

УДК: 636.09:615.038:615.282:636.028

Н. А. ПАРХОМЕНКО, кандидат біологічних наук

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів (ДНКІБШМ)

Л. О. САХНО, кандидат біологічних наук

Інститут експериментальної патології, онкології і радіології ім. Р.Є Кавецького НАНУ

В. І. РЯБУШКО, доктор. біологічних. наук

Інститут біології південних морів ім. О.О. Ковалевського НАНУ

Н. І. ОСИПЕНКО, доктор технічних наук

С. Л. ЗАХАРОВА

Університет економіки та торгівлі ім. Туган-Барановського.

АНТИБАКТЕРІАЛЬНА ЕФЕКТИВНІСТЬ СРІБЛОУТРИМУЮЧОГО ЗАСОБУ АРГОДЕРМ В КОМПОЗИЦІЇ З ВОЛОКНИСТИМИ МАТЕРІАЛАМИ СПАНБОНД ТА АУВМ «ДНЕПР»-МН

*Проведені дослідження антибактеріальної активності срібло утримуючого препарату аргодерм проти стійкого до антибіотиків мікроорганізму *Pseudomonas aeruginosa* окремо і в композиції з волокнистими матеріалами: нетканим спанбоном та вуглецевим АУВМ «Днепр»-МН. Такі композити можуть бути застосовані як антисептичні для лікування шкірних захворювань і інфікованих ран*

Резистентність патогенних мікроорганізмів до антибіотиків вимагає розробки альтернативних засобів. Одним з перспективним напрямків в цьому плані є використання срібла і композитів з ним [1, 2] Популярність срібла завдяки розвитку та широкому впровадженню нанотехнологій останнім часом значно виросла. Одним із вітчизняних продуктів, який містить наносрібло, є аргодерм у формах спрею та геля підприємства «Мерікон» (м.Севастополь), який успішно пройшов клінічні випробування в медичних закладах України як антисептичний засіб. Композиції аргодерма з іншими медичними засобами можуть розширити можливості його використання, зокрема у ветеринарній медицині для лікування неінфікованих і інфікованих ран бактеріальної та грибової природи, а також для профілактики інфекційно-запальних ускладнень [3, 4]. В світі, зокрема в Китаї, розроблені різноманітні композиційні засоби на основі вуглецевих носіїв з наносріблом [5, 6]. На вітчизняних теренах виготовляється активований волокнистий вуглецевий матеріал АУВМ «Днепр»-МН, який є унікальним за сорбційно-кінетичними характеристиками: забезпечує швидке поглинання з рани продуктів білкового катаболізму та протеолізу, бактеріальних ендотоксинів, біогенних амінів та медіаторів запалення [7-9]. Іншим волокнистим матеріалом є полотно спанбонд, яке, крім медицини, використовується в сільському господарстві та будівництві.

Метою досліджень було розширення сфери застосування як в гуманній, так і у ветеринарній медицині даних композитів. На базі ДНКІБШМ нами проведено випробування антибактеріальної активності аргодерму проти стійкого до антибіотиків мікроорганізму *Pseudomonas aeruginosa* (синьогнійна паличка) окремо і в композиції з вище названими матеріалами

Матеріали і методи. Для попереднього уточнення бактерицидних концентрацій засобу аргодерм його в різних розведеннях вносили у МПБ, до якого потім додавали по одній краплині суспензію клітин *Pseudomonas aeruginosa*. Посіви витримували за оптимальних умов в термостаті ($37\pm 1^\circ\text{C}$) [10]. Оптичну щільність суспензії на 18 годину від посіву визначали за денситаметром. Відносну величину ЛД₅₀ на цей момент розраховували методом лінійної інтерполяції в комп'ютерній програмі Microsoft Excel.

