

ИССЛЕДОВАНИЕ ИНГИБИРУЮЩЕГО И РАЗРУШАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ ПРЕПАРАТА НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА БИОПЛЕНКИ, СФОРМИРОВАННЫЕ КЛИНИЧЕСКИ ЗНАЧИМЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ

Сухина М.А.¹, Шелыгин Ю.А.^{1,4}, Пиядина А.Ю.^{1,2}, Фельдман Н.Б.²,
Ананян М.А.³, Луценко С.В.², Фролов С.А.¹

¹ ФГБУ «ГНЦК им. А.Н. Рыжих» Минздрава России, г. Москва, Россия
(директор – чл.-корр. РАН, профессор Ю.А. Шелыгин)

² ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет), г. Москва, Россия
(ректор – академик РАН, профессор П.В. Глыбочко)

³ ЗАО «Концерн «Наноиндустрия», г. Москва, Россия
(генеральный директор – д.т.н. М.А. Ананян)

⁴ ФГБОУ ДПО РМАНПО Минздрава России, г. Москва, Россия
(ректор – член-корр. РАН, Д.А. Сычев)

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Получить и исследовать активность стабилизированных арабиногалактаном наночастиц серебра в отношении клинически значимых штаммов пленкообразующих микроорганизмов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Наночастицы серебра получали методом восстановления из нитрата серебра в присутствии арабиногалактана с дополнительной стабилизацией диоктилсульфосукцинатом натрия. Форму и размеры наночастиц определяли методом просвечивающей электронной микроскопии, дзета-потенциал – методом электрофоретического рассеяния света. Исследование влияния препарата наночастиц на биопленкообразование проводили на 17 клинически значимых штаммах бактерий, изолированных из гемокультуры и клинического биоматериала послеоперационных пациентов колопроктологического стационара.

РЕЗУЛЬТАТЫ. Получен препарат наночастиц серебра, характеризующихся средним диаметром 11,4 нм и дзета-потенциалом – 24 мВ. Минимальная ингибирующая концентрация препарата наночастиц в отношении планктонных культур бактерий составляла 120 мкг/мл; применение препарата в концентрации 100 мкг/мл снижало показатель КОЕ/мл на 7 порядков по сравнению с исходной культурой. Изучение влияния наночастиц серебра на процесс формирования биопленок показало, что в присутствии препарата процесс роста биопленок значительно снижался; при концентрации препарата 150 мкг/мл происходило полное подавление роста бактериальных пленок. Инкубация сформированных суточных биопленок с препаратом наночастиц серебра в диапазоне концентраций от 150 до 120 мкг/мл в течение 48 ч приводила к частичному или полному разрушению биополимерного матрикса.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ. Исследуемый препарат наночастиц серебра обладает большим потенциалом применения в терапии инфекционных заболеваний, вызванных пленкообразующими микроорганизмами.

**[Ключевые слова: биопленки, наночастицы серебра, антимикробная активность,
клинические изоляты, катетер-ассоциированная инфекция, послеоперационные раны]**

Для цитирования: Сухина М.А., Шелыгин Ю.А., Пиядина А.Ю., Фельдман Н.Б., Ананян М.А., Луценко С.В., Фролов С.А. Исследование ингибирующего и разрушающего действия препарата наночастиц серебра на биопленки, сформированные клинически значимыми микроорганизмами. *Колопроктология*. 2019; т. 18, № 3(69), с. 56-70.

THE INHIBITORY AND DESTRUCTIVE ACTION OF THE SILVER NANOPARTICLE PREPARATION ON BIOFILMS FORMED BY CLINICALLY RELEVANT MICROORGANISMS

Sukhina M.A.¹, Shelygin Yu.A.^{1,4}, Piyadina A.Yu.^{1,2}, Feldman N.B.², Ananyan M.A.³, Lutsenko S.V.², Frolov S.A.¹

¹ State Scientific Centre of Coloproctology of the Ministry of Healthcare of Russia, Moscow, Russia
(director – corresponding member of RAS, Professor Yu.A. Shelygin)

² Sechenov University, Moscow, Russia
(rector – academician of RAS, professor P.V. Glybochko)

³ Nanoindustry Concern JSC, Moscow, Russia

(general director –doctor of technology M.A. Ananyan)

⁴ Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of the Ministry of Healthcare of Russia,

Moscow, Russia

(rector – corresponding member of RAS, D.A. Sychev)

AIM: to obtain and investigate the activity of silver nanoparticles stabilized with arabinogalactan in relation to clinically relevant strains of film-forming microorganisms.

