

ЭФФЕКТ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА В ОТНОШЕНИИ БИОПЛЕНОК
МИКРООРГАНИЗМОВ (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)

П. Г. ГЛАДКИХ

*Медицинский институт, Тульский государственный университет,
ул. Болдина, 128, Тула, Россия, 300012, e-mail: pavel-170@mail.ru*

Аннотация. Нанотехнологии все прочнее укореняются во всех сферах жизнедеятельности человека, в частности, в медицине. Использование достижений нанопрогресса позволяет применять различные наноструктуры в традиционных методах лечения разнообразных патологий. Растущая резистентность к антибиотическим препаратам среди патогенных для человека штаммов микроорганизмов требует разработки альтернатив. Наночастицы серебра являются актуальными претендентами на роль альтернативы современным антибиотикам. Они способны доставлять терапевтические агенты, воздействуют на мембраны микробных клеток, нарушая их жизнедеятельность и приводя к гибели, также они менее токсичны чем ионы серебра. Использование наночастиц является эффективным средством в борьбе с образующимися на медицинских принадлежностях биопленками, и в качестве предупреждения их образования. Наночастицы положительно зарекомендовали себя в борьбе со многими резистентными к антибиотикам штаммами микроорганизмов, в том числе планктонной фазы *P. Aureginosa*. Также может наблюдаться эффект синергизма при одновременном использовании наночастиц и различных антибиотиков. Антибактериальные свойства были изучены на экспериментальных моделях перитонита и менингоэнцефалита. В случае перитонита показана высокая эффективность.

Ключевые слова: наночастицы серебра, резистентность, биопленки, штаммы, бактерии, нанотехнологии.

EFFECT OF SILVER NANOPARTICLES ON BIOFILMS OF MICROORGANISMS (REVIEW)

P.G. GLADKIH

Medical institute, Tula state University, Boldina st, 128, Tula, Russia, 300012, e-mail: pavel-170@mail.ru

Abstract. Nanotechnology enter in all spheres of human activity, particularly in medicine. Using nanoprogress allows the use of various nanostructures in the traditional methods therapy of various pathologies. The growing resistance to antibiotic drugs among human pathogens strains of microorganisms requires the development of alternatives. Silver nanoparticles are current contenders for the role of an alternative to modern antibiotics. They are able to transfer therapeutic agents, act on the membrane of microbial cells, disrupting their livelihoods and leading to death, as they are less toxic than silver ions. The use of nanoparticles is an effective tool in combating formed biofilms on medical supplies, and prevent to their education. Nanoparticles have proved positively against many antibiotic-resistant strains of microorganisms, including planktonic phase *P. aureginosa*. Synergistic effect observed while using of nanoparticles and various antibiotics. Antibacterial properties studied in experimental models of peritonitis and meningoencephalitis. In case of peritonitis high efficiency.

Key words: silver nanoparticles resistance, biofilm, strains, bacteria, nanotechnology.

Область нанотехнологий в научном и технологическом знании за достаточно короткий срок внедрилась в медицинскую сферу деятельности человека. Нанопрогресс позволил использовать многие новшества в традиционных методах лечения различных патологий. Одним из этих новшеств является использование разнообразных наноструктур, обладающих специфическими свойствами.

Наночастицы различных материалов применяются повсеместно – от пищевой, химической и медицины промышленности. В последнем случае наибольший интерес как для ученых, так и для специалистов – практиков проявляют препараты, содержащие частицы наносеребра, которые обладают специфическими свойствами по отношению к развитию различных заболеваний человеческого организма [1,19].

Сегодня актуальной проблемой является разработка химиотерапевтических препаратов, являющихся альтернативой антибиотикам, так как в мире наблюдается резкое увеличение количества резистентных штаммов [11, 13, 15-18].

Антибактериальные свойства серебра известны очень давно. Катионы серебра Ag^+ использовались в качестве противомикробного агента ранее и сейчас активно находят свое применение для профилактики и лечения бактериальных инфекций. Нитрат серебра ($AgNO_3$) используется в качестве профилактики

Библиографическая ссылка:

Гладких П.Г. Эффект наночастиц серебра в отношении биопленок микроорганизмов // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2015. №1. Публикация 3-4. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-1/5108.pdf> (дата обращения: 25.02.2015).

офтальмологических заболеваний новорожденных (неонатальный конъюнктивит). Новые разработанные более эффективные препараты, содержащие Ag^+ , широко используются для профилактики и лечения инфекционных и хронических язв, и ожогов. В 2009 году было подсчитано, что 15 тонн Ag^+ были включены в медицинские препараты по всему миру. Обладая антимикробным действием Ag^+ широко применяется за пределами медицинских учреждений, посредством включения в средства личной гигиены, текстиль и системы очистки воды [20].

