

ОПИСАНИЕ ПОЛЕЗНОЙ МОДЕЛИ К ПАТЕНТУ

(12)

РЕСПУБЛИКА БЕЛАРУСЬ



НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР
ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ
СОБСТВЕННОСТИ

(19) ВУ (11) 13266

(13) U

(46) 2023.08.30

(51) МПК

C 12Q 1/00

(2006.01)

(54) **АВТОНОМНЫЙ ПРОТОЧНЫЙ БИОРЕАКТОР ДЛЯ ОЦЕНКИ
АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СВОЙСТВ СТОМАТОЛОГИЧЕСКИХ
МАТЕРИАЛОВ**

(21) Номер заявки: u 20230013

(22) 2023.01.25

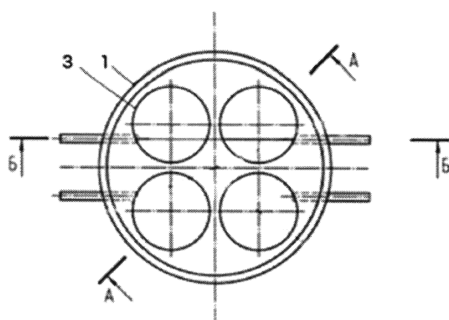
(71) Заявитель: Учреждение образования
"Гомельский государственный ме-
дицинский университет" (ВУ)

(72) Авторы: Колчанова Наталья Эдуар-
довна; Карпова Елена Васильевна; Та-
пальский Дмитрий Викторович (ВУ)

(73) Патентообладатель: Учреждение обра-
зования "Гомельский государственный
медицинский университет" (ВУ)

(57)

Автономный проточный биореактор для оценки антибактериальных свойств стоматологических материалов, состоящий из фторопластового корпуса с входными и выходными отверстиями, фторопластовой крышки, силиконовых трубок и трех перистальтических насосов, отличающийся тем, что в едином корпусе изолированно размещены четыре проточные ячейки со сходными характеристиками, каждая ячейка выполнена с возможностью осуществления непрерывной подачи питательной среды в автономном режиме и болюсной подачи раствора глюкозы, система биореактора выполнена с возможностью автономной работы, насосы выполнены с возможностью дистанционного управления через Wi-Fi-розетки.



Фиг. 1

(56)

1. RATH H. et al. Development of a flow chamber system for the reproducible in vitro analysis of biofilm formation on implant materials. PLoS ONE. 2017, vol. 12, № 2, doi:10.1371/journal.pone.0172095.

2. ТОМОКИ К. et al. Establishment of novel in vitro culture system with the ability to reproduce oral biofilm formation on dental materials. Scientific Reports. 2021, vol. 11, doi.org/10.1038/s41598-021-00803-8.

ВУ 13266 U 2023.08.30

Устройство относится к биологии и медицине, а именно к клинической микробиологии, и позволяет с учетом параметров биотопа ротовой полости оптимизировать процесс оценки выраженности антибактериальных свойств стоматологических материалов, функционализированных поверхностей и композиционных покрытий.

Известно устройство с проточной камерой для анализа роста микробной биопленки на поверхности дентальных имплантатов *in vitro*, которое состоит из отдельных многокомпонентных проточных камер (каждая камера имеет алюминиевый корпус, силиконовые подложки, покровное стекло, корпус из термопласта (полиэфирэфиркетон, ПЭЭК) с входным и выходным отверстиями, в котором располагается исследуемый образец), алюминиевых фиксаторов; перистальтического насоса, одной стеклянной емкости с магнитной мешалкой, газоотводной системы, комплекта силиконовых трубок, а также интегрированного в систему фотометра [1]. Жидкость в устройстве циркулирует по замкнутому контуру, за счет магнитной мешалки происходит перемешивание выходящей и входящей фракций.

Недостатком данного устройства является отсутствие элиминации продуктов метаболизма микроорганизмов, сложность конструкции проточной ячейки затрудняет ее стерилизацию, данное устройство позволяет оценить за один цикл только один образец, что существенно увеличивает сроки лабораторных испытаний.

Известно устройство для выращивания биопленки полости рта *in vitro* на стоматологических материалах, состоящее из четырех совмещенных в общем корпусе проточных камер с герметичной крышкой, изготовленных на 3D-принтере с использованием термостойкого нейлона, комплекта силиконовых трубок, перистальтического насоса, трех стеклянных емкостей для подачи и сброса жидкости [2]. По системе силиконовых трубок с помощью перистальтического насоса питательная среда и раствор глюкозы поступают из двух стеклянных емкостей в проточную камеру, в которой происходит рост биопленки на образцах стоматологических материалов, закрепленных на покровном стекле, и затем сливается в другую емкость.