MATERIALS AND METHODS: silver nanoparticles were obtained by reduction from silver nitrate in the presence of arabinogalactan with additional stabilization with dioctyl sodium sulfosuccinate. The shape and size of the nanoparticles were determined by the method of transmission electron microscopy, the zeta potential by the method of electrophoretic light scattering. The study of the effect of the nanoparticles on biofilm formation was carried out on 17 clinically relevant strains of bacteria isolated from blood culture and the clinical biomaterial of postoperative patients.

RESULTS: the silver nanoparticles with an average diameter of 11.4 nm and a zeta potential of –24 mV were obtained. The minimum inhibitory concentration of the nanoparticles in relation to planktonic form of bacteria was 120 µg/ml; the use of the drug at a concentration of 100 µg/ml reduced the amount of CFU by 7 orders of magnitude compared with the initial culture. The study of the effect of silver nanoparticles on the formation of biofilms showed that, in the presence of the drug, the growth of biofilms was significantly reduced; at a drug concentration of 150 µg/ml, the growth of bacterial films was completely suppressed. Incubation of the formed daily biofilms with the silver nanoparticles in the concentration range from 150 to 120 µg/ml for 48 h resulted in the partial or complete destruction of the biopolymer matrix.

CONCLUSION: the studied preparation of silver nanoparticles has a great potential for use in the treatment of infectious diseases caused by biofilm forming microorganisms.

[Key words: biofilms, silver nanoparticles, antimicrobial activity, clinical isolates, catheter-associated infection, postoperative wounds]

For citation: Sukhina M.A., Shelygin Yu.A., Piyadina A.Yu., Feldman N.B., Ananyan M.A., Lutsenko S.V., Frolov S.A. The inhibitory and destructive action of the silver nanoparticle preparation on biofilms formed by clinically relevant microorganisms. Koloproktologia. 2019; v. 18, № 3(69), pp. 56-70.

Адрес для переписки: Сухина М.А., ФГБУ «ГНЦК им. А.Н. Рыжих» Минздрава России, ул. Саляма Адия, д. 2, Москва, 123423;

e-mail: antonyz@rambler.ru

ВВЕДЕНИЕ

Одной из серьезных проблем современной медицины является множественная лекарственная устойчивость патогенов, значительно снижающая эффективность антимикробной антибиотикотерапии [10,24]. Полирезистентность представляет собой комплексный механизм, конкретная реализация которого зависит от особенностей организма, штамма возбудителя инфекционного заболевания, применяемого антибиотика и других факторов [2]. Поиск новых препаратов, в том числе средствами нанотехнологий, позволяющих снизить риск развития или преодолеть множественную лекарственную устойчивость, а, следовательно, значительно повысить эффективность терапии опасных инфекционных заболеваний, представляется чрезвычайно важной задачей [6].

Многие гнойно-воспалительные заболевания и послеоперационные осложнения связаны с антибиотикорезистентными пленкообразующими микроорганизмами, значительно более резистентными по сравнению с планктонными формами [4]. Формирование биопленок патогенными микроорганизмами способствует инфекционным поражениям как органов человека, так и искусственных имплантатов. Биопленки представляют собой структуры, образуемые микробными сообществами на поверхности раздела фаз, например, жидкой и твердой, жидкой и газообразной и т.д. [13,20]. Важно отметить, что биопленки

могут формироваться как бактериями одного вида, так и представлять собой сообщества, включающие несколько видов бактерий и других микроорганизмов. Само микробное сообщество состоит из клеток, заключенных в синтезированный ими внеклеточный полимерный матрикс (экзополимерный матрикс). Биопленки играют важнейшую роль в процессе перехода инфекционного заболевания из острой фазы в хроническую, являясь причиной значительных затруднений на пути проведения эффективной терапии большого числа патологий. В связи с этим, поиск средств, препятствующих образованию биопленок и поражающих бактерии внутри них, является важной задачей современной антимикробной терапии [23]. В качестве перспективного средства терапии инфекционных и гнойно-воспалительных заболеваний, как альтернативы антибиотикам, в настоящее время активно изучаются свойства наночастиц металлического серебра, проявляющие широкий спектр антимикробной активности при отсутствии резистентности к ним [7,21].

