

О. В. Ганчо, Г. А. Лобань, О. М. Важничка, М. В. Скрипник
 ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава

АНТИМІКРОБНА ДІЯ КОМПОЗИЦІЙ, ВИГОТОВЛЕНИХ НА ОСНОВІ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА ТА ПОХІДНОГО 3-ГІДРОКСИПІРИДИНУ

Вивчено чутливість штамів мікроорганізмів, виділених з ротової рідини студентів-добровольців до наночастинок (НЧ) срібла, одержаних шляхом електронно-променевої технології та диспергованих у гідрофільному середовищі з використанням похідного 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинату та полівінілпіролідону (ПВП) або декстрану. Показано, що *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *Neisseria sp.* та *Bacillus sp.* чутливі до всіх вивчених зразків стабілізованих НЧ срібла. Зазначена чутливість залежить від виду мікроорганізму, характеру покриття НЧ та концентрації срібла. Вона вказує на перспективність застосування НЧ срібла з різними поверхневими характеристиками при стоматологічних захворюваннях інфекційно-запального генезу.

Ключові слова: чутливість мікроорганізмів, наночастинок, срібло.

Робота є фрагментом НДР «Пошук засобів з числа похідних 2-оксоіндолу та 3-оксипіридину та інших біологічно активних речовин для фармакокорекції адаптивних процесів при порушеннях гомеостазу різної етіології», державний рестраційний № 0111U004879.

Останнім часом значно збільшилася кількість інфекційних та внутрішньолікарняних захворювань в клініках терапевтичного та хірургічного профілю. Основною причиною такої ситуації є поширення умовно-патогенних мікроорганізмів у результаті частого та нерационального застосування хімотерапевтичних препаратів, особливо антибіотиків. Це призвело до виникнення та циркуляції полірезистентних і лікарняних ековарів бактерій, зростання кількості й тяжкості внутрішньолікарняних, хронічних і змішаних інфекцій [6].

Активне використання в медичній практиці антимікробних препаратів різного походження, хімічної структури, спектру протимікробної дії дозволило підвищити ефективність терапії багатьох інфекцій. Разом з цим для клінічної медицини лишаються актуальними такі проблеми як: доцільний вибір препарату з урахуванням спектра антимікробної дії та індивідуальної чутливості мікрофлори в даного хворого, запобігання швидкому формуванню резистентності мікроорганізмів тощо [6]. Їх вирішення можливе шляхом впровадження нових антимікробних засобів та створення комбінованих препаратів, але останнім часом спостерігається тенденція до зниження активності фармацевтичних компаній щодо розробки антибіотиків та виведення їх на ринок [7]. Одним з інших шляхів є використання антимікробних властивостей наночастинок (НЧ) металів та їх кон'югатів з відомими антибіотиками [8, 13, 14].

В останнє десятиліття з'явилися нові дані, що свідчать про ефективність наночастинок металів, зокрема, срібла, проти широкого ряду аеробних, анаеробних, грампозитивних та грамнегативних бактерій, дріжджоподібних грибків і вірусів та про відсутність виникнення резистентності до них у відповідних мікроорганізмів [8, 9, 14]. Наша попередня робота була присвячена вивченню впливу рідких дисперсних систем, виготовлених на основі конденсату НЧ оксиду срібла, похідного 3-гідроксипіридину (3-ГП) та високомолекулярних сполук на стандартні музейні штами мікроорганізмів. У результаті проведених досліджень виявилось, що окремі вивчені композиції на основі наносрібла мали бактеріостатичну дію стосовно музейного штаму *E. coli* ATCC 25922, причому така дія перевершувала ефект нестабілізованих НЧ оксиду срібла, диспергованих у дистильованій воді [1]. Ці попередні дані зумовили необхідність продовження роботи і вивчення впливу найбільш перспективних зразків наносрібла, стабілізованих у рідкому середовищі за допомогою похідного 3-ГП та полівінілпіролідону (ПВП) або декстрану, на клінічні ізоляти.

