возможно получить его контролируемое и дозированное выделение в кровотоки [21–23], при этом скорость высвобождения зависит от его типа и состава белковой пропитки. Так, J.O. Galdbart и соавт. показали, что герметизирующие покрытия из альбумина и желатина сохраняют депо антибиотиков в течение более длительного периода, по сравнению с коллагеном [22]. При сравнении 6 антибиотиков установили, что наиболее медленно высвобождается из этих покрытий рифампицин.

В течение многих лет наиболее активно использовали рифампицин для пропитки сосудистых протезов. Однако уже доказано, что этот препарат имеет ряд недостатков. Во-первых, он способствует антибиотикорезистентности бактерий, а также не-

эффективен в отношении метициллин-резистентного золотистого стафилококка, что, в свою очередь, ассоциируется с крайне неблагоприятным клиническим исходом [24]. Во-вторых, рифампицин обладает высокой цитотоксичностью [11; 25].

Среди современных антибиотиков, высокоэффективных в отношении грамположительной флоры, наименьшей цитотоксичностью обладает ванкомицин [11; 25]. Кроме того, обработка дакронового протеза биodeградируемым гидрогелем с ванкомицином приводит к значительному ингибированию роста метициллин-резистентного золотистого стафилококка [24].

В связи с этим мы выбрали ванкомицин для введения в герметизирующее покрытие. Оценка антибактериальной активности покрытия диск-диффузионным методом продемонстрировала подавление зоны роста на средах *Staphylococcus aureus* и *Enterococcus faecalis*. Введение ванкомицина в покрытие не повлияло на герметичность протезов, что подтверждается результатами тестирования на водонепроницаемость и устойчивость к радиальному перегибу, а также сканирующей электронной микроскопией.

Заключение

Разработанная методика нанесения желатинового герметизирующего покрытия обеспечивает образование равномерной тонкой пленки на поверхностях синтетических сосудистых протезов и их непроницаемость для воды. Недостаток покрытия — увеличение жесткости и радиуса перегиба протезов, что может быть преодолено использованием образцов с наименьшим исходным радиусом перегиба. Введение ванкомицина в герметизирующее покрытие эффективно подавляет рост культур *Staphylococcus aureus* и *Enterococcus faecalis*.

Список литературы / References

1. Chakfé N., Bizonne S.C., Beaufigeau M., Urban E., Cardon A., Doillon C., Le Magnen J.F., Durand B., Kretz J.G. Impregnated polyester arterial prostheses: performance and prospects. *Ann Vasc Surg.* 1999;13(5):509-523. PMID: 10466995. <https://doi.org/10.1007/s100169900291>
2. Halpert B., De Bakey M.E., Jordan Jr G.L., Henly W.S. The fate of homografts and prostheses of the human aorta. *Surg Gynecol Obstet.* 1960;111:659-674. PMID: 13710927.
3. Humphries A.W., Hawk W.A., Cuthbertson A.M. Arterial prosthesis of collagen-impregnated Dacron tulle. *Surgery.* 1961;50:947-954. PMID: 14449985.
4. Bascom J.U. Gelatin sealing to prevent blood loss from knitted arterial grafts. *Surgery.* 1961;50:504-512. PMID: 13687562.