Токсическое действие на бактериальные клетки в существенной мере определяется размером, формой, концентрацией, природой стабилизатора наночастиц, а также их способностью генерировать активные формы кислорода [9,15]. Наночастицы серебра способны сорбироваться на поверхности бактериальной клетки, оказывать повреждающее действие на плазматическую мембрану и вызывать гибель

клетки. Наночастицы серебра могут также проникать внутрь бактериальных клеток и оказывать повреждающее действие на внутриклеточные структуры, рибосомальные субчастицы, нуклеиновые кислоты и белки [7,16,26].

В ряду механизмов токсического действия наночастиц серебра на бактерии важнейшим их свойством является способность разрушать экзополимерный матрикс биопленки [11,25]. Это свойство приобретает дополнительную значимость, исходя из факта отсутствия резистентности к наносеребру у биопленок, продуцируемых мультирезистентными бактериями [19,22].

Характер и эффективность токсического действия наночастиц серебра в отношении пленкообразующих микроорганизмов во многом определяется природой стабилизирующих биополимеров. В настоящее время продемонстрирована цитотоксическая активность наночастиц серебра, стабилизированных цитратом [12], циклодекстрином [14], поливинилпирролидоном [5] и крахмалом [17] в отношении *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri*, *Streptococcus pneumoniae*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* и др. Одним из перспективных биополимеров, которые могут применяться для восстановления металлических наночастиц из солей серебра и их стабилизации, является природный водорастворимый, нетоксичный, легко доступный арабиногалактан из лиственницы сибирской (*Larix sibirica* L.) и портулака огородного (*Portulaca oleracea*) [3, 18]. Стерическая стабилизация поверхности наночастиц арабиногалактаном может позволить значительно повысить их стабильность и при сохранении высокой антимикробной активности снизить токсические эффекты на организм человека.

Таким образом, проблема борьбы с резистентными пленкообразующими бактериями диктует необходимость разработки действенных препаратов, способных разрушать экзополимерный матрикс биопленки и эффективно поражать бактериальные клетки. Разработка подходов к получению и изучению антимикробной активности наночастиц серебра в отношении пленкообразующих клинических штаммов микроорганизмов является актуальной задачей.

В данной работе нами были получены и охарактеризованы стабилизированные арабиногалактаном наночастицы серебра. Изучена их активность в отношении клинически значимых штаммов пленкообразующих микроорганизмов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Получение и характеристика наночастиц серебра

Для синтеза наночастиц серебра использовали нитрат серебра, гидроксид аммония (27%), диоктилсульфо-

сукцинат натрия (Aerosol-OT, или бис (2-этилгексил) сульфосукцинат, натриевая соль) (Labtex, Russia), арабиногалактан (Fluka).

Синтез наночастиц металлического серебра проводили методом восстановления из нитрата серебра в щелочной среде в присутствии арабиногалактана. К 0,2% раствору арабиногалактана, нагретому до 90°C, при интенсивном перемешивании добавляли раствор нитрата серебра. Реакцию восстановления серебра проводили в течение 40 мин. при той же температуре и pH≥10,0, с последующим добавлением диоктилсульфосукцината натрия и постепенным охлаждением раствора до комнатной температуры.

Определение электрокинетического потенциала наночастиц серебра проводили методом электрофоретического рассеяния света на анализаторе Photocor compact Z (Россия).

Исследования методами просвечивающей электронной микроскопии проводили с помощью микроскопа LEO 912 AB (Carl Zeiss, Германия). Исследования проведены при ускоряющем напряжении 100 кВ. Для приготовления образцов каплю золя наносили на медные сетки диаметром 3,05 мм, покрытые тонкой полимерной пленкой-подложкой, и высушивали при комнатной температуре.

Распределение наночастиц серебра по размерам определяли путем обработки полученных микрофотографий при помощи программы анализа оптических изображений UTHSCSA Image Tool 3.00.

Штаммы микроорганизмов

Для исследования были выбраны клинически значимые штаммы микроорганизмов, которые наиболее часто встречались в качестве возбудителей нозокомиальных и хронических инфекций; также эти бактерии характеризовались резистентностью к бета-лактамам антибиотикам (Табл. 1). Исследуемые бактерии были изолированы из гемокультуры и различного клинического биоматериала пациентов, перенесших оперативное лечение по поводу колопроктологических заболеваний. Было изучено 17 штаммов, относящихся к разным видам для выявления возможных различий взаимодействия с препаратом.

