

УДК 615.281-546.57-541.8-576.8.06

## АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ ВОДНЫХ ДИСПЕРСИЙ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ МИКРООРГАНИЗМЫ (НА ПРИМЕРЕ *ESCHERICHIA COLI*)

Шульгина Т.А., Норкин И.А., Пучиньян Д.М.

*ФГБУ «Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии»  
Минздрава России, Саратов, e-mail: sarniito-nauka@yandex.ru*

Накопление фактических данных о неуклонно возрастающей антибиотикорезистентности микроорганизмов и ее роли в развитии и исходах инфекционного процесса послужило мощным стимулом для разработки новых бактерицидных средств. Одним из перспективных направлений в решении данной проблемы является применение нанобиотехнологий. Проведено экспериментальное исследование антибактериального действия водных дисперсий наночастиц серебра в отношении 10 клинических штаммов кишечной палочки, в ходе которого в сравнительном аспекте изучено действие водных растворов: наночастиц серебра, поверхностно-активного вещества АОТ (диактилсульфосукцинат натрия) и соли  $AgNO_3$ . Установлено, что характер влияния водных растворов наночастиц серебра на рост клинических штаммов и выраженность антибактериального эффекта прямо пропорционально зависят от их концентрации. Поверхностно-активное вещество АОТ как самостоятельный реагент не оказывает выраженного бактерицидного воздействия на опытную культуру.

**Ключевые слова:** *Escherichia coli*, водные растворы, наночастицы, серебро

## ANTIBACTERIAL EFFECT OF AQUEOUS DISPERSIONS OF SILVER NANOPARTICLES ON THE GRAM-NEGATIVE MICROORGANISMS (ON EXAMPLE OF *ESCHERICHIA COLI*)

Shulgina T.A., Norkin I.A., Puchinan D.M.

*Federal state-financed organization «Saratov research institute of traumatology and orthopaedics»  
Department of health and social development of Russian Federation,  
Saratov, e-mail: sarniito-nauka@yandex.ru*

Accumulation of real data about steady rising of antibiotic resistance of microorganisms and its role in development and outcome of infections process served powerful stimulus for working out of new bactericidal agents. One of the perspective ways in solving this problem is the use of nanobiotechnologies. An experimental study of the antibacterial action of aqueous dispersions of silver nanoparticles against 10 clinical strains of *E. coli* was carrying out. In a comparative aspect studied action of aqueous solutions: silver nanoparticles, surface-active agent AOT (sodium diaktilsulfosuksinat) and salt of  $AgNO_3$ . Found that the nature of the influence of silver nanoparticles aqueous solutions on the growth of clinical strains and the severity of the antibacterial effect is directly proportional to depend on their concentration. Surface active agent AOT as an independent agent does not have a pronounced bactericidal effect on the experimental culture.

**Keywords:** *Escherichia coli*, aqueous solutions, nanoparticles, silver

В настоящее время явление антибиотикорезистентности стало одной из важнейших проблем в медицине. Увеличение устойчивости к антибактериальным препаратам определяется разными причинами: изменением проницаемости клеточной оболочки бактерий для антибактериальных препаратов; изменением свойств мишеней, которые становятся невосприимчивыми к бактерицидному действию какого-либо препарата; эфлюксом препарата из микробной клетки; образованием микробной клеткой специфических энзимов, которые модифицируют химическую структуру лекарственных средств вплоть до утраты ими антимикробной активности [3, 4, 5, 6, 7, 9].

Накопление фактических данных о неуклонно возрастающей антибиотикорезистентности микроорганизмов и ее роли в развитии и исходах инфекционного процесса послужило мощным стимулом для разработки новых бактерицидных средств

[1]. Одним из перспективных направлений в решении данной проблемы является применение нанобиотехнологий, направленных на совершенствование специфических свойств наночастиц металлов, определяемых их структурной модификацией, что позволяет достигать различных биологических эффектов, в том числе и антибактериальных. Модификация структуры наночастиц металлов зависит от использованного способа химического синтеза, который определяет их физические и химические свойства, а также стабильность в наноразмерном состоянии. В работах Е.М. Егоровой доказано получение стабильных дисперсий наночастиц не только в органическом растворителе, но и в полярных средах, прежде всего, в воде. Методом биохимического синтеза ею разработана методика получения водных дисперсий наночастиц из их мицеллярных растворов. Таким способом были получены водные дис-

персии наночастиц серебра, золота, меди и цинка [2, 8].

Целью настоящего исследования явилось изучение антибактериального действия водного раствора и водного диализованного раствора серебра на клинические штаммы *E.coli* в сравнении с действием поверхностно-активного вещества АОТ (диактилсульфосукцинат натрия), который использовался в качестве стабилизатора и водного раствора соли  $AgNO_3$ .

**Материал и методы исследования**

Экспериментальное исследование проводилось на 10 клинических штаммах *E.coli*.

Водный раствор ( $C_{Ag} = 3,9$  мМ,  $C_{АОТ} = 37$  мМ) и водный диализованный раствор серебра ( $C_{Ag} = 4,3$  мМ,  $C_{АОТ} = 5$  мМ) в концентрациях 3; 2; 1; 0,5; 0,25 и 0,125% добавляли в питательную среду с учетом разведения. В таких же концентрациях были добавлены водные растворы ПАВ АОТ и соли  $AgNO_3$  (все растворы предоставлены ООО НПК «Наномет», г. Москва).

Микробную взвесь готовили из суточной культуры с оптической плотностью 0,1, определяемой на приборе «Densi La Meter». Далее приготовленную взвесь раститровывали до получения конечной концентрации КОЕ  $3 \times 10^4$  в изотоническом растворе хлорида натрия. На чашки Петри с твердой питательной средой высевали по 100 мкл раститрованной микробной взвеси и термостатировали в течение 24 часов. Подсчёт колоний проводили на следующий день.

Статистическая обработка проведена с подсчетом средних значений ( $M$ ), среднеквадратичных ошибок ( $m$ ) и уровня достоверности ( $p$ ).

**Результаты исследования и их обсуждение**

Проведенное исследование показало прямо пропорциональную зависимость антибактериального эффекта водных дисперсий наночастиц серебра от их концентраций. Эта зависимость проявлялась в разнице абсолютных величин КОЕ на опытных и контрольных чашках (табл. 1).

**Таблица 1**

Антибактериальный эффект водных дисперсий наночастиц серебра на клинические штаммы *E.coli* ( $n = 10$ )

Опытные растворы	Контроль	3%	2%	1%	0,5%	0,25%	0,125%
	Число колоний						
Водный ( $C_{Ag} = 3,9$ мМ, $C_{АОТ} = 37$ мМ)	685,0 ± 58,7	-	-	-	3,2 ± 1,1***	72,1 ± 24,8***	198,0 ± 46,3***
Водный диализованный ( $C_{Ag} = 4,3$ мМ, $C_{АОТ} = 5$ мМ)	820,6 ± 81,2	-	-	-	25,4 ± 7,3***	241,7 ± 79,1***	707,0 ± 76,3***

Примечания :

\*\*\*  $p < 0,001$  по отношению к контрольной группе;  
«-» – отсутствие роста на чашках.

Данные, представленные в табл. 1, показывают, что бактериальный рост полностью прекращался при действии 3, 2, 1%-х водных растворов и водных диализованных растворов наночастиц серебра. Статистически достоверное снижение количества КОЕ на твердой питательной среде отмечалось при действии концентраций 0,5; 0,25 и 0,125% одного и другого растворов наночастиц серебра ( $p < 0,001$ ).

Однако более выраженный антибактериальный эффект наблюдался при действии 0,5%-го водного раствора наночастиц серебра ( $p < 0,001$ ): количество колоний снижалось до 3.

Водный раствор стабилизатора АОТ, который является одним из составляющих данных растворов, и водный раствор соли ( $AgNO_3$ ) использовали как самостоятельные реагенты (табл. 2).

**Таблица 2**

Действие водных растворов стабилизатора и соли серебра на клинические штаммы *E.coli* ( $n = 10$ )

Опытные растворы	Контроль	3%	2%	1%
	Число колоний			
Водный раствор АОТ ( $C_{АОТ} = 30$ мМ)	926,2 ± 55,2	459,1 ± 96,3***	557,7 ± 103,2**	580,4 ± 87,4**
Водный раствор $AgNO_3$ ( $C_{Ag} = 4,3$ мМ)	926,8 ± 55,2	266,1 ± 114,5***	365,7 ± 100,2***	823,0 ± 95,0

Примечания : \*\*\*  $p < 0,001$ ; \*\*  $p < 0,01$  по отношению к контрольной группе.

Как видно из данных, представленных в табл. 2, при действии водного раствора АОТ статистически достоверное снижение количества бактериальных колоний на твердой питательной среде наблюдали при концентрациях 3% ( $p < 0,001$ ), 2% ( $p < 0,001$ ), 1% ( $p < 0,01$ ), а при действии водного раствора соли  $\text{AgNO}_3$  только в концентрациях 3 и 2% ( $p < 0,001$ ).

При использовании водного раствора АОТ в концентрациях 0,5; 0,25; 0,125% статистически достоверных различий не выявлено и при действии водного раствора соли  $\text{AgNO}_3$  в концентрациях 1; 0,5; 0,25; 0,125% различий не отмечено.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что водные растворы стабилизатора АОТ и соли  $\text{AgNO}_3$  оказывают антибактериальное действие только при относительно высоких концентрациях, которые не применяются при использовании водных дисперсий наночастиц серебра.

Таким образом, антибактериальное действие наночастиц серебра в составе водных дисперсий очевидно, что позволяет рассматривать их в качестве перспективного бактерицидного средства.

Полученные нами сведения об антибактериальном эффекте различных концентраций водных дисперсий наночастиц серебра на клинические штаммы *E. coli* коррелируют с данными, приводимыми Е.М. Егоровой (2010). В цитируемом исследовании использовались водные растворы наночастиц серебра, имеющие в своем составе различные стабилизаторы, которые вводились непосредственно в водные суспензии, содержащие известные концентрации музейных штаммов *E. coli*. Это позволило автору обосновать антибактериальное действие наночастиц серебра вне зависимости от вида применяемого стабилизатора. Однако результаты проводимого экспериментального исследования не отражают достаточного антибактериального эффекта, необходимого в практическом применении. Согласно нашим экспериментальным данным антимикробная активность достоверно выражена и при исследовании клинических штаммов *E. coli* в зависимости от диапазона концентраций наночастиц серебра.

#### Выводы

1. При действии 3, 2, 1%-х водных растворов и водных диализованных растворов наночастиц серебра рост бактериальных клеток *E. coli* не наблюдается.

2. Наибольшей антибактериальной активностью в отношении клинических штаммов *E. coli* из представленных водных дисперсий наночастиц серебра обладают как водный, так и водный диализованный растворы в концентрации 0,5%. Наибольшая антибактериальная активность отмечена при действии 0,5%-го водного раствора наночастиц серебра.

3. Рост колоний клинических штаммов *E. coli* отмечен при действии водных растворов ПАВ АОТ и  $\text{AgNO}_3$  в концентрациях 3, 2, 1%. Низкие концентрации не оказывают антибактериального эффекта.

#### Список литературы

1. Нанобиотехнология и наномедицина / А.И. Арчаков, О.М. Ипатова, Н.В. Медведева, Ю.Д. Иванов, А.И. Дрожжин // Биомедицинская химия. – 2006. – № 6. – С. 529–546.
2. Бактерицидные и каталитические свойства стабильных металлических наночастиц в обратных мицеллах / Е.М. Егорова, А.А. Ревина, Т.Н. Ростовщикова, О.И. Киселева // Вестник Московского университета. Серия 2. Химия. – 2001. – Т. 42, № 5. – С. 332–334.
3. *Escherichia coli* как возбудитель нозокомиальных инфекций в ОРИТ / Г.К. Решедько, А.Г. Щепников, М.В. Морозов, Л.А. Решедько // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2011. – № 4. – С. 314–321.
4. Супотницкий М.В. Механизмы развития резистентности к антибиотикам у бактерий // Биопрепараты. – 2011. – № 2. – С. 44.
5. Хмель И.А., Кокшарова О.А., Радциг М.А. Антибактериальные эффекты ионов серебра: влияние на рост грамотрицательных бактерий и образование биопленок // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2009. – № 4. – С. 27–31.
6. Яковлев В.П., Яковлев С.В., Цефоперазон, цефоперазон/сульбактам. Антибиотики группы цефалоспоринов. – М.: Дипак, 2008. – 184 с.
7. Яковлев С.В., Суворова М.П. Обоснование антибактериальной терапии нозокомиальных инфекций, вызванных полирезистентными микроорганизмами // Клиническая фармакология и терапия. – 2011. – № 2. – С. 24–34.
8. Egorova E.M. Biological effects of silver nanoparticles // Silver nanoparticles: Properties, Characterization and Applications. (Ed. by Audrey E. Welles). Nova Science Publishers. – New York, 2010. – P. 221–258.
9. Moellering R.C., 1993 Meeting the challenges of beta-lactamases J. Antimicrob Chemoter. 1993. – 31. – Suppl. A. – P. 1–8.

#### References

1. Archakov A.I., Ipatova O.M., Medvedeva N.V., Ivanov U.D., Drozhin A.I. Nanobiotexnologiya i nanomeditsina // Biomeditsinskaya khimiya, 2006, no. 6, pp. 529–546.
2. Egorova E.M., Revina A.A., Rostovschikova T.N., Kiseleva O.I. Bakteritsidnye i kataliticheskie svoystva stabilnykh metallicheskikh nanochastits v obratnykh mitsellakh // Vestnik Moskovskogo universiteta. Series 2. Khimiya, 2001, vol. 42, no. 5, pp. 332–334.
3. Reshedko G.K., Schebnikov A.G., Morozov M.V., Reshedko L.A. *Escherichia coli* kak vzbuditel nozokomialnykh infektsiy v ORIT // Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya, 2011, no. 4, pp. 314–321.
4. Supotnitskiy M.V. Mekhanizmy razvitiya rezistentnosti k antibiotokam u bakteriy // Biopreparaty, 2011, no. 2, pp. 44.
5. Khmel I.A., Koksharova O.A., Radtsig M.A. Antibakterialnye Antibakterialnye efekty ionov srebra: vliyaniye na rost gramotritsatelnykh bakteriy i obrazovanie bioplenok // Molekulyarnaya genetika, mikrobiologiya i virusologiya, 2009, no. 4, pp. 27–31.
6. Yakovlev V.P., Yakovlev S.V. Tsefoperazon, tsefoperazon/sulbaktam. Antibiotiki gruppy tsefalosporinov. M., Dipak, 2008, 184 p.
7. Yakovlev S.V., Suvorova M.P. Obosnovanie antibakterialnoy terapii nozokomialnykh infektsiy, vyzvannykh polirezistentnyimi mikroorganizmami // Klinicheskaya farmakologiya i terapiya, 2011, no. 2, pp. 24–34.
8. Egorova E.M. Biological effects of silver nanoparticles // Silver nanoparticles: Properties, Characterization and Applications. (Ed. by Audrey E. Welles). Nova Science Publishers. New York, 2010. pp. 221–258.
9. Moellering R.C., 1993 Meeting the challenges of beta-lactamases J. Antimicrob Chemoter. 1993. 31. Suppl. A. pp. 1–8.

#### Рецензенты:

Гладилин Г.П., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой клинической лабораторной диагностики ГБОУ ВПО «СГМУ им. В.И. Разумовского Минздравсоцразвития России», г. Саратов;

Тахтамыш М.А., д.м.н., заведующий 5-м хирургическим отделением МУЗ «Городская клиническая больница № 2 им. В.И. Разумовского», г. Саратов.

Работа получена редакцией 30.05.2012.