Однако, наночастицы серебра выступают более перспективными агентами на роль альтернативы антибиотикам. В доступной литературе не встречается данных о формировании резистентности микроорганизмов к наночастицам серебра [4-7].

В ходе проведенной научно исследовательской работы по изучению антибактериальной активности препаратов наносеребра было показано, что AgNPs воздействует на проницаемость бактериальных мембран и адгезию бактерий к мембране клетки. Также AgNPs воздействует на мембранные и внутриклеточные белки бактерий, остатки фосфорной кислоты и ДНК, деформирует деление клеток, приводя к их гибели [14]. Под особым научным наблюдением оказались биопленки в качестве основной формы существования большинства микроорганизмов при инфекционных заболеваниях человека [12]. Формирующаяся ветвь медицины требует разработки методов, направленных на предупреждение образования биопленок и ликвидацию образовавшихся [3].

Еще одной важной особенностью AgNPs является эффективность воздействия на широкий круг микроорганизмов, выраженный антибиопленочный эффект и отсутствие выработки реакции резистентности. Применение AgNPs в стоматологии [7] показало повышенную активность в отношении микроорганизмов и биопленок, по сравнению с хлоргексидином и нитратом серебра [3].

Также, согласно клиническим исследованиям, образование биопленок на катетерах, покрытых AgNPs почти полностью предотвращалось. Было установлено, что антимикробная функция AgNPs, нанесенного на медицинские изделия, сглаживается, если изделия покрываются мертвыми микроорганизмами или макромолекулами [3].

Хорошо известен тот факт, что серебро как в ионной форме, так и в составе соединений обладает высокой токсичностью для микроорганизмов и ввиду этого оказывает сильное бактерицидное действие на многие штаммы бактерий, включая и грамотрицательные микроорганизмы, например, *Escherichia coli*. Было доказано, что гибриды наночастиц серебра с амфифильными сверхразветвленными макромолекулами обеспечивают получение эффективных противомикробных поверхностных покрытий. Изучение стабильных водных дисперсий наночастиц серебра в виде нетоксичных элементарных гидрозолей выявило сильное бактерицидное действие на *E. coli* (концентрация 50 мкг/см^3 , вызывает 100% ингибирование роста бактерий). Кроме того, в эксперименте установлено, что наночастицы серебра аккумулируются в бактериальных мембранах, взаимодействуя с определенными строительными элементами бактериальной мембраны, что влечет за собой структурные изменения, разрушение и гибель клетки. Также полностью приобретает отрицательный заряд поверхность бактериальной мембраны на уровне биологических величин pH из-за диссоциации избыточного количества карбоксильных и иных групп. Предполагается, что наночастицы серебра, внедренные в углеродную матрицу мембраны, вырабатывают поверхностный заряд благодаря своему движению и трению внутри матрицы, поэтому электростатические силы могут быть причиной взаимодействия наночастиц с бактериями. Более того, серебро проявляет тенденцию к более близкому сродству для взаимодействия с соединениями фосфора и серебра, содержащимися в мембране, а также в ДНК. Третьим возможным видом взаимодействия является высвобождение ионов серебра, которые могут еще более содействовать бактерицидному действию наночастиц серебра [21].

В отношении часто используемых антибиотиков AgNPs проявляет неоднозначный эффект. Посредством использования метода вестерн-блоттинга определен эффект синергизма наночастиц и рифампицина, тетрациклина, ампициллина, стрептомицина, против планктонных фаз *P. aureginosa*. При совместном использовании AgNPs одновременно с цефтазидима, оксациллина, ципрофлоксацина, меропонема эффекта синергизма не обнаружено. При изучении воздействия AgNPs на штаммы *P. aureginosa* с множественной лекарственной устойчивостью установлено, что концентрация 20 мг/мл вызывает у чувствительных штаммов подавление биопленок в 67% случаев применения, а у резистентных – в 56% случаев применения [3].

При анализе сравнительного эффекта гентамицина и гибрида AgNPs и наноразмерных силикатных пластинок (наногибрид) в отношении *P. aureginosa* обнаружено, что наногибрид при использовании in

Библиографическая ссылка:

Гладких П.Г. Эффект наночастиц серебра в отношении биопленок микроорганизмов // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2015. №1. Публикация 3-4. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-1/5108.pdf> (дата обращения: 25.02.2015).

in vitro уменьшал распространение биопленок и вызывал массивную гибель поверхностных клеток с отслоением многослойных биопленок (в сравнении с эффектом гентамицина). In vivo эффект существенный лечебный эффект наногрида показан на инфекциях роговицы, вызывая отслоение биопленок с поверхности роговицы, при этом способствуя восстановлению ее целостности [3].