Изучение воздействия наночастиц серебра на клинические изоляты

1) Воздействие препарата наночастиц серебра на планктонную форму клеток микроорганизмов.

Для определения чувствительности к наночастицам серебра проводили измерение минимальных ингибирующих концентраций (МИК) в 96-луночных полистироловых планшетах, используя метод последовательных двукратных разведений. Бактериальную суспензию готовили в физиологическом растворе; плотность суспензии соответствовала 1 McF

Таблица 1. Штаммы микроорганизмов, используемых в работе

Название микроорганизма	Номер штамма	Место выделения
<i>Acinetobacter baumannii</i>	152	мокрота
<i>Acinetobacter baumannii</i>	480	кровь
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	679	отделяемое из брюшной полости
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	756	отделяемое раны
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	775	отделяемое раны
<i>Escherichia coli</i>	5	кал
<i>Escherichia coli</i>	32	отделяемое из брюшной полости
<i>Escherichia coli</i>	40	отделяемое из брюшной полости
<i>Escherichia coli</i>	84	отделяемое из брюшной полости
<i>Escherichia coli</i>	317	кровь
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	кал
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	29	отделяемое из плевральной полости
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	50	отделяемое свищевого хода
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	107	отделяемое из брюшной полости
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	458	кровь
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1000	кровь
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15	отделяемое из брюшной полости

($3,3 \times 10^8$ КОЕ/мл). Разведения препарата наночастиц серебра осуществляли в сердечно-мозговом экстракте в диапазоне концентраций от 150 до 1,6 мкг/мл. Инкубировали бактериальные суспензии с препаратом в различных концентрациях в течение 48 ч при 37°C. Количественную оценку ингибирования роста микроорганизмов проводили с помощью метода серийных разведений с последующим высевом на плотную питательную среду (триптон-соевый агар) и подсчетом КОЕ/мл после инкубации при 37°C 24 ч.

2) Ингибирование формирования бактериальных биопленок препаратом наночастиц серебра.

По описанной выше методике готовили бактериальные суспензии из суточных культур плотностью

1,0 McF с добавлением препарата наночастиц серебра в различных концентрациях. По 1 мл суспензии наносили на покровные стекла, выдерживали 4 ч для закрепления клеток, после чего добавляли 5 мл среды для биофильмогенеза (пептон-дрожжевой экстракт) и инкубировали стекла в термостате 48 ч при 37°C.

3) Разрушение суточных биопленок препаратом наночастиц серебра.

По 1 мл бактериальной суспензии 1,0 McF наносили на покровные стекла, выдерживали 4 ч для закрепления клеток, после чего добавляли 5 мл среды для биофильмогенеза и инкубировали 24 ч при 37°C. На стекла со сформировавшимися биопленками наносили по 1 мл исследуемого препарата в различных концентрациях и инкубировали еще 48 ч.

Биопленки окрашивали альциановым синим и проводили микроскопию в световом микроскопе с разрешением $\times 1000$. Степень формирования биопленки оценивали по разработанной условной 4-х балльной шкале, основанной на характере роста и степени покрытия стекла бактериальной пленкой [1]. В качестве контроля использовали биопленочные культуры, которые получали в идентичных условиях, но без добавления наночастиц.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Золь серебра был получен восстановлением нитрата серебра с помощью арабиногалактана, который одновременно выступал как в роли восстановителя, так и стабилизатора наночастиц. Для повышения устойчивости золя серебра к полученному препа-

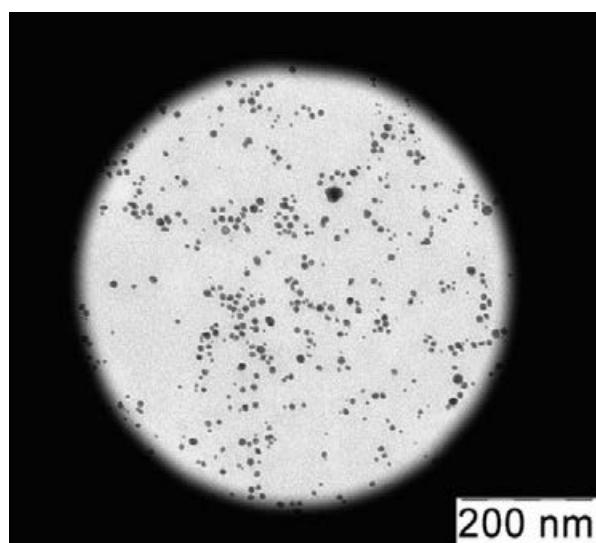


Рисунок 1. Изображение наночастиц серебра, полученное методом просвечивающей электронной микроскопии