Випробування антибактеріальної ефективності композицій носіїв з аргодермом проводили на МПА в чашках Петрі. Останні інокулювали мікробною суспензією густиною близько 1 млн. клітин/мл. Зразки полотна спанбонд та матеріалу АУВМ розміром 2 x 2 см просочували аргодермом, розведеним у 2 – 10 разів та розкладали на агарі. Через певний час зразки знімали, а чашки витримували в термостаті дві доби. Облік колонієутворюючих одиниць (КУО) проводили щоденно за кількістю колоній, що утворились на місцях, де були зразки. Ефективність препарату визначали за фактом зниження кількості КУО в порівнянні з контролем (фоном).

Результати досліджень. Дослідження показали, що зниження біомаси *Pseudomonas aeruginosa* на 50% відносно контролю відповідало вмісту в середовищі аргодерму близько 0,1% (за препаратом). Повністю припинявся розвиток культури, якщо концентрація перевищувала 0,25% (рис. 1).

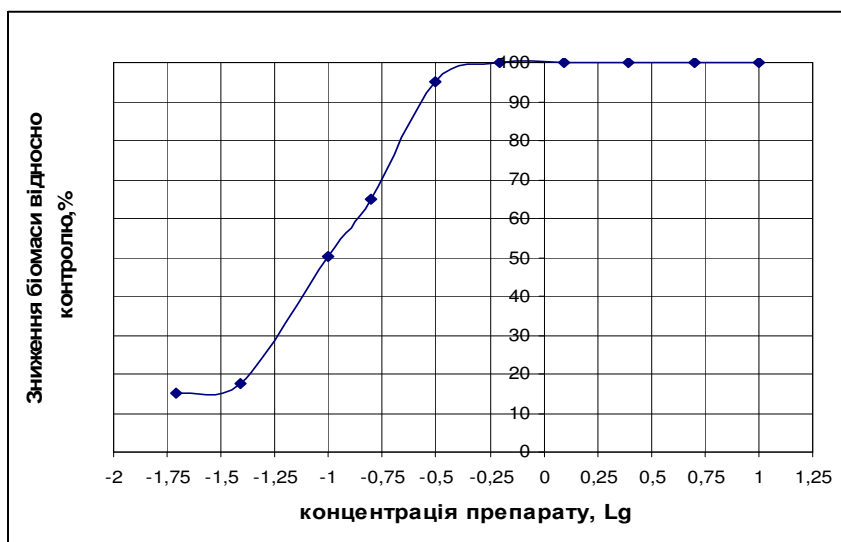


Рис. 1 Визначення ЛД₅₀ аргодерму відносно *Pseudomonas aeruginosa* (на 18 годину в МПБ за зниженням біомаси)

Аналіз результатів дослідів з обома матеріалами показав високу кореляцію між концентрацією засобу аргодерм і його бактерицидним ефектом: коефіцієнт детермінації R^2 становив 0,95. За дві години, що композити знаходились в контакті з мікробними клітинами, відбувався суттєвий вплив аргодерму на ріст культури синьогнійної палички. Так, розведення аргодерму у 8 і 10 разів викликало зменшення кількості КУО більш, ніж на 80% (табл. 1 та 2).

Вплив аргодерму в поєднанні з матеріалом спанбонд на кількість живих клітин *Pseudomonas aeruginosa*

Розведення аргодерму, рази	Кількість КУО за повторностями, шт.		Ефективність відносно фону, %		
	1	2	1	2	Середнє, %
0	0	0	100	100	100,0
2	3	12	99,4	98	98,7±0,7
4	40	45	92	91	91,5±0,5
8	55	60	89	88	88,5±0,5
10	67	85	86,6	83	84,8±1,8
$R^2 = 0,95$					

У наступному досліді, де використовували аргодерм на полотні спанбонд в концентраціях за сріблом 0,05 та 0,1%, чисельність клітин тест-культури суттєво залежала не тільки від вмісту аргодерму, але й від тривалості контакту мікробних клітин із композитом (рис. 2).