Недостатками предлагаемого устройства являются термолабильность и пористость структуры проточных камер, изготовленных с применением 3D-принтера, что затрудняет его стерилизацию. Отсутствует коллектор для равномерного распределения питательной среды и раствора глюкозы в системе.

Задачей предлагаемой полезной модели является разработка автономного проточного биореактора для оценки антибактериальных свойств стоматологических материалов, моделирующего естественные условия ротовой полости, позволяющего *in vitro* в условиях перфузии культуральной жидкости оценить интенсивность микробной колонизации поверхности тканей зуба и стоматологических материалов, интенсивность высвобождения антибактериальных веществ, длительность и выраженность антибактериальной активности стоматологических материалов и композиционных покрытий.

Поставленная задача решается с помощью предлагаемого автономного проточного биореактора для оценки антибактериальных свойств стоматологических материалов, состоящего из фторопластового корпуса с входными и выходными отверстиями, фторопластовой крышки, силиконовых трубок и трех перистальтических насосов, причем в едином корпусе изолированно размещены четыре проточные ячейки со сходными характеристиками, каждая ячейка выполнена с возможностью осуществления непрерывной подачи питательной среды в автономном режиме и болюсной подачи раствора глюкозы, система биореактора выполнена с возможностью автономной работы, насосы выполнены с возможностью дистанционного управления через Wi-Fi-розетки.

Полезная модель поясняется следующими графическими материалами.

На фиг. 1 изображен фторопластовый корпус с четырьмя проточными ячейками цилиндрической формы (вид сверху), на фиг. 2 изображен фторопластовый корпус с проточными ячейками цилиндрической формы (вид сбоку; разрез по А-А); на фиг. 3 изображен

фторопластовый корпус с проточными ячейками цилиндрической формы (вид сбоку, разрез по Б-Б); на фиг. 4 изображена фторопластовая крышка с четырьмя газоотводными трубками (вид сверху); на фиг. 5 изображена фторопластовая крышкой с четырьмя газоотводными трубками (вид сбоку, разрез по А-А); на фиг. 6 схематически изображен общий вид автономного проточного биореактора для оценки антибактериальных свойств стоматологических материалов.

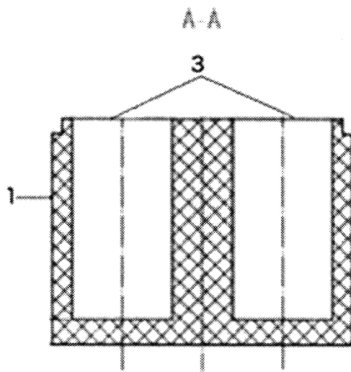
Устройство состоит из фторопластового корпуса (1) диаметром 60 мм и высотой 45 мм, который герметично закрывается фторопластовой крышкой диаметром 62 мм. Четыре проточные ячейки (3), диаметром 20 мм, высотой 40 мм и емкостью 5 мл каждая, находятся во фторопластовом корпусе (1). Каждая ячейка имеет входное (4) и выходное отверстие (5) с интегрированными входными трубками (6) из нержавеющей стали для перфузии питательной среды и интегрированными выходными трубками (7) для ее откачки, которые закреплены параллельно друг другу на расстоянии 16 мм, диаметр каждой трубки составляет 2 мм. Расстояние от входной трубки (6) до крышки (2) 8 мм, а от выходного отверстия (5) до дна ячейки 16 мм, таким образом поддерживается постоянный и одинаковый уровень питательной среды во всех ячейках одновременно. Фторопластовая крышка (2) снабжена четырьмя газоотводными трубками (8), которые располагаются над каждой из проточных ячеек (3). К фторопластовому корпусу (1) силиконовыми трубками диаметром 3 мм герметично присоединены перистальтические насосы (фиг. 6): перистальтический насос (9) для подачи питательной среды соединен силиконовыми трубками через распределительный коллектор (10) с входными трубками (6) для перфузии питательной среды (11), перистальтический насос (12) для откачки избытка жидкости соединен силиконовыми трубками через собирающий коллектор (13) с выходными трубками (7) для откачки питательной среды (14) и перистальтический насос (15) для подачи раствора глюкозы (17) через коллектор (16) соединен силиконовыми трубками с системой подачи питательной среды (10). На подающих силиконовых трубках установлены шланговые шиберы (18) для регулирования расхода питательной среды в каждую ячейку.

Устройство работает следующим образом.