Таблица 2. Значения показателя КОЕ/мл при различных концентрациях препарата наночастиц серебра (приведены конечные концентрации препарата наночастиц в полученном растворе)

Штамм	Показатель КОЕ/мл			
	Контроль	Препарат наночастиц		
		120 мкг/мл	100 мкг/мл	75 мкг/мл
<i>A.baumannii</i> 152	$5,60 \times 10^9$	0	30	$8,64 \times 10^7$
<i>A.baumannii</i> 480	$6,03 \times 10^9$	0	37	$4,78 \times 10^7$
<i>A.lwoffii</i> 679	$4,21 \times 10^9$	0	19	$7,84 \times 10^7$
<i>A.lwoffii</i> 756	$5,39 \times 10^9$	0	10	$6,02 \times 10^7$
<i>A.lwoffii</i> 775	$4,45 \times 10^9$	0	19	$6,75 \times 10^7$
<i>E.coli</i> 5	$2,52 \times 10^9$	0	12	$9,24 \times 10^7$
<i>E.coli</i> 32	$3,42 \times 10^9$	0	10	$8,73 \times 10^7$
<i>E. coli</i> 40	$4,11 \times 10^9$	0	31	$1,34 \times 10^8$
<i>E.coli</i> 84	$1,34 \times 10^9$	0	27	$7,83 \times 10^7$
<i>E.coli</i> 317	$2,63 \times 10^9$	0	9	$2,42 \times 10^8$
<i>K.pneumoniae</i> 5	$3,70 \times 10^9$	0	56	$3,85 \times 10^8$
<i>K. pneumoniae</i> 29	$2,69 \times 10^9$	0	24	$7,96 \times 10^8$
<i>K.pneumoniae</i> 50	$3,35 \times 10^9$	0	36	$8,49 \times 10^8$
<i>K.pneumoniae</i> 107	$3,57 \times 10^9$	0	61	$4,73 \times 10^8$
<i>K.pneumoniae</i> 458	$4,16 \times 10^9$	0	48	$6,45 \times 10^8$
<i>P.aeruginosa</i> 1000	$2,80 \times 10^9$	0	29	$7,04 \times 10^7$
<i>P.aeruginosa</i> 15	$1,13 \times 10^9$	0	35	$1,28 \times 10^8$

рату добавляли диоктилсульфосукцинат натрия. По данным просвечивающей электронной микроскопии полученный препарат содержал наночастицы серебра сферической формы (Рис. 1). Средний диаметр наночастиц составлял 11,4 нм (Рис. 2); дзета-потенциал –24 мВ.

На первом этапе была изучена эффективность действия препарата наночастиц на планктонные культуры микроорганизмов. В присутствии препарата в концентрации 75 мкг/мл показатель КОЕ/мл в случае всех исследуемых штаммов оказался на 1-2 порядка ниже по сравнению с контролем; при более низких концентрациях препарата планктонный рост оставался неизменным. При увеличении концентрации нано-

частиц до 100 мкг/мл было зафиксировано резкое снижение показателя КОЕ/мл на 7 порядков (Табл. 2), что свидетельствует о высокой бактерицидной способности наночастиц серебра. При концентрации 120 мкг/мл планктонного роста микроорганизмов не наблюдалось.

Полученные результаты свидетельствуют, что минимальная ингибирующая концентрация (МИК) препарата наночастиц составляет 120 мкг/мл. Следует отметить, что разные представители одного рода микроорганизмов при взаимодействии с препаратом демонстрируют сходные реакции (Табл. 2).

Далее мы исследовали влияние препарата наночастиц серебра на процесс формирования биопленок. Исследуемые штаммы бактерий в контрольных образцах, без воздействия ингибирующих факторов, за 48 ч формировали биопленки 3-4 степени согласно нашей оценочной шкале (Рис. 3). В присутствии наночастиц серебра процесс роста биопленок значительно снижался и в концентрациях от 120 мкг/мл и выше и оценивался ниже первой степени (Табл. 3). При добавлении препарата наночастиц в концентрации 150 мкг/мл происходило полное подавление роста бактериальных пленок (Рис. 3).