Метою роботи було визначення антимікробних властивостей дисперсних систем, виготовлених на основі комбінацій конденсату НЧ срібла з 2-етил-6-метил-3-ГП сукцинату та ПВП низькомолекулярного або декстрану, на штами мікроорганізмів ротової рідини.

Матеріал та методи дослідження. Для дослідження використовували штами *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *Neisseria sp.* та *Bacillus sp.*, які були виділені з ротової рідини студентів-добровольців ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (Полтава, Україна). Для ідентифікації ізолятів користувались бактеріоскопічним та бактеріологічним методами. Ротову рідину в початковому розведенні висівали шпателем на чашки Петрі зі спеціальними або селективними (елективними) середовищами для виділення колоній мікроорганізмів, які найчастіше стають збудниками стоматологічних захворювань (стафілококів, ентерококів, нейсерій, бацил). Чутливість виділених штамів мікроорганізмів до стабілізованих НЧ срібла вивчали кількісним методом серійних розведень

за стандартною методикою, відповідно до наказу МОЗ України за №167 від 05.04.2007 р. «Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» [3]. У пробірки вносили 0,1 мл суспензії культур (1000 клітин в 1 мл), 1 мл поживного бульйону та 1 мл досліджуваної дисперсної системи, розчинника або препарату порівняння. Посіви інкубували при +37°C протягом 48 годин. Облік результатів проводили за наявністю та характером росту типових культур на живильному середовищі. Контролем були поживні середовища, в які вносили 1мл дистильованої води замість зразка дисперсної системи. За препарат порівняння слугував 0,05% (маса/об'єм) розчин хлоргексидину біглюконату (Луганський ХФЗ, Україна).

Для приготування рідких дисперсних систем (нанорідин) були використані порошкоподібні конденсати НЧ срібла з наявністю на поверхні оксиду срібла (Ag-AgO) розмірами 10 нм, осаджених на кристали натрію хлориду або ПВП шляхом електронно-променевої технології у вакуумі [4, 5]. Вони були люб'язно надані для дослідження академіком НАН України Б.О. Мовчаном та к.т.н. Ю.А. Кураповим (Інститут електрозварювання ім. Є.О. Патона НАН України, Київ, Україна). Речовини для стабілізації наносрібла одержували від фірм-виробників: 2-етил-6-метил-3-ГП сукцинат (мексидол) – ООО «Біон» (РФ), ПВП низькомолекулярний – від компанії «Синтвита» (РФ). Готуючи нанорідини, конденсат НЧ срібла, осаджених на кристали натрію хлориду, з вмістом срібла 28,7 мас.% розчиняли в бідистильованій воді у співвідношенні 10 мг/1мл у присутності стабілізуючих агентів: 2-етил-6-метил-3-ГП сукцинату (відомого як препарат мексидол) (2% маса/об'єм) та ПВП низькомолекулярного (6% маса/об'єм) або декстрану (10% маса/об'єм). Конденсати НЧ срібла, осаджені безпосередньо на ПВП, з вихідною концентрацією срібла 0,05-0,1 мас.% розчиняли в бідистильованій воді з додаванням субстанції мексидолу до 2% (маса/об'єм). Останні зразки відрізнялись повним розчиненням і не потребували відокремлення надосадової рідини, як це робили під час виготовлення нанорідин на основі НЧ срібла, осаджених на кристали натрію хлориду.