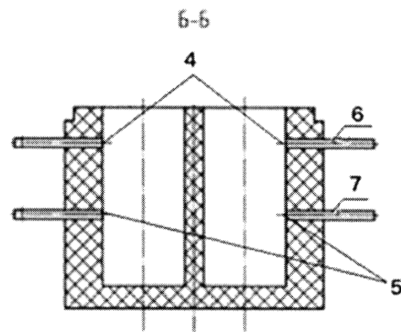
Выполняют стерилизацию фторопластового корпуса (1) и фторопластовой крышки (2) в воздушном стерилизаторе в режиме $180 \pm 2^\circ\text{C}$ в экспозиции 60 мин. Стерильные опытные и контрольные исследуемые образцы размещают внутри проточных ячеек (3). Стеклянные емкости заполняют в асептических условиях в ламинарном шкафу стерильной питательной средой (например, триптон-соевым бульоном, LB-бульоном), содержащей питательные вещества, необходимые для роста микроорганизмов на поверхности исследуемых образцов, и 5%-ным раствором глюкозы. Устройство размещают в термостате для поддержания температуры 35°C . Перистальтический насос (9) подключают к источнику тока и создают непрерывную подачу жидкости по силиконовым трубкам со скоростью 0,1-0,2 мл/мин в проточные ячейки (3). Для равномерной подачи питательной среды в каждую ячейку предусмотрено регулирование расхода питательной среды с помощью шланговых шиберов (18), установленных на подающих силиконовых трубках. Перистальтический насос (12) осуществляет непрерывную откачку жидкости из выходных трубок (7) проточных ячеек (3). В течение эксперимента осуществляют болюсную подачу раствора глюкозы (17) с использованием перистальтического насоса (15), который активируется для перфузии до 5 раз в сутки по 15-20 мин, тем самым создавая имитацию приема пищи в реальных условиях функционирования организма. Таким образом, автономный проточный биореактор для оценки антибактериальных свойств стоматологических материалов позволяет смоделировать биофизические условия полости рта, которые полностью соответствуют таковым в естественном биотопе. На поверхности исследуемых образцов происходит микробная колонизация в течение 2-7 дней при непрерывной перфузии питательной среды и температуре 35°C , оптимальной для мезофильных бактерий. Насосы

управляются дистанционно через Wi-Fi-розетки. Диаметры отверстий, стальных трубок и силиконовых трубок должны быть согласованы для герметичного соединения.

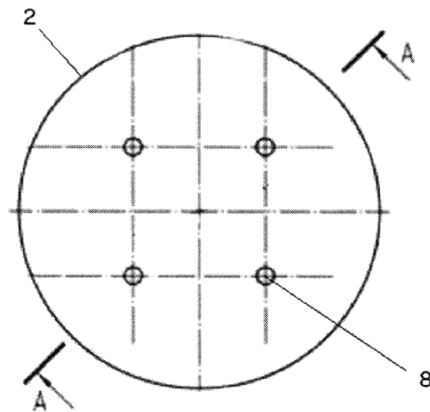
Положительный эффект предлагаемого устройства состоит в том, что за счет постоянной перфузии питательной среды, по химическому составу приближенной к слюне, присутствия микроорганизмов, характерных для ротовой полости, болюсной подачи глюкозы на поверхности исследуемых образцов происходит микробная колонизация в условиях, максимально приближенных к естественным. Применение предлагаемого устройства позволяет использовать его в микробиологических лабораториях для проведения исследований, связанных с оценкой антимикробной активности новых стоматологических материалов, функционализированных поверхностей и композиционных покрытий.



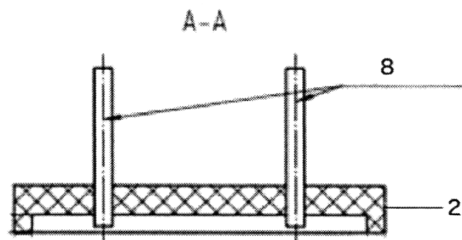
Фиг. 2



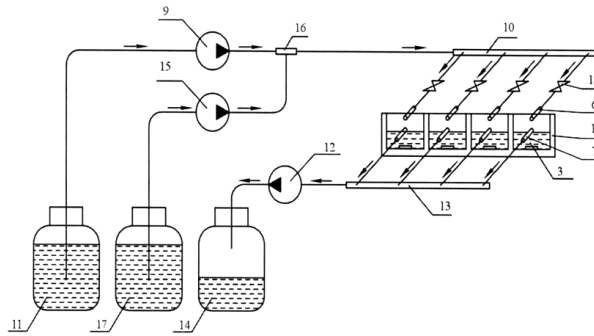
Фиг. 3



Фиг. 4



Фиг. 5



Фиг. 6