

И. Д. Михальчик, В. В. Машель
**ИЗУЧЕНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СВОЙСТВ НАНОВОЛОКОН
ХИТОЗАНА С ИОНАМИ СЕРЕБРА И ЦЕРИЯ**

*Научные руководители: д-р мед. наук, проф Г. Г. Кондратенко,
канд. мед. наук, доц. А. И. Протасевич
1-я кафедра хирургических болезней*

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Резюме. В данной статье представлены результаты изучения антибактериальных свойств нановолокон хитозана с ионами серебра и церия методом диффузии вещества в плотной питательной среде и суспензионным количественным методом. Комплекс ионов серебра с хитозаном имеет высокий потенциал как антимикробное средство и требует дальнейшего изучения.

Ключевые слова: хитозан, нанобиополимеры, раневые покрытия.

Resume. In this article presents the results of studying the antibacterial properties of chitosan nanofibers with silver and cerium ions evaluated by method of diffusion of a substance in a solid nutrient medium and by a suspension quantitative method. The complex of silver ions with chitosan has a high potential as an antimicrobial agent and requires further study.

Keywords: chitosan, nanobiopolymers, wound covering.

Актуальность. Лечение гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей – одна из актуальных проблем современной хирургии. Изменение микробного пейзажа, рост устойчивости патогенных штаммов микроорганизмов к современным антибактериальным препаратам диктует необходимость поиска и оценки эффективности различных химических элементов и соединений, а также их композиций в лечении хирургической инфекции.

В настоящее время большое внимание уделяется развитию нанобиотехнологий, в том числе биополимеров на основе хитозана (ХЗ) [1,3,4]. Создание нанокompозитного средства, содержащего хитозан, наночастицы серебра и церия [2] и оценка их антимикробной активности *in vitro* как по отдельности, так и в комплексе по отношению к стандартным и госпитальным штаммам основных возбудителей раневой инфекции [5] может стать перспективным направлением в поиске средства для лечения гнойно-воспалительных заболеваний мягких тканей.

Цель: Изучить антимикробную активность хитозана, серебра, церия и их комплексов *in vitro* по отношению к основным возбудителям раневой инфекции.

Задачи:

1. Исследовать антимикробную активность нановолокон хитозана с ионами серебра и церия по отношению основным возбудителям раневой инфекции методом диффузии вещества в плотной питательной среде.

2. Исследовать антимикробную активность образцов раневого покрытия с нановолокнами хитозана и ионами серебра и церия количественным суспензионным методом.

Материал и методы. Микробиологическое исследование выполнено на базе лаборатории внутрибольничных инфекций НИЧ УО «БГМУ». Оценивалась антимик-

робная активность нановолокон хитозана с ионами серебра и церия методом диффузии вещества в плотной питательной среде и количественным суспензионным методом.

В ходе оценки антимикробной активности методом диффузии в плотной питательной среде взвеси суточных агаровых культур тест-микробов (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*) в физиологическом растворе стандартизировали до 10^7 КОЕ/мл и засеивали газонем на плотную питательную среду.

В стерильных условиях образцы покрытия нарезали сегментами 1,0 x 1,0 см. На поверхность плотной питательной среды с посевом тест-культур накладывали фрагменты образца (по 3 шт. каждой) (рисунок 1). Оценке подвергались следующие образцы: хитозан (ХЗ) + Се (образец 1), ХЗ + Ag (образец 2), ХЗ (образец 3). Контролем служил нетканый синтетический аналог (Спанбел). Посевы выдерживались в термостате в течение 24 часов. Учёт производили, измеряя диаметр зон задержки роста вокруг образцов.