Антибактериальные агенты, эффективные при ингибировании еще не сформировавшейся биопленки, зачастую могут оказаться неэффективными в отношении микроорганизмов, уже заключенных в пленочный матрикс. В нашем исследовании инкубация сформированных суточных биопленок с препаратом наночастиц серебра в диапазоне концентраций от 150

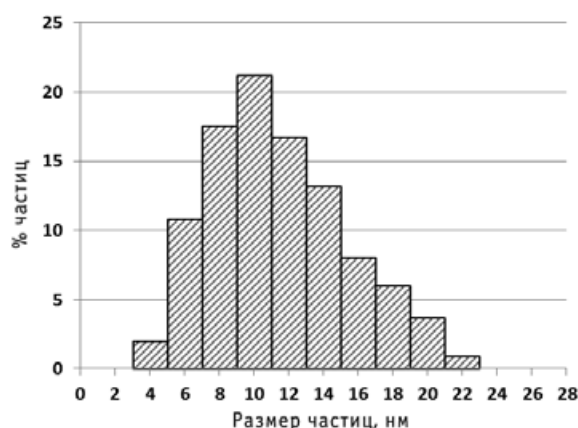


Рисунок 2. Гистограмма распределения стабилизированных наночастиц серебра по размерам

Таблица 3. Ингибирование биопленкообразования клинических изолятов микроорганизмов препаратом наночастиц серебра

Штамм	Степень формирования биопленки			
	Контроль	Наночастицы серебра		
		150 мкг/мл	120 мкг/мл	75 мкг/мл
<i>A. baumannii</i> 152	4	~0	<1	2
<i>A. baumannii</i> 480	3	~0	<1	2
<i>A. lwoffii</i> 679	3	~0	<1	2
<i>A. lwoffii</i> 756	3	~0	<1	2
<i>A. lwoffii</i> 775	3	~0	<1	2
<i>E. coli</i> 5	3	~0	<1	2
<i>E. coli</i> 32	3	~0	<1	2
<i>E. coli</i> 40	3	~0	<1	2
<i>E. coli</i> 84	3	~0	<1	2
<i>E. coli</i> 317	3	~0	<1	2
<i>K. pneumoniae</i> 5	4	~0	<1	3
<i>K. pneumoniae</i> 29	3	~0	<1	2
<i>K. pneumoniae</i> 50	3	~0	<1	2
<i>K. pneumoniae</i> 107	4	~0	<1	3
<i>K. pneumoniae</i> 458	4	~0	<1	3
<i>P. aeruginosa</i> 1000	2	~0	<1	2
<i>P. aeruginosa</i> 15	3	~0	<1	2