Результати дослідження та їх обговорення. Встановлено, що використані клінічні ізоляти були чутливими до всіх нанорідин на основі НЧ срібла, причому ця чутливість варіювала залежно від виду мікроорганізму та складу нанорідини (табл.). Дисперсні системи на основі НЧ срібла, осаджених на ПВП, і стабілізованих у водному середовищі з використанням похідного 3-ГП, інгібували ріст усіх штамів у розведеннях від 1:1 до 1:8, причому антимікробна дія закономірно збільшувалась зі зростанням вмісту срібла в вихідному конденсаті НЧ. Зазначені зразки характеризувались меншою антимікробною дією в порівнянні з референс-препаратом хлоргексидину біглюконатом, ефект якого було відмічено в розведеннях 1:16 – 1:128. Найбільш чутливими до цих зразків виявились *E. faecalis* та *Neisseria sp.*, для яких інгібування росту становило 2-3 ступені на відміну від 1-2 ступенів для *S. aureus*, *S. epidermidis* та *Bacillus sp.* Нанорідини, виготовлені на основі конденсатів НЧ срібла, осадженого на кристали натрію хлориду, демонстрували вищу антимікробну активність у порівнянні з двома першими зразками (див. табл. 1). Вона мала місце в розведеннях від 1:1 до 1:64. Найбільшу чутливість до НЧ срібла, стабілізованих ПВП (6%) та 3-ГП, виявляли *S. epidermidis* та *Neisseria sp.*, до НЧ срібла, стабілізованих декстраном (10%) і 3-ГП, – *S. aureus* та *Neisseria sp.* Найменш чутливим в обох випадках був штам *Bacillus sp.*

Для рідини з використанням 6% ПВП як одного з стабілізуючих агентів дія стосовно *S. epidermidis* була виразнішою за таку в 0,05% розчину хлоргексидину біглюконату і становила 7 ступенів проти 5 ступенів у референс-препараті. Для дисперсної системи з використанням 10% декстрану інгібування росту *S. aureus* було виражене сильніше за таке в хлоргексидину біглюконату: 6 ступенів проти 5 ступенів у референс-препараті. Активність обох цих систем стосовно інших штамів мікроорганізмів поступалась такій в еталонного антисептика.

Одержані дані показали, що грампозитивні й грамнегативні коки з клінічних ізолятів чутливі до НЧ срібла, одержаних шляхом електронно-променевої технології у вакуумі і стабілізованих у водному середовищі за допомогою похідного 3-ГП разом з ПВП або декстраном. Наявність такої чутливості, поряд з раніше виявленою активністю проти *E. coli* ATCC 25922, підтверджує широту спектру антимікробної дії наносрібла, що узгоджується з даними літератури [2, 8, 12, 14]. Виявлена нами чутливість умовно-патогенних мікроорганізмів з клінічних ізолятів ротової рідини до НЧ срібла доповнює відомості щодо аналогічних властивостей таких бактерій з порожнини рота, як *S. mitis*, *S. mutans* та *S. oralis* [11], і обґрунтовує перспективність застосування наносрібла з різними поверхневими характеристиками при стоматологічних захворюваннях інфекційно-запального генезу.

Порівняння впливу чотирьох виготовлених нанорідин стосовно одних і тих же штамів умовно-патогенних мікроорганізмів продемонструвало, що антимікробна дія НЧ срібла,

осаджених на ПВП і стабілізованих похідним 3-ГП, або осаджених на кристали натрію хлориду і стабілізованих 2-етил-6-метил-3-ГП сукцинатом і ПВП або декстраном, визначається, головним чином, концентрацією срібла.

Таблиця

Вплив рідких дисперсних систем на основі наночастинок срібла на штами мікроорганізмів