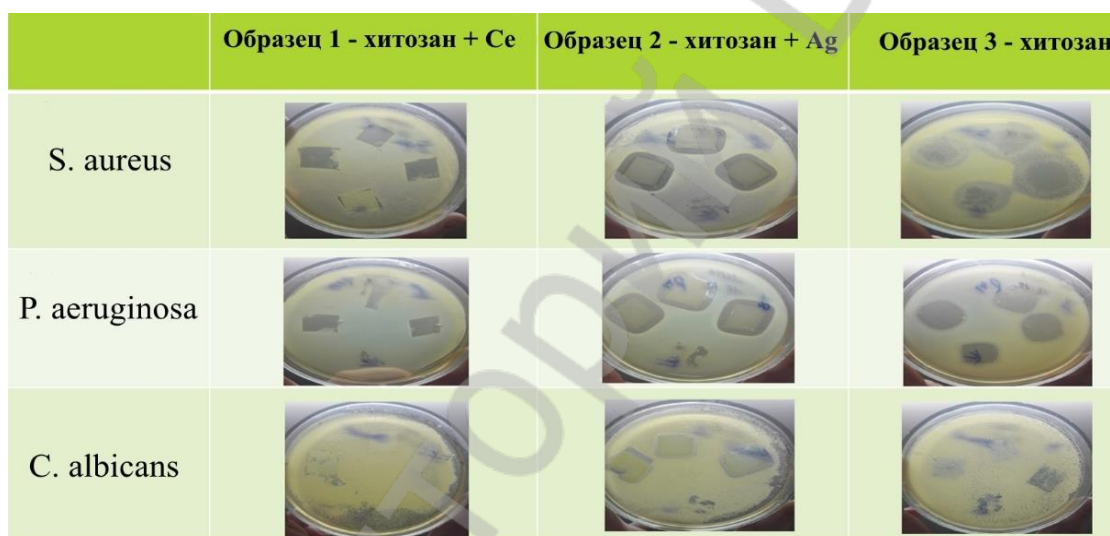


Рисунок 1 – Оценка антимикробных свойств образцов методом диффузии в плотной питательной среде

В ходе оценки антимикробной активности композитного материала количественным суспензионным методом, образцы погружались в 0,9 мл стерильной дистиллированной воды, выдерживались 24 часа при комнатной температуре. Взвеси суточных культур тест-микробов в физиологическом растворе с 20% лошадиной сывороткой стандартизировали до 10^9 КОЕ/мл по стандарту мутности, суспензию вносили в воду с раневым покрытием (температура раствора 20° С) в соотношении 1:10. По истечении экспозиции в 24 часа, производились высевы по 0,1 мл микробной взвеси на сектора чашек Петри с питательными средами. Посевы инкубировали в термостате в течение 48 часов, после чего подсчитывали число колоний и устанавливали количество выживших бактерий (КОЕ/мл) в опыте и контроле. Определяли десятичные логарифмы и факторы редукции (RF) числа бактерий в опыте по сравнению с контролем.

Оценке подвергались следующие образцы покрытий размером 10 x 10 мм: образец 1 - ХЗ + Се, образец 2 – ХЗ + Ag, образец 3 –ХЗ + Ag + Се, образец 4 - ХЗ. В

качестве тест-культур использовали следующие микроорганизмы: *P. aeruginosa* ATCC 15422, *E. coli* ATCC 11229, *S.aureus* ATCC 6538, *S. haemolyticus* 17748, *C.albicans* ATCC 10231, *C. krusei* 2493 – типовые штаммы, *P. aeruginosa* 12561, *P. aeruginosa* 11478, *S.aureus* 3223, *C.albicans* 5013 – госпитальные штаммы.

Результаты и их обсуждение. В ходе оценки антимикробной активности образцов выяснили, что комплекс хитозана с церием высокоэффективен в отношении *S.aureus* и умеренно эффективен в отношении *P. aeruginosa*, однако его фунгицидные свойства не выражены (таблица 1). Комплекс с серебром был высокоэффективен в отношении всех задействованных микроорганизмов (таблица 2). Собственные антибактериальные свойства хитозана проявлялись в отношении *P. aeruginosa* и *S.aureus*, однако в отношении последнего микроорганизма эффект оказался нестойким. Фунгицидная активность хитозана оказалась не выражена (таблица 3).

Таблица 1. Оценка антимикробной активности образцов методом диффузии вещества в плотной питательной среде (образец 1)

Вид тест-микроба	№ накладки	Диаметр зон задержки роста (мм)	
		тест-культура	контроль
<i>S.aureus</i> ATCC 6538	1	12,0	рост
	2	10,0	рост
	3	11,0	рост
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442	1	под образцом роста нет	рост
	2	под образцом роста нет	рост
	3	под образцом роста нет	рост
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	1	рост	рост
	2	рост	рост
	3	рост	рост