5. Prager M., Polterauer P., Böhmig H.J., Wagner O., Fögl A., Kretschmer G., Plohner M., Nanobashvili J., Huk I. Collagen versus gelatin-coated Dacron versus stretch polytetrafluoroethylene in abdominal aortic bifurcation graft surgery: Results of a seven-year prospective, randomized multicenter trial. *Surgery*. 2001;130(3):408-414. PMID: 11562661. <https://doi.org/10.1067/msy.2001.115904>
6. Lacroix H., Boel K., Nevelsteen A., Suy R. Early inflammatory response to gelatin- and collagen-sealed Dacron prostheses. *Ann Vasc Surg*. 1995;9(2):152-154. PMID: 7786700. <https://doi.org/10.1007/bf02139657>
7. Domurado D., Thomas D., Brown G. A new method for producing proteic coatings. *J Biomed Mater Res*. 1975;9(1):109-110. PMID: 809444. <https://doi.org/10.1002/jbm.820090110>
8. Wilson W.R., Bower T.C., Creager M.A., Amin-Hanjani S., O'Gara P.T., Lockhart P.B., Darouiche R.O., Ramlawi B., Derdeyn C.P., Bolger A.F., Levison M.E., Taubert K.A., Baltimore R.S., Baddour L.M.; American Heart Association Committee on Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease of the Council on Cardiovascular Disease in the Young; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia; Council on Peripheral Vascular Disease; and Stroke Council. Vascular graft infections, mycotic aneurysms, and endovascular infections: a scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2016;134(20):e412-e460. PMID: 27737955. <https://doi.org/10.1161/cir.0000000000000457>
9. Hall-Stoodley L., Costerton J.W., Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nat Rev Microbiol*. 2004;2(2):95-108. PMID: 15040259. <https://doi.org/10.1038/nrmicro821>
10. Gandelman G., Frishman W.H., Wiese C., Green-Gastwirth V., Hong S., Aronow W.S., Horowitz H.W. Intravascular device infections: epidemiology, diagnosis, and management. *Cardiol Rev*. 2007;15(1):13-23. PMID: 17172879. <https://doi.org/10.1097/01.crd.0000197966.53529.67>
11. Herten M., Idelevich E.A., Sielker S., Becker K., Scherzinger A.S., Osada N., Torsello G.B., Bisdas T. Vascular graft impregnation with antibiotics: the influence of high concentrations of rifampin, vancomycin, daptomycin, and bacteriophage endolysin hy-133 on viability of vascular cells. *Med Sci Monit Basic Res*. 2017;23:250-257. PMID: 28652563; PMCID: PMC5498120. <https://doi.org/10.12659/msmbr.902879>
12. Berard X., Puges M., Pinaquy J.-B., Cazanave C., Stecken L., Bordenave L., Pereyre S., M'Zali F. In vitro evidence of improved antimicrobial efficacy of silver and triclosan containing vascular grafts compared with rifampicin soaked grafts. *Eur J Vasc Endovasc Surg*. 2019;57(3):424-432. PMID: 30301647. <https://doi.org/10.1016/j.ejvs.2018.08.053>
13. Szalapatka K., Osińska-Jaroszuk M., Kapral-Piotrowska J., Pawlikowska-Pawłęga B., Łopucki R., Mroczka R., Jarosz-Wilkolazka A. Serine protease inhibitors — new molecules for modification of polymeric biomaterials. *Biomolecules*. 2020;10(1):82. PMID: 31947983; PMCID: PMC7023003. <https://doi.org/10.3390/biom10010082>
14. Lew W., Moore W. Antibiotic-impregnated grafts for aortic reconstruction. *Semin Vasc Surg*. 2011;24(4):211-219. PMID: 22230676. <https://doi.org/10.1053/j.semvascsurg.2011.10.015>