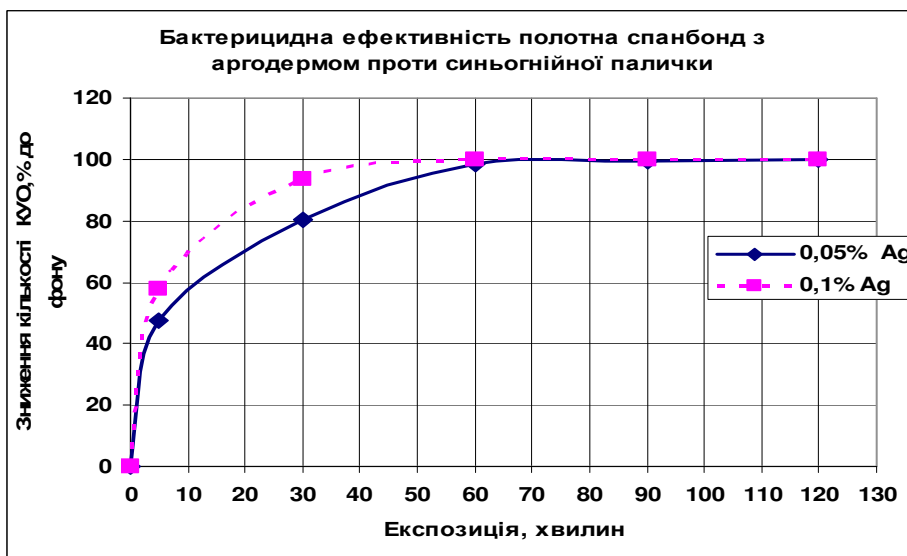


Рис. 2 Залежність антибактеріального ефекту полотна спанбонд з засобом аргодерм від тривалості контакту з культурою *Pseudomonas aeruginosa*

У наших дослідженнях з волокнистим вуглецевим матеріалом АУВМ «Днепр»-МН (АУВМ), просоченим антисептичним засобом аргодерм в різних розведеннях, отримані дані, що свідчать про високу антибактеріальну активність композиції (табл. 2). В порівнянні з попереднім дослідом із спанбондом відмічена суттєва особливість: двогодинна присутність на МПА зразків АУВМ навіть без аргодерму сприяла зниженню кількості колоній синьогнійної палички, що утворились на агарі, на 50%. Присутність срібла підвищувала ефективність композиції ще на 30-50%.

Кількість колоній синьогнійної палички після контакту з засобом аргодерм у складі композиції з вуглецевим матеріалом АУВМ «Днепр»-МН (тривалість контакту – 2 години)

Розведення аргодерму, рази	Середня кількість КУО на квадратах агару 2 x 2 см	Ефективність відносно фону, %
0	0	100
2	27±1	97±2
4	80±2	90±1
8	175±5	80±3
АУВМ без аргодерму	410±14	50±6
Без сорбенту (фон)	800±20	-
$R^2 = 0,95$		

Результати отриманих нами даних в цих і попередніх досліджах вказують на перспективність використання композитів аргодерму з волокнистими матеріалами як при лікуванні ран, так і шкірних захворювань, що викликані бактеріальними й грибними патогенами.

Висновки: 1. Мінімальна бактерицидна концентрація аргодерму відносно тест-культури *Pseudomonas aeruginosa* у рідкому середовищі становить 0,25% за препаратом.

2. Мінімальна експозиція, при якій відмічений бактериостатичний ефект композицій аргодерму з волокнистими носіями спанбонд та вуглецевий матеріал АУВМ «Днепр»-МН, дорівнює 5 хвилинам. Їх двогодинний контакт забезпечував 100% знешкодження мікробних клітин синьогнійної палички на середовищі МПА при концентрації срібла більше 0,05 %.

3. Волокнисті матеріали спанбонд і АУВМ в поєднанні з аргодермом можуть бути використані як апікаційні антисептичні композити для механічного захисту ран, санації та детоксикації.