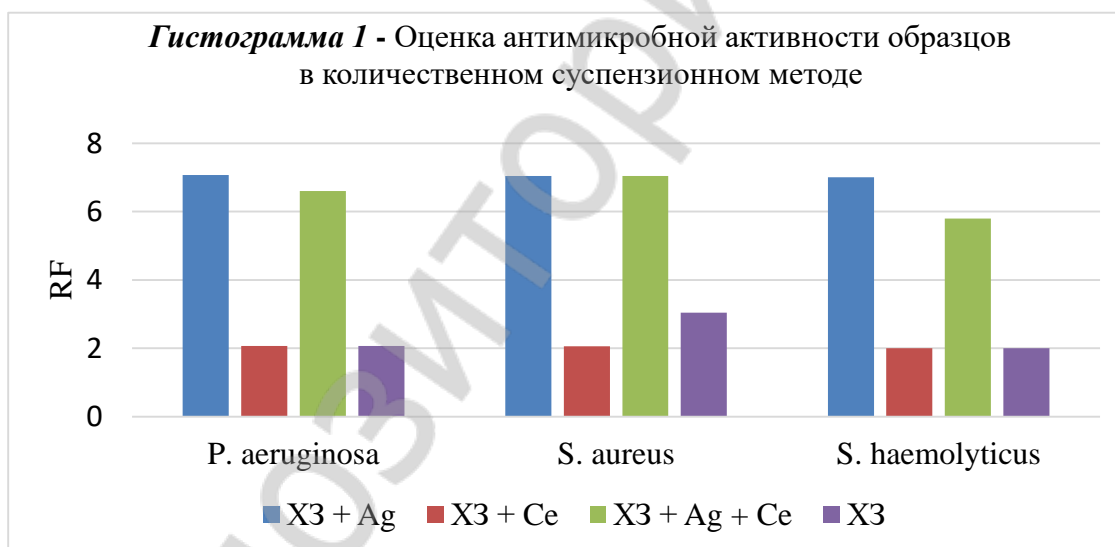
Таблица 2. Оценка антимикробной активности повязок методом диффузии вещества в плотной питательной среде (образец 2)

Вид тест-микроба	№ накладки	Диаметр зон задержки роста (мм)	
		тест-культура	контроль
<i>S.aureus</i> ATCC 6538	1	20,0	рост
	2	22,0	рост
	3	20,0	рост
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 15442	1	25,0	рост
	2	23,0	рост
	3	24,0	рост
<i>C.albicans</i> ATCC 10231	1	20,0	рост
	2	23,0	рост
	3	21,0	рост

Таблица 3. Оценка антимикробной активности образцов методом диффузии вещества в плотной питательной среде (образец 3)

Вид тест-микроба	№ накладки	Диаметр зон задержки роста (мм)	
		тест-культура	контроль
S.aureus ATCC 6538	1	единичные колонии	рост
	2	единичные колонии	рост
	3	единичные колонии	рост
P. aeruginosa ATCC 15442	1	под образцом роста нет	рост
	2	под образцом роста нет	рост
	3	под образцом роста нет	рост
C.albicans ATCC 10231	1	рост	рост
	2	рост	рост
	3	рост	рост

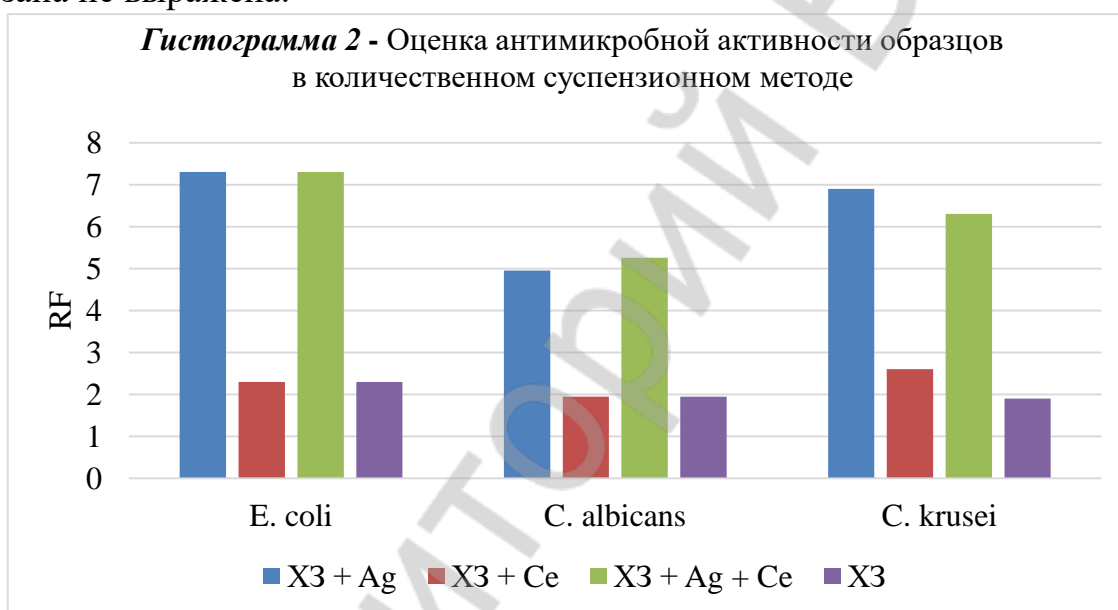
При оценке антимикробной активности образцов суспензионным количественным методом комплекс хитозана с серебром проявил крайне высокую антимикробную активность по отношению ко всем исследованным культурам, фактор редукции достигал 7 и выше, что указывает на снижение микробного числа более чем на 7 порядков (гистограммы 1,2).