15. Saw M.M., Chandler B., Ho K.M. Benefits and risks of using gelatin solution as a plasma expander for perioperative and critically ill patients: A meta-analysis. *Anaesth Intensive Care*. 2012;40(1):17-32. PMID: 22313061. <https://doi.org/10.1177/0310057x1204000104>
16. Журавлева И.Ю., Ляшенко М.М., Шаданов А.А., Сирота Д.А., Чернявский А.М. Quo vadimus? Фундаментальные проблемы разработки гибридных протезов грудной аорты. *Ангиология и сосудистая хирургия*. 2021;27(4):103-112. <https://doi.org/10.33529/ANGIO2021412>
Zhuravleva I.Yu., Lyashenko M.M., Shadanov A.A., Sirota D.A., Chernyavskiy A.M. Quo vadimus? Fundamental problems of developing hybrid prostheses of thoracic aorta. *Angiologia i Sosudistaia Khirurgiia = Angiology and Vascular Surgery*. 2021;27(4):103-112. (In Russ.) <https://doi.org/10.33529/ANGIO2021412>
17. Gristina A.G. Biomaterial-centered infection: microbial adhesion versus tissue integration. *Science*. 1987;237(4822):1588-1595. PMID: 3629258. <https://doi.org/10.1126/science.3629258>
18. Schmitt D.D., Bandyk D.F., Pequet A.J., Towne J.B. Bacterial adherence to vascular prostheses. A determinant of graft infectivity. *J Vasc Surg*. 1986;3(5):732-740. PMID: 2939263.
19. Moore W.S., Chvapil M., Seiffert G., Keown K. Development of an infection-resistant vascular prosthesis. *Arch Surg*. 1981;116(11):1403-1407. PMID: 6458258. <https://doi.org/10.1001/archsurg.1981.01380230027004>
20. Zilberman M., Elsner J.J. Antibiotic-eluting medical devices for various applications. *J Control Release*. 2008;130(3):202-215. PMID: 18687500. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.05.020>
21. Chervu A., Moore W.S., Gelabert H.A., Colburn M.D., Chvapil M. Prevention of graft infection by use of prostheses bonded with a rifampin/collagen release system. *J Vasc Surg*. 1991;14(4):521-525. PMID: 1833564. [https://doi.org/10.1016/0741-5214\(91\)90246-Q](https://doi.org/10.1016/0741-5214(91)90246-Q)
22. Galdbart J.O., Branger C., Andreassian B., Lambert-Zechovsky N., Kitzis M. Elution of six antibiotics bonded to polyethylene vascular grafts sealed with three proteins. *J Surg Res*. 1996;66(2):174-178. PMID: 9024831. <https://doi.org/10.1006/jsre.1996.0391>
23. Goëau-Brissonnière O., Lepout C., Bacourt F., Lebrault C., Comte R., Pechère J.C. Prevention of vascular graft infection by rifampin bonding to a gelatin-sealed Dacron graft. *Ann Vasc Surg*. 1991;5(5):408-412. PMID: 1835641. <https://doi.org/10.1007/bf02133043>
24. Morishima M., Marui A., Yanagi S., Nomura T., Nakajima N., Hyon S.-H., Ikeda T., Sakata R. Sustained release of vancomycin from a new biodegradable glue to prevent methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* graft infection. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*. 2010;11(1):52-55. PMID: 20360210. <https://doi.org/10.1510/icvts.2010.232447>
25. Blanchemain N., Laurent T., Chai F., Neut C., Haulon S., Krumpkonalinkova V., Morcellet M., Martel B., Kirkpatrick C.J., Hildebrand H.F. Polyester vascular prostheses coated with a cyclodextrin polymer and activated with antibiotics: cytotoxicity and microbiological evaluation. *Acta Biomater*. 2008;4(6):1725-1733. PMID: 18676187. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2008.07.001>

Evaluation of the original sealant with antibacterial effect for synthetic vascular grafts

Aldar A. Shadanov¹, Irina Yu. Zhuravleva¹, Larisa M. Samoylova¹, Tatyana P. Timchenko¹, Sergey V. Vladimirov¹, Elena V. Karpova², Nikita E. Luchnikov³, Dmitriy A. Sirota¹, Alexander G. Edemskiy¹, Alexander V. Bogachev-Prokofiev¹, Alexander M. Chernyavskiy¹

¹ Meshalkin National Medical Research Center, Ministry of Health of Russian Federation, Novosibirsk, Russian Federation

² N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

³ Novosibirsk State Medical University, Ministry of Health of Russian Federation, Novosibirsk, Russian Federation

Corresponding author: Aldar A. Shadanov, shadanovaldar@mail.ru

Abstract

Background: Vascular graft infection is a severe cardiovascular complication with high mortality rates. Antibacterial vascular graft coatings are widely used and continue to be improved.

Objective: To develop a sealant with antimicrobial effect for Dacron vascular grafts and experimentally test the coating properties.

Methods: We used 2 types of vascular grafts: graft No. 1 (plain weave) with initial water permeability of 78.8 ± 2.7 mL/cm²/min and graft No. 2 (2/1 twill + 6/4 satin weave) with water permeability of 549.8 ± 20.7 mL/cm²/min. We developed an original gelatin impregnation technique, tested it using a scanning electron microscopy, and measured water permeability and kink radius. We evaluated the antibacterial activity of vancomycin and gelatin impregnation by the disk diffusion test using media with *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 and *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 and measured inhibition zones after 24-hour incubation. We used samples cut out of grafts with vancomycin-containing (experimental group) and no vancomycin-containing (control group) impregnation.

Results: The gelatin coating of the samples is visualized as a thin even film and provides zero water permeability. On the negative side, it increased stiffness and the kink radius. Thanks to vancomycin added to the coating, bacterial growth significantly inhibits: the mean diameter of the growth inhibition zone for *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus faecalis* was 15.60 ± 0.65 and 14.40 ± 0.66 mm, respectively. The grafts untreated with vancomycin showed no growth inhibition zones.

Conclusion: Vascular graft treatment with gelatin impregnation and vancomycin solution is a simple measure to prevent the growth of gram-positive bacteria on vascular grafts.

Keywords: Gelatin; Permeability; Polyethylene Terephthalates; Vancomycin

Received 14 November 2022. Revised 15 December 2022. Accepted 19 December 2022.

Funding: The work was supported by Russian Science Foundation and the government of the Novosibirsk region (project No. 22-15-20005).

Conflict of interest: The authors declare no conflict of interest.

Contribution of the authors

Conception and study design: I.Yu. Zhuravleva, A.A. Shadanov, D.A. Sirota

Data collection and analysis: A.A. Shadanov, L.M. Samoylova, S.V. Vladimirov, T.P. Timchenko, N.E. Luchnikov, E.V. Karpova

Statistical analysis: A.A. Shadanov. Drafting the article: A.A. Shadanov, L.M. Samoylova, T.P. Timchenko, A.G. Edemskiy

Critical revision of the article: D.A. Sirota, I.Yu. Zhuravleva, A.V. Bogachev-Prokofiev, A.M. Chernyavskiy

Final approval of the version to be published: A.A. Shadanov, I.Yu. Zhuravleva, L.M. Samoylova, T.P. Timchenko, S.V. Vladimirov, E.V. Karpova, N.E. Luchnikov, D.A. Sirota, A.G. Edemskiy, A.V. Bogachev-Prokofiev, A.M. Chernyavskiy

ORCID

A.A. Shadanov, <https://orcid.org/0000-0002-1176-8125> I.Yu. Zhuravleva, <https://orcid.org/0000-0002-1935-4170>

L.M. Samoylova, <https://orcid.org/0000-0003-3273-3498> T.P. Timchenko, <https://orcid.org/0000-0002-1812-2845>

S.V. Vladimirov, <https://orcid.org/0000-0002-5902-1442> E.V. Karpova, <https://orcid.org/0000-0001-8803-4237>

N.E. Luchnikov, <https://orcid.org/0000-0002-2524-1375> D.A. Sirota, <https://orcid.org/0000-0002-9940-3541>

A.G. Edemskiy, <https://orcid.org/0000-0002-6661-7826> A.V. Bogachev-Prokofiev, <https://orcid.org/0000-0003-4625-4631>

A.M. Chernyavskiy, <https://orcid.org/0000-0001-9818-8678>

Copyright: © 2023 Shadanov et al.

How to cite: Shadanov A.A., Zhuravleva I.Yu., Samoylova L.M., Timchenko T.P., Vladimirov S.V., Karpova E.V., Luchnikov N.E., Sirota D.A., Edemskiy A.G., Bogachev-Prokofiev A.V., Chernyavskiy A.M. Evaluation of the original sealant with antibacterial effect for synthetic vascular grafts. *Patologiya krovoobrashcheniya i kardiokhirurgiya = Circulation Pathology and Cardiac Surgery*. 2023;27(1):38-46. (In Russ.) <https://dx.doi.org/10.21688/1681-3472-2023-1-38-46>