Дисперсна система чи препарат порівняння	Вид мікроорганізму	Розведення								
		1:1	1:2	1:4	1:8	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256
НЧ Ag –ПВП (0,05%)+ +3-ГП+H ₂ O	<i>S. aureus</i>	+	+	–	–	–	–	–	–	–
	<i>S. epidermidis</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	–
	<i>E. faecalis</i>	+	+	+	–	–	–	–	–	–
	<i>Neisseria sp.</i>	+	+	+	+	–	–	–	–	–
	<i>Bacillus sp.</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	–
НЧ Ag–ПВП (0,1%)+ +3-ГП+H ₂ O	<i>S. aureus</i>	+	+	–	–	–	–	–	–	–
	<i>S. epidermidis</i>	+	+	–	–	–	–	–	–	–
	<i>E. faecalis</i>	+	+	+	–	–	–	–	–	–
	<i>Neisseria sp.</i>	+	+	+	+	–	–	–	–	–
	<i>Bacillus sp.</i>	+	+	–	–	–	–	–	–	–
НЧAg+ +ПВП 6%+ +3-ГП+H ₂ O	<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	–	–	–	–	–
	<i>S. epidermidis</i>	+	+	+	+	+	+	+	–	–
	<i>E. faecalis</i>	+	+	+	–	–	–	–	–	–
	<i>Neisseria sp.</i>	+	+	+	+	+	–	–	–	–
	<i>Bacillus sp.</i>	+	+	–	–	–	–	–	–	–
НЧAg+ +декстран 10%+ +3-ГП+H ₂ O	<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+	+	–	–	–
	<i>S. epidermidis</i>	+	+	+	+	–	–	–	–	–
	<i>E. faecalis</i>	+	+	+	–	–	–	–	–	–
	<i>Neisseria sp.</i>	+	+	+	+	+	–	–	–	–
	<i>Bacillus sp.</i>	+	–	–	–	–	–	–	–	–
Хлоргексидин 0,05% розчин	<i>S. aureus</i>	+	+	+	+	+	–	–	–	–
	<i>S. epidermidis</i>	+	+	+	+	+	–	–	–	–
	<i>E. faecalis</i>	+	+	+	+	+	+	–	–	–
	<i>Neisseria sp.</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	–
	<i>Bacillus sp.</i>	+	+	+	+	+	+	–	–	–

Примітки: 1. «+» – пригнічення росту мікроорганізмів; «–» – звичайний ріст мікроорганізмів (відсутність протимікробної дії). 2. НЧ Ag – ПВП (0,05%) – НЧ срібла, осаджені на ПВП, з концентрацією срібла в конденсаті 0,05 мас.%; НЧ Ag–ПВП (0,1%) – НЧ срібла, осаджені на ПВП, з концентрацією срібла в конденсаті 0,1 мас.%; НЧ Ag+ПВП6% (декстран 10%) – НЧ срібла, осаджені на кристали натрію хлориду і стабілізовані з використанням 6% ПВП (або 10% декстрану); 3-ГП – 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинат; H₂O – вода бідистильована.

Відмінності у виразності дії дисперсних систем з однаковою вихідною концентрацією наносрібла, але різними високомолекулярними речовинами у складі покриття підтвердили роль стабілізуючих агентів у взаємодії НЧ металів та їх сполук з клітинами-мішенями, в тому числі з мікроорганізмами [8, 10].

Висновок

Умовно-патогенні коки й бацили з клінічних ізолятів ротової порожнини чутливі до нанорідин, виготовлених на основі НЧ срібла, одержаних шляхом електронно-променевої технології у вакуумі і стабілізованих у водному середовищі з використанням 2-етил-6-метил-3-ГП сукцинату разом з високомолекулярними сполуками (ПВП або декстраном). Зазначена чутливість залежить від виду мікроорганізму, характеру покриття НЧ та концентрації наносрібла.

Перспективи подальших досліджень. Дослідження впливу НЧ срібла на мікробіологічні характеристики шкірно-м'язової рани в лабораторних тварин становитиме мету наших подальших експериментів.