Однако в отношении внутрибольничного штамма *C. albicans* фактор редукции достиг лишь 5, что тем не менее является также высоким показателем. Комплекс хитозана с церием оказался значительно менее эффективным, фактор редукции находился в пределах 1-2, достигнув 2,6 лишь в отношении *C. krusei*. Активность комплекса хитозана с церием и серебром не имела видимых отличий от таковой у комплекса хитозана с серебром, за исключением более высокой активности в отношении культур *C. albicans*, при том, что активность комплексов с церием и серебром по отдельности была ниже.

Выводы:

1. Хитозан проявляет некоторые антибактериальные свойства в отношении стандартных штаммов *P. aeruginosa*, *E. coli*. Существует определённая активность в отношении *S. aureus* однако эффект не является стойким. Фунгицидная активность хитозана не выражена.



2. Комплекс ионов серебра с хитозаном проявляет высокую антимикробную активность в отношении всех изученных стандартных и госпитальных штаммов бактерий и грибов.

3. Комплекс ионов церия с хитозаном проявляет умеренную антимикробную активность в отношении стандартных штаммов микроорганизмов. Его активность в отношении госпитальных штаммов значительно ниже.

4. Комплекс нановолокон хитозана и ионов серебра имеет высокий потенциал как антимикробное средство и требует дальнейшего изучения в ходе доклинических исследований в рамках моделирования раневого процесса на животных, в ходе которых будут оценены его антимикробные, а также сорбционные и регенеративные свойства *in vivo*.

I. D. Mikhalchuk, V. V. Mashel

STUDYING ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF CHITOSANE NANOFIBER WITH IONS OF SILVER AND CERIUM

Science Supervisors: M.D. Prof. G. G. Kondratenko, Ph.D in Med., Assoc. Prof. A. I. Protasevich

Литература

1. Хитин и хитозан: получение, свойства и применение / под ред. К.Г. Скрябина, Г.А. Вихоревой, В.П. Варламова. – М.: Наука, 2002. – 368 с.
2. J.P. Garner, P.S.J. Heppell. Cerium nitrate in the management of burns / J.P. Garner, P.S.J. Heppell // *Burns* 31. – 2005. - №5. – P. 539–547.
3. Экспериментальное обоснование и перспективы использования раневых покрытий с нановолокнами хитозана / В. Д. Меламед [и др.] // Тезисы XII Съезда хирургов России, Ростов-на-Дону, 7–9 окт., 2015 г. Альманах Института хирургии им. А. В. Вишневского. - 2015. - № 2. - С. 1190–1191.
4. Прокопчук Н. Р., Меламед В. Д., Прищепенко Д. В. Инновационные раневые покрытия с нановолокнами хитозана / Н. Р. Прокопчук, В. Д. Меламед, Д. В. Прищепенко // *Труды БГТУ*. – 2017. – серия 2. - №1. – С. 15-22.
5. Абаев Ю.К. Справочник хирурга. Раны и раневая инфекция / Ю. К. Абаев. - Ростов на Дону: Феникс, 2006. - 427 с.

РЕПОЗИТОРИЙ БГМУ