Изучены противомикробные свойства наноконструктивных систем на примере лактазамещенного хитозана и AgNPs (Chitlac-nAg). Ряд разведений коллоидного раствора исследовалась на планктонных фазах *S. mitis*, *S. mutans*, *S. oralis*, образцах слюны и росте биопленок [8]. Для планктонных фаз определены бактерицидный и ингибирующий эффекты для всех стрептококковых штаммов в концентрации 0,1%, кроме *S. mitis*, для которого ингибирующая концентрация оказалась на порядок ниже. Субингибирующая концентрация коллоидного раствора для стрептококковых штаммов имеет дозозависимый характер, типично присущий метаболически активным биопленкам [10].

Часто исход антибиопленочной активности AgNPs зависит от формы их применения. При использовании в виде геля положительное действие оказалось выше. При изучении воздействия AgNPs на формирующиеся на корневом дентине биопленки *E. faecalis* показано, что орошение 0,1% раствором AgNPs не вызвало существенных изменений в структуре биопленки и жизнеспособности бактерий (в сравнении с обработкой стерильным солевым раствором). При обработке биопленок 0,02% гелем AgNPs нарушалась целостность структуры биопленки и снижалось количество жизнеспособных бактерий (по сравнению с 0,01% гелем AgNPs и раствором гипохлорита) [3].

В экспериментах по изучению антибактериальных свойств наночастиц серебра в тканях животных на модели перитонита и менингоэнцефалита анализировалась эффективность AgNPs при пероральном введении препарата. На модели перитонита была показана достоверная антибактериальная активность AgNPs, тогда как на модели менингоэнцефалита (в применяемых дозировках) не было достигнуто выраженного антибактериального эффекта. Полученные данные, возможно, обусловлены меньшей проницаемостью наночастиц серебра через гематоэнцефалический барьер, в сравнении с органами брюшной полости [3].

Заключение. Анализ доступных литературных данных убедительно демонстрирует эффективность наночастиц в роли антибактериальных агентов. Особенно важным является отсутствие формирования резистентности к наночастицам у микроорганизмов. Наночастицы серебра менее токсичны по сравнению с ионной формой, что расширяет спектр их применения (от дезинфектантов до покрытий поверхностей имплантатов). По данным литературного обзора наночастицы серебра вызывают деструкцию биопленок, сформированных полирезистентными штаммами. Перспективными являются экспериментальные исследования на модели перитонита и менингоэнцефалита in vivo, что позволяет говорить о возможности создания новых лекарственных форм на основе наночастиц серебра.

Литература

1. Де Виндт В., Веркаутерен Т., Вестрате В. Способ получения композиции, содержащей коллоидное наносеребро или нанозолото // Патент № 2460797. Янссен Фармацевтика Н. В. 2010.
2. Хренов П.А., Честнова Т.В. Обзор методов борьбы с микробными биопленками при воспалительных заболеваниях // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2013. №1. Публикация 2-13. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2013-1/4102.pdf> (дата обращения: 01.02.2013).
3. Савин Е.И., Субботина Т.И., Хадарцев А.А., Хренов П.А., Честнова Т.В., Бузулуков Ю.П., Андиферова А. Н. Экспериментальное исследование антибактериальной активности наночастиц серебра на модели перитонита и менингоэнцефалита in vivo // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2014. № 1. Публикация 2-21. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/4793.pdf> (дата обращения: 30.04.2014).
4. Хренов П.А., Честнова Т.В. Эффект диметилсульфоксида в отношении биопленкообразования штаммами *Staphylococcus aureus* // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2014. № 5-1. С. 140–141.
5. Хренов П.А., Честнова Т.В., Адгезивный потенциал грамотрицательной раневой флоры под влиянием препарата «Димексид» // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2014. № 1. С. 92.

Библиографическая ссылка:

Гладких П.Г. Эффект наночастиц серебра в отношении биопленок микроорганизмов // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2015. №1. Публикация 3-4. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-1/5108.pdf> (дата обращения: 25.02.2015).

6. Хренов П.А., Честнова Т.В. Экспериментальное изучение влияния препарата «Димексид» на вирулентные свойства *Staphylococcus aureus* изолированных из ран // Вестник новых медицинских технологий. 2013. Т. 20. № 2. С. 405–408.
7. Трезубов В.Н., Семенов С.С., Афиногенов Г.Е., Афиногенова А.Г., Сапронова О.Н. Создание антибактериального материала, содержащего наносеребро, для базисов съемных зубных протезов // Институт стоматологии. 2010. Т. 2. № 47. С. 22–23.
8. Мосин О. В. Бактерицидные свойства наночастиц коллоидного серебра // Нанотехнологии. Экология. Производство. 2013. № 6 (25). С. 54–59.
9. Хренов П.А., Честнова Т.В. Влияние диметилсульфоксида на адгезивную активность *Staphylococcus aureus* изолированного из ран // Международный журнал экспериментального образования. 2013. № 6. С. 47.
10. Честнова Т.В., Хренов П.А. Показатели гемограммы у детей с острой кишечной инфекцией, выделяющих грибы рода *Candida* // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2013. № 8. С. 162–163.
11. Честнова Т. В., Серегина Н. В. Сравнительный анализ микробного пейзажа возбудителей, выделенных из крови лихорадящих больных // Вестник новых медицинских технологий. 2012. № 2. С. 63–65.
12. Честнова Т. В., Серегина Н. В. Особенности существования бактерий в составе биопленок на примере уропатогенных кишечных палочек // Вестник новых медицинских технологий. 2010. Т. 17. № 4. С. 28–30.
13. Честнова Т.В. Проспективное популяционное изучение заболеваемости гнойными менингитами у детей в возрасте от 5 до 8 лет в городах России // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2009. № 4. С. 33–43.
14. Честнова Т. В., Серегина Н. В., Хромушин В. А. Обзор биофизических особенностей микробной адгезии // Вестник новых медицинских технологий. 2008. Т. 15. № 4. С. 175–178.
15. Честнова Т. В., Серегина Н. В. Изучение влияния ацетонового экстракта органической массы шунгитовой породы на адгезивные свойства энтеробактерий // Вестник новых медицинских технологий. 2008. № 4. Т. 15. С. 168–170.
16. Честнова Т. В., Серегина Н.В. Ингибирование протеолитических и сахаролитических ферментов *Pseudomonas aeruginosa* под действием экстракта шунгита // Вестник новых медицинских технологий. 2008. № 4. Т. 15. С. 167–168.
17. Честнова Т.В., Серегина Н.В. Адаптивные механизмы и устойчивость сальмонелл к действию уксусно-кислотного экстракта органического экстракта органической массы шунгитовой породы // Вестник новых медицинских технологий. 2007. № 4. С. 207.
18. Честнова Т. В., Серегина Н. В. Влияние этанольного экстракта органической массы шунгитовой породы на культуру β -гемолитического стрептококка // Вестник новых медицинских технологий. 2007. № 4. С. 64.
19. Terminology and definitions for nano-objects // Nanoparticle, nanofibre and nanoplate. ISO/TS 27687:2008.
20. Christopher P. Randall, Linda B. Oyama, Julieanne M. Bostock, Ian Chopra and Alex J. O'Neill. The silver cation (Ag^+): antistaphylococcal activity, mode of action and resistance studies // Jour. Antimicrob. Chemother. 2013; 68: P. 131–138.
21. Chen X., Schluesener H. J. Nanosilver: a nanoparticle in medical application // Toxicol. Lett. 2008. V. 176. № 2. P. 359–362.

References

1. De Vindt V, Verkauteren T, Vestrat V. Sposob polucheniya kompozitsii, soderzhashchey kolloidnoe наносеребро ili nanozoloto. Patent № 2460797. Yanssen Farmatsevtika N. V. 2010. Russian.
2. Khrenov PA, Chestnova TV. Obzor metodov bor'by s mikrobnymi bioplenkami pri vospali-tel'nykh zabolovaniyakh. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. Elektronnoe izdanie [Internet]. 2013;1. Russian. Available from: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2013-1/4102.pdf>.
3. Savin EI, Subbotina TI, Khadartsev AA, Khrenov PA, Chestnova TV, Buzulukov YuP, Antsiferova AN. Eksperimental'noe issledovanie antibakterial'noy aktivnosti nanochastits serebra na modeli peritonita i meningoenfalita in vivo. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. Elektronnoe izda-nie. 2014;1. Russian. Available from: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2014-1/4793.pdf>.

Библиографическая ссылка:

Гладких П.Г. Эффект наночастиц серебра в отношении биопленок микроорганизмов // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2015. №1. Публикация 3-4. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-1/5108.pdf> (дата обращения: 25.02.2015).

4. Khrenov PA, Chestnova TV. Effekt dimetilsul'foksida v otnoshenii bioplenkoobrazovaniya shtammami Staphylococcus aureus. Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy. 2014;5-1:140-1. Russian.
5. Khrenov PA, Chestnova TV. Adgezivnyy potentsial gramotritsatel'noy ranevoy flory pod vliyaniem preparata «Dimeksid». Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy. 2014;1:92. Russian.
6. Khrenov PA, Chestnova TV. Eksperimental'noe izuchenie vliyaniya preparata «Dimeksid» na virulentnye svoystva Staphylococcus aureus izolirovannykh iz ran. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2013;20(2):405-8. Russian.
7. Trezubov VN, Semenov SS, Afinogenov GE, Afinogenova AG, Saprionova ON. Sozdanie antibakterial'nogo materiala, sodержashchego nanoserebro, dlya bazisov s'emnykh zubnykh protezov. Institut stomatologii. 2010;2(47):22-3. Russian.
8. Mosin OV. Bakteritsidnye svoystva nanochastits kolloidnogo srebra. Nanotekhnologii. Ekologiya. Proizvodstvo. 2013;6(25):54-9. Russian.
9. Khrenov PA, Chestnova TV. Vliyanie dimetilsul'foksida na adgezivnyuyu aktivnost' Staphylococcus aureus izolirovannogo iz ran. Mezhdunarodnyy zhurnal eksperimental'nogo obrazovaniya. 2013;6;47. Russian.
10. Chestnova TV, Khrenov PA. Pokazateli gemogrammy u detey s ostroy kishechnoy infektsiey, vydeleyayushchikh griby roda Candida. Mezhdunarodnyy zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy. 2013;8:162-3. Russian.
11. Chestnova TV, Seregina NV. Sravnitel'nyy analiz mikrobnogo peyzazha vzbuditeley, vydelennykh iz krovi likhoradyashchikh bol'nykh. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2012;2:63-5. Russian.
12. Chestnova TV, Seregina NV. Osobennosti sushchestvovaniya bakteriy v sostave bioplenok na primere uropatogennykh kishechnykh paloček. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2010;17(4):28-30. Russian.
13. Chestnova TV. Prospektivnoe populyatsionnoe izuchenie zaboлеваemosti gnoynymi meningitami u detey v vozraste ot 5 do 8 let v gorodakh Rossii. Epidemiologiya i infektsionnye bolezni. 2009;4:33-43. Russian.
14. Chestnova TV, Seregina NV, Khromushin VA. Obzor biofizicheskikh osobennostey mikrobnoy adgezii. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2008;15(4):175-8. Russian.
15. Chestnova TV, Seregina NV. Izuchenie vliyaniya atsetonovogo ekstrakta organicheskoy massy shungitovoy porody na adgezivnye svoystva enetrobakteriy. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2008;4:168-70. Russian.
16. Chestnova TV, Seregina NV. Ingibirovanie proteoliticheskikh i sakharoliticheskikh fermentov Pseudomonas aureginosa pod deystviem ekstrakta shungita. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2008;4:167-8. Russian.
17. Chestnova TV, Seregina NV. Adaptivnye mekhanizmy i ustoychivost' sal'monell k deystviyu uksusno-kislotnogo ekstrakta organicheskogo ekstrakta organicheskoy massy shungitovoy porody. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2007;4:207. Russian.
18. Chestnova TV, Seregina NV. Vliyanie etanol'nogo ekstrakta organicheskoy massy shungitovoy porody na kul'turu β - gemoliticheskogo streptokokka. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2007;4:64. Russian.
19. Terminology and definitions for nano-objects. Nanoparticle, nanofibre and nanoplate. ISO/TS 27687:2008.
20. Christopher P. Randall, Linda B. Oyama, Julieanne M. Bostock, Ian Chopra and Alex J. O'Neill. The silver cation (Ag⁺): antistaphylococcal activity, mode of action and resistance studies. Jour. Antimicrob. Chemother. 2013;68:131-8.
21. Chen X, Schluesener HJ. Nanosilver: a nanoparticle in medical application. Toxicol. Lett. 2008;176(2):359-62.

Библиографическая ссылка:

Гладких П.Г. Эффект наночастиц серебра в отношении биопленок микроорганизмов // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. 2015. №1. Публикация 3-4. URL: <http://www.medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2015-1/5108.pdf> (дата обращения: 25.02.2015).