Список використаної літератури:

1. *Ovington L. G.* The truth about silver./ *L. G. Ovington* // *Ostomy Wound Manage.* – 2004. – 50 (9A).–1S-10S.

2. *Furr J. R.* Antibacterial activity of Actisorb Plus, Actisorb and silver nitrate/ *J. R.Furr, A. D. Russel, T. D.Turner, A. Andrews* // *J. Hosp. Infect.* – 1994. – 27(3). – P. 201-208.

3. *Белявцева Н. І.* Ефективність препарату аргодерм проти *Microsporium canis.* / *Н. І. Белявцева, Н. А. Пархоменко, В. І. Рябушко* //36. мат. наук.-практ. конф. «Лабораторні дослідження як інструмент забезпечення епізоотичного благополуччя та безпеки харчових продуктів». – Київ, 26-27 вересня 2012. – С. 15-16.

4. *Колесник Н. І.* Ефективність нанопорепарату «аргодерм» щодо дерматофітів *in vitro*/ *Н. І. Колесник, Н. А. Пархоменко, В. Г. Скрипник, В. І. Рябушко* // *Ветеринарна медицина України.* – №4. – 2012. – С.9-10.

5 *Liling Wang, Zhongzhi Li, Lei Tang.* Медична композиційна антибактеріальна пов'язка та метод її виготовлення // Пат. № 101537204 CN, 2008.

6. Song Jianxing Wu. Медичний композиційний антибактеріальний матеріал з активованого вуглецевого волокна і наносрібла та метод його виготовлення // Пат. № 1726782 CN, 2006.

7. Eretskaya E.V., Sakhno L.A., Nikolaev V.G. Application sorption: experience in clinical use and prospects of development. Biomater Artif Cells Immobil. Biotechnol. – 1991. – 19(1). – P. 129-145.

8. Sakhno L. A., Basic studies of local adsorption in burn treatment/ L. A. Sa-khno, V. G. Nikolaev, I. A. Lozinskaya, V. M. Yudin, S. I. Vovyanko // Biomater Artif Cells Immobil. Biotechnol. – 1991. – 19(1). P. 111-128.

9. Sakhno L. New copper-containing compositematerial of multidirectional bactericidal effect / L. Sakhno, S. Kosakovsky, S. Trush, V.Nikolaev // Int. J. Artif. Organs. – 1997. – 20(9). – P. 517.

10. Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для оценки их эффективности и безопасности. Методическое руководство Р 4.2. 2643 -10;М., 2010 – С. 126-130.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ СЕРЕБРО-СОДЕРЖАЩЕГО СРЕДСТВА АРГОДЕРМ В КОМПОЗИЦИИ С ВОЛОКНИСТЫМИ МАТЕРИАЛАМИ СПАНБОНД И АУВМ «ДНЕПР»-МН /Н. А.Пархоменко, Л. А. Сахно, В. И. Рябушко, Н. И. Осипенко, С. Л. Захарова

Проведены исследования антибактериальной эффективности серебросодержащего препарата аргодерм в отношении резистентного к антибиотикам микроорганизма Pseudomonas aeruginosa отдельно и в композициях с волокнистыми материалами: нетканым спанбондом и углеродным «Днепр»-МН. Такие композиты могут быть использованы для лечения кожных заболеваний и инфицированных ран.

ANTIBACTERIAL EFFICIENCY OF NANOSILVER PREPARATION ARGODERM IN COMPOSITIONS WITH FIBROUS MATERIALS SPUNBOND AND «DNEPR»-MN / N.A.. Parkhomenko, L.A. Sakhno, VI. Riabushko, N.I. Osipenko,S.L. Zakharova

It is tested an antibacterial activity of nanosilver preparation Argoderm against resistant to antibiotics pathogen Pseudomonas aeruginosa separately and in compositions with fibrous materials: non-woven spunbond and carbon «Dnepr»-MN. Such composites may be use as antiseptics for treat skin diseases and infected wounds.

Рецензент – доктор сільськогосподарських наук В. О. Постоєнко