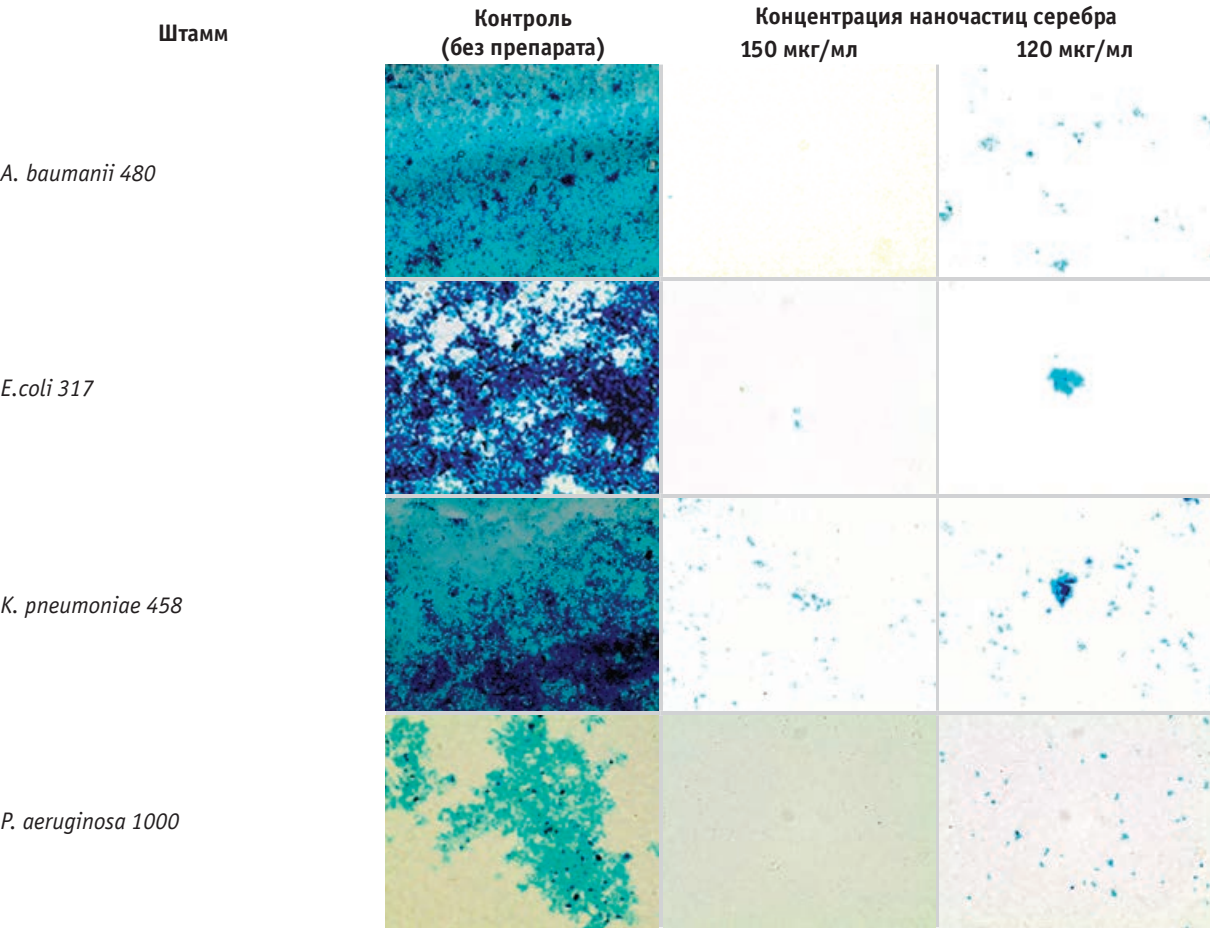


Рисунок 3. Ингибирование процесса образования биопленок некоторых штаммов микроорганизмов через 48 ч инкубации с препаратами наночастиц

Таблица 4. Разрушение суточных биопленок клинических изолятов микроорганизмов препаратом наночастиц серебра

Штамм	Степень формирования биопленки			
	Контроль	Наночастицы серебра		
		150 мкг/мл	120 мкг/мл	75 мкг/мл
<i>A. baumannii</i> 152	4	~0	<1	3
<i>A. baumannii</i> 480	4	~0	<1	2
<i>A. lwoffii</i> 679	4	~0	<1	3
<i>A. lwoffii</i> 756	4	~0	<1	3
<i>A. lwoffii</i> 775	4	~0	<1	3
<i>E. coli</i> 5	4	~0	<1	2
<i>E. coli</i> 32	4	~0	<1	2
<i>E. coli</i> 40	4	~0	<1	4
<i>E. coli</i> 84	4	~0	<1	2
<i>E. coli</i> 317	4	~0	<1	2
<i>K. pneumoniae</i> 5	4	~0	<1	3
<i>K. pneumoniae</i> 29	3	~0	<1	2
<i>K. pneumoniae</i> 50	3	~0	<1	2
<i>K. pneumoniae</i> 107	4	~0	<1	3
<i>K. pneumoniae</i> 458	4	~0	<1	3
<i>P. aeruginosa</i> 1000	3	~0	<1	2
<i>P. aeruginosa</i> 15	4	~0	<1	3

до 120 мкг/мл в течение 48 ч приводила к частичному или полному разрушению биополимерного матрикса (Табл. 4).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты свидетельствуют, что препарат стабилизированных биополимером арабиногалактаном наночастиц серебра проявляет антибактериальную активность в отношении планктонных культур всех исследованных штаммов, подавляет

процесс пленкообразования, а также вызывает разрушение сформированных биопленок в одном и том же диапазоне концентраций. Таким образом, исследуемый препарат обладает большим потенциалом применения в терