

КІЛЬКІСНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ ТА АНТИФУНГІЦИДНОЇ ДІЇ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА У ПОЄДНАННІ З РІЗНИМИ ПРЕПАРАТАМИ

Вищий державний навчальний заклад України

«Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)

mashafaustova@ukr.net

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 реєстраційний № 0111U004879.

Вступ. Здавна відомо, що різноманітні сполуки срібла володіють антимікробними властивостями і широко використовуються у медицині [4]. Хімічно чисте срібло не володіє вираженою бактерицидною дією і може набувати її лише при поверхневому окисленні чи взаємодії з іншими сполуками [11,3]. Тому останнім часом все частіше використовуються колоїдні системи металічного срібла, стабілізовані різними високомолекулярними продуктами [9]. Потенційно перспективними для цього можуть бути похідні 3-гідроксипіридину з їх значним спектром фармакологічних ефектів [1,2]. Використання стабілізованих наночастинок срібла (НЧ), завдяки їх малому розміру (менше 100 нм), дозволяє знизити концентрацію металу, не впливаючи на його бактерицидні властивості. Крім того, вони мають значну питому поверхню, що збільшує ділянку контакту наночастинок з бактеріями та підвищує їх антибактеріальний ефект [7].

В даний час доведено, що срібло має більш виражені антимікробні властивості, ніж пеніцилін, біоміцин та інші антибіотики [4]. Крім того, згубно діє на антибіотикорезистентні штами мікроорганізмів, поява яких обумовлена широким застосуванням відомих препаратів [6]. При використанні з традиційними антибіотиками срібло чинить синергічний ефект, пролонгуючи дію деяких із них у десятки разів [4]. Тому пошук нових препаратів на основі наночастинок срібла є досить перспективним серед сучасних фармакологічних досліджень [11,6].

Мета дослідження — вивчення чутливості еталонних штамів *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli* та *C. albicans* до дисперсних систем наночастинок срібла.

Об'єкт і методи дослідження. Під час дослідження використовували рідкі дисперсні системи на основі конденсату наночастинок срібла розміром 10 нм, що були осажені на кристали натрію хлориду шляхом електронно-променевої технології у вакуумі [8]. Масова частка срібла (Ag) складала 23,4%, в якості стабілізатора наночастинок срібла у водному середовищі була використана

субстанція 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинату (мексидол), виготовленого ООО «БИОН», РФ, та 6% розчину полівінілпіролідону (ПВП) низькомолекулярного (Неогемодез), виготовленого ООО Ніко, м. Макеевка, Україна.

Дослідження проводили на музейних штаммах мікроорганізмів *S. aureus* ATCC 25923, *S. epidermidis* ATCC 14990, *E. coli* ATCC 25922, *C. albicans* ATCC10231, одержаних з колекції ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України», м. Київ.

Чутливість музейних штамів мікроорганізмів до вищезазначених розчинів вивчали за допомогою кількісного макрометоду серійних розведень, у відповідності до наказу МОЗ України за № 167 від 05.04.2007 р. [5].

Дослідження проводили у об'ємі 1 мл кожного розведення робочого розчину з остаточною концентрацією досліджуваного мікроорганізму 5×10^5 КУО/см³. За допомогою мікропіпетки зі стерильним наконечником 0,5 мл робочого розчину вносили в першу пробірку з 0,5 мл поживного бульйону. Після ретельного змішування 0,5 мл розчину, що утворився, переносили в наступну пробірку, в якій містилося 0,5 мл поживного бульйону. Дану процедуру повторювали доки не був приготований необхідний ряд розведень, але не менше 10 пробірок. Із останньої пробірки 0,5 мл розчину видалялося. В якості інокулюма готували мікробну суспензію досліджуваної культури, використовуючи стандарт МакФарланда. В кожну пробірку з готовим подвійним розведенням робочого розчину і в одну пробірку з 0,5 мл поживного бульйону («негативний контроль») вносили по 0,5 мл щойно приготованого інокулюма. Всі пробірки, окрім «негативного» контролю, інкубувалися у звичайній атмосфері при температурі 35°C протягом однієї доби. Пробірка з «негативним» контролем зберігалася при температурі 4°C до обліку результатів.

Мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) визначали за найменшою концентрацією робочого розчину, що була здатна пригнічувати видимий ріст досліджуваної культури мікроорганізму, наявність якого оцінювали шляхом огляду пробірки у прохідному світлі, порівнюючи з «негативним» контролем. Як препарат порівняння використовували 0,05% розчин хлоргексидину біглюконату, виготов-

МІК розчинів наночастинок срібла для музейних штамів мікроорганізмів (n=5)

	Ag+мексидол+ПВП, мкг/мл M±m	Ag+H ₂ O, мкг/мл M±m	хлоргексину біглюконат, мкг/мл M±m
<i>E. coli</i>	2,32±0,72*	21,99±0,23	1,95±0,13
<i>S. aureus</i>	9,30±0,94*	21,99±0,59	3,91±1,49
<i>S. epidermidis</i>	4,65±0,60*	21,99±0,44	3,91±0,22
<i>C. albicans</i>	1,16±0,80*	11,0±0,04	1,95±0,45

Примітка: * — достовірність різниці показників МІК розчину Ag+мексидол+ПВП до показників МІК розчину Ag+H₂O, p < 0,05.

лений Луганським хіміко-фармацевтичним заводом, Україна.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програми Microsoft Excel. Аналіз достовірності – за критерієм Ст'юдента.

Результати дослідження та їх обговорення.

За результатами досліджень всі музейні штами мікроорганізмів виявилися чутливими до досліджуваних розчинів у різній мірі

(табл.). Дисперсна система НЧAg з дистильованою водою (H₂O) викликав незначну затримку росту мікроорганізмів, у майже однакової концентрації для культур *S. aureus*, *S. epidermidis* та *E. coli*. Найбільш чутливим виявився штам *C. albicans*, затримка росту якого визначалася при концентрації Ag 11,0±0,04 мкг/мл. Комбінація наночастинок срібла з мексидолом та ПВП виявила значну протимікробну активність відносно досліджуваних музейних штамів мікроорганізмів, порівняно з розчином, що містив Ag+H₂O. Найбільшу чутливість до розчину НЧAg з мексидолом та ПВП виявили *E. coli* та *C. albicans*, МІК для яких становили 2,32±0,22 мкг/мл та 1,16±0,10 мкг/мл відповідно. Бактеристатична дія 0,05% розчину хлоргексидину біглюконату, бактеристатична не перевищувала досліджувані зразки розчинів на основі наночастинок срібла.

Отже, розчин на основі наночастинок срібла з дистильованою водою володіє низькою антибактеріальною дією відносно музейних штамів *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, оскільки затримка росту культур визначалася виключно у першому розведенні. Виключення склала лише культура *C. albicans*, чутливість якої до означеного розчину була не суттєво вищою. В свою чергу композиція НЧAg, мексидолу та ПВП виявила у 2-4 рази більший бактеріостатичний ефект, порівняно з розчином Ag+H₂O для *S. aureus*, *S. epidermidis*, та майже 10 разів — для *E. coli* та *C. albicans*. Це свідчить про потенціювання бактерицидної дії наночастинок срібла

у комбінації з мексидолом та ПВП, що імовірно можна пояснити їх широким колом фармакологічних ефектів, включаючи значні репаративні властивості [4]. Однак МІК композиції Ag+мексидол+ПВП на музейні штами мікроорганізмів достовірно не поступалися МІК препарату порівняння. Найбільш чутливими до означеної розчину Ag+мексидол+ПВП серед досліджуваних культур були *E. coli* та *C. albicans*.

Висновки. Досліджувані музейні штами *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, *C. albicans* є чутливими до дисперсних систем наночастинок срібла з 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридином сукцинатом та полівінілпіролідом низькомолекулярним має більш виражений бактеріостатичний ефект порівняно з системою НЧ срібла з дистильованою водою. Антибактеріальна дія дисперсної системи срібла з 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридином сукцинатом та полівінілпіролідом низькомолекулярним достовірно не поступається розчину хлоргексидину біглюконату.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження плануємо спрямувати на вивчення антибактеріальної та антифугальної дії дисперсних систем наночастинок срібла з 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридином сукцинатом та полівінілпіролідом низькомолекулярним щодо клінічних штамів мікроорганізмів.

Література

1. Важнича О.М. До питання про деякі молекулярно-біологічні механізми дії 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинату / О.М. Важнича // Проблеми екології та медицини. – 2012. – Т. 16, № 5-6. — С. 25-29.
2. Воронина Т.А. Мексидол. Основные эффекты, механизм действия, применение / Т.А. Воронина. — М., 2005. – 20 с.
3. Кульский П.А. Серебряная вода / П.А. Кульский. – К.: Наук. думка, 1987. – 135 с.
4. Курапов Ю.А. Получение наночастиц серебра и их термическая стабильность в системе Ag–O / Ю.А. Курапов, Л.А. Крушинская, С.Е. Литвин, С.М. Романенко, Я.А. Стельмах, В.Я. Маркив // Порошковая металлургия. – 2014. — № 3-4. – С. 95-102.
5. Наказ МОЗ України за № 167 від 05.04.2007 р. «Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів». Режим доступу до документу: <http://www.moz.gov.ua>.
6. Нанобитехнология и наномедицина / А.И. Арчаков, О.М. Ипатова, Н.В. Медведева, Ю.Д. Иванов, А.И. Дрожжин // Биомедицинская химия. – 2006. — № 6. – С. 529-546.
7. Наносеребро: технология получения, фармакологические свойства, показания к применению / И.С. Чекман, Б.А. Мовчан, Л.А. Крушинская [и др.] // Мистецтво лікування. – 2008. — № 5. – С. 32-34.
8. Патон Б.Є. Пат. 925556 Україна, МПК В82В 3/00, С23С 14/24, С23С 14/54. Спосіб одержання наночастинок системи метал-кисень із заданим складом електронно-променевим випаровуванням і конденсацією у вакуумі / Б.Є. Патон, Б.О. Мовчан, Ю.А. Курапов, К.Ю. Яковчук. Опубл. 10.11.10, бюл. № 21.

9. Щербаков А.Б. Препараты серебра: вчера, сегодня и завтра / А.Б. Щербаков, Г.И. Корчак, А.В. Сурмашева [и др.] // Фармацевт. журн. – 2006. – № 5. – С. 45-57.
10. Alt V. Nanoparticulate Silver. A new antimicrobial substance for bone cement / V. Alt, T. Bechert, P. Steinrucke [et al.] // Orthopade. – 2004. – Vol. 33, No. 8. – P. 885-892.
11. Tilton R.C. Reversal of the silver inhibition of microorganisms by agar / R.C. Tilton, B. Rosenberg // Appl. Env. Microbiol. – 1978. – Vol. 35, No. 6. – P. 1116-1120.

УДК 546.57:615.281

КІЛЬКІСНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ ТА АНТИФУНГЦИДНОЇ ДІЇ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА У ПОЄДНАННІ З РІЗНИМИ ПРЕПАРАТАМИ

Фаустова М. О., Лобань Г. А., Важнича О. М., Ананьева М. М.

Резюме. В даній статті представлені дослідження щодо впливу рідкого дисперсного розчину наночастинок срібла в поєднанні з 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинатом та полівініпіролідом на музейні штами *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. Coli* та *C. albicans* у порівнянні з розчином наночастинок срібла, диспергованим у дистильованій воді. Встановлено, що дана композиція речовин володіє вираженими антибактеріальними властивостями, пригнічуючи ріст досліджуваних культур, особливо чутливими з яких виявилися *E. Coli* та *C. albicans*.

Ключові слова: наночастинок срібла, мексидол, чутливість мікроорганізмів, антибактеріальні властивості.

УДК 546.57:615.281

КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОГО И АНТИФУНГИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОЧАСТИЧЕК СЕРЕБРА В СОЧЕТАНИИ С РАЗЛИЧНЫМИ ПРЕПАРАТАМИ

Фаустова М. А., Лобань Г. А., Важнича Е. М., Ананьева М. Н.

Резюме. В данной статье представлены результаты о влиянии жидкого дисперсного раствора наночастичек серебра в сочетании с 2-этил-6-метил-3-гидроксипиридина сукцинатом и поливинипирилоидом на музейные штаммы *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. Coli* и *C. albicans* в сравнении с раствором наночастичек серебра, диспергированных в дистиллированной воде. Установлено, что данная композиция веществ обладает выраженными антибактериальными свойствами, угнетая рост исследуемых культур, особенно чувствительными среди которых оказались *E. Coli* и *C. albicans*.

Ключевые слова: наночастички серебра, мексидол, чувствительность микроорганизмов, антибактериальные свойства.

UDC 546.57:615.281

QUANTITATIVE CHARACTERISTICS OF THE SILVER NANOPARTICLES' ANTIMICROBIAL AND ANTIFUNGAL ACTIVITY WITH VARIOUS SUBSTANCES

Faustova M. O., Loban' G. A., Vazhnichaya E. M., Ananiyeva M. M.

Abstract. It's known that silver has antibacterial properties and it is widely used in medicine. Nowadays different combinations of silver with polymers, which it is colloid systems, are used more often. That's why there are very perspective macromolecular compounds, which can stabilize silver nanoparticles in the solution such as 2-ethyl-6-methyl-3-hidroksypyridyn succinate (mexidol) and low molecular weight PVP. Using of silver nanoparticles with them allows to lower the concentration of metal and in the same time to increase their antibacterial effect. It is proved that silver has the more strongly marked antimicrobial properties than some antibiotics such us penicillin, biomitsin and others.

During these experiments we worked on the museum strains of *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. Coli* and *C. albicans* for finding of their sensitivity to different solutions of silver nanoparticles. So, the complex of the mexidol, 6%PVP and silver was used for that. As well the 0,05% Chlorhexidine Bigluconate was used as the control solution for the comparison. The sensitivity of microorganisms was found by the standard dilution method, according to the order of Ministry of Health.

According to the results all museum strains of microorganisms, which were examined, had been sensible to solutions that were used. Although the complex of silver nanoparticles with distilled water has had antibacterial effect it has induced the less oppression of bacteria's growing than other solutions. In spite of that fact that the combination of silver nanoparticles with the mexidol and 6%PVP has been less active than comparison solution it restrained the growing of all examined strains. It is very interesting that this combination has had the higher antibacterial property in several time than the first one.

The most sensible museum strains to the solution of silver nanoparticles with the mexidol and 6%PVP were *E. Coli* and *C. albicans*.

Summarizing all mentioned above we could make the conclusion that the using of silver nanoparticles as an antibacterial agent in medicine is perspective enough. In addition, 2-ethyl-6-methyl-3-hidroksypyridyn succinate (mexidol) and low molecular weight PVP can intensify the antimicrobial effect of silver nanoparticles.

Keywords: silver nanoparticles, mexidol, the sensitivity of microorganisms, antibacterial properties.

Рецензент — проф. Кочина М. Л.
Стаття надійшла 15.05.2016 року