Список літератури

- Gancho O. V. Chutlivist' muzejnih shtamiv mikroorganizmiv do preparativ na osnovi kondensatu iz nanochastinok sribla / O.V. Gancho, G.A. Loban', O.M. Vazhnicha [ta in.] // Visnik problem biologii ta medicini. – 2014. – № 1(43). – S.102-105.
- Movchan B.O. Antibakterial'na aktivnist' novogo farmacevtichnogo ingredienta – nanokompozicii sribla / B.O. Movchan, I.S. Chekman, S.B. Bilous [ta in.] // Profilaktichna medicina. – 2014. – №1-2. – С. 7-14.
- Nakaz MOZ Ukraini za №167 vid 05.04.2007 r. «Pro zatverdzhennja metodichnih vkazivok «Vznachennja chutlivosti mikroorganizmiv do antibakterial'nih preparativ».– [Elektronnij resurs].– Rezhim dostupu: <http://www.moz.gov.ua>
- Pat. 75670 UA; MPK B01J 13/00, C23C 14/24, B82B 3/00. Sposib oderzhannja koloïdnogo rozchinu sribla / B.O. Movchan (UA); Z.R. Ul'berg (UA); V.P. Chernih (UA); V.A. Prokopenko (UA); S.M. Kovalenko (UA); G.G. Didikin (UA). – Neu201206263; zajavl. 24.05.2012; opubl. 10.12.2012, bjul. №23/2012.
- Pat. 92556 UA, MPK B82B 3/00, C23C 14/24, C23C 14/54. Sposib oderzhannja nanochastinok sistemi metal-kisen' iz zadanim skladom elektronno-promenevim viparovuvannjam i kondensacieju u vakuumi / B.C. Paton (UA), B.O. Movchan (UA), Ju.A. Kurapov (UA), K.Ju. Jakovchuk (UA); zajavnik ta patentovlasnik Astromont Limited (CY). – №a200905985; zajavl. 10.06.2009; opubl. 10.11.2010, bjul. №21.
- Savchenkova L. I. Problema antibiotikorezistentnosti v sovremennoj medicine / L. I. Savchenkova, V. O. Luk'janchuk // Visnik farmakologii ta farmacii. – 2005. – №1. – S. 43-49.

7. Feshhenko Ju. I. Racional'naja antibiotikoterapija bol'nyh s infekcijami niznih dyhatel'nyh putej / Ju.I. Feshhenko, A.Ja. Dzjublik / II Mizhnarodnij kongres z antiinfekcionnoji himioterapij, 10-11 grudnja 2009 roku, Kiiv: materialy kongresu. – Ukraïns'kij pul'monologichnij zhurnal, – 2009. – №4. – С. 5-8.
8. Chekman I. S. Nanonauka, nanobiologija, nanofarmacija: monografija / I. S. Chekman, Z. R. Ul'berg, V. O. Malanchuk [ta in.]. – K.: Poligraf pljus, 2012. – 328 s.
9. Shherbakov O. B. Preparati sribla: vchora, s'ogodni i zavtra / O. B. Shherbakov, G.I. Korchak, O.V. Surmasheva [ta in.] // Farmaceutichnij zhurnal. – 2006. – №5. – С. 45-57.
10. Chernousova S. Silver as antibacterial agent: ion, nanoparticle, and metal / S. Chernousova, M. Epple // Angew. Chem. Int. Ed. Engl. – 2013. – Vol. 52, №6. – P. 1636-1653.
11. Di Giulio M. The effect of a silver nanoparticle polysaccharide system on streptococcal and saliva-derived biofilms / M. Di Giulio, S. Di Bartolomeo, E. Di Campi [et al.] // Int. J. Mol. Sci. – 2013. – Vol. 14, №7. – R.13615-13625.
12. Jain J. Silver nanoparticles in therapeutics: development of an antimicrobial gel formulation for topical use / J. Jain, S. Arora, J.M. Rajwade [et al.] // Mol. Pharm. – 2009. – Vol. 66, №5. – P. 1388-1401.
13. Mei L. Bioconjugated nanoparticles for attachment and penetration into pathogenic bacteria / L. Mei, Z. Lu, W. Zhang [et al.] // Biomaterials. – 2013. – Vol. 34, №38. – P. 10328-10337.
14. Rizzello L. Nanotechnology tools for antibacterial materials / L. Rizzello, R. Cingolani, P.P. Pompa // Nanomedicine (Lond.). – 2013. – Vol. 8, №5. – P. 807-821.

Реферати

АНТИМИКРОБНОЕ ДЕЙСТВИЕ КОМПОЗИЦИЙ, ИЗГОТОВЛЕННЫХ НА ОСНОВЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА И ПРОИЗВОДНОГО 3-ГИДРОКСИПИРИДИНА

Ганчо О.В., Лобань Г.А., Важничая Е.М., Скрипник Н.В.

Изучена чувствительность штаммов микроорганизмов, выделенных из ротовой жидкости студентов-добровольцев, к наночастицам (НЧ) серебра, полученным путем электронно-лучевой технологии и диспергированным в гидрофильной среде с использованием производного 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцината и поливинилпирролидона или декстрана. Показано, что *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *Neisseria spp.* и *Bacillus sp.* чувствительны ко всем изученным образцам стабилизированных НЧ серебра. Указанная чувствительность зависит от вида микроорганизма, характера покрытия НЧ и концентрации серебра. Она указывает на перспективность применения НЧ серебра с различными поверхностными характеристиками при стоматологических заболеваниях инфекционно-воспалительного генеза.

Ключевые слова: чувствительность микроорганизмов, наночастицы, серебро.

Стаття надійшла 09.12.2014 р.

ANTIMICROBIAL ACTION OF COMPOSITIONS BASED ON SILVER NANOPARTICLES AND 3-HYDROXYPYRIDINE DERIVATIVE

Gancho O.V., Loban G.A., Vazhnichaya Ye.M., Skripnik N.V.

It is studied the sensitivity of strains isolated from oral cavity of students to silver nanoparticles (NPs) obtained by electron-beam technology and dispersed in hydrophilic medium with the use of 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate and polyvinyl pyrrolidone or dextran. Investigated the sensitivity of strains of microorganisms isolated from the oral fluid student volunteers to nanoparticles (NPs) of silver obtained by electron-beam technology, and dispersed in a hydrophilic medium with use of a 2-ethyl-6-methyl-3-hydroxypyridine succinate and polyvinyl pyrrolidone or dextran. It is shown that *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. faecalis*, *Neisseria spp.* and *Bacillus sp.* are sensitive to all studied samples of stabilized silver NPs. This sensitivity depends on the microorganism species, the nature of NPs coating and silver concentration. It indicates the prospects to use of silver NPs with different surface characteristics in dental diseases of infective-inflammatory genesis.

Key words: sensitivity of microorganisms, nanoparticles, silver.

Рецензент Бобирьов В.М.

УДК 611.133-053.31

Л. М. Герасим

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

ПЕРИНАТАЛЬНА ТОПОГРАФІЯ ЗАГАЛЬНИХ СОННИХ АРТЕРІЙ

За допомогою сучасних та адекватних морфологічних методів проведені дослідження на 57 препаратах трупів плодів (від 4 до 10 місяців) та 8 новонароджених і з'ясовані топографоанатомічні особливості загальних сонних артерій в плодів та новонароджених людини. Встановлено, що в перинатальному періоді онтогенезу людини загальна сонна артерія, у 48% випадків у ранніх плодів (4-5 місяць) та у 76% – у пізніх плодів (8-10 місяць) та в новонароджених, поділяється на зовнішню і внутрішню сонні артерії на рівні під'язикової кістки. Упродовж перинатального періоду біфуркація загальної сонної артерії скелетотопічно зміщується каудально на один шийний хребець. Поділ загальної сонної артерії на внутрішню і зовнішню сонні артерії визначається за двома формами: паралельною та цибулиноподібною. Передне примикання верхнього гортанного нерва до місця біфуркації загальної сонної артерії потрібно враховувати під час виконання оперативних втручань у ділянці ший у новонароджених та дітей раннього віку.

Ключові слова: загальна сонна артерія, топографія, перинатальний період.

Робота є фрагментом НДР "Закономірності перинатальної анатомії та ембріотопографії. Визначення статеві-вікових особливостей будови і топографоанатомічних взаємовідношень органів та структур в онтогенезі людини" (№ держреєстрації 011U0003078).

У теперішній час уже ні в кого не виникає сумнівів щодо нагальної потреби в розробці медичних аспектів сучасної ембріології, без чого неможливо вирішити такі важливі питання

© Герасим Л.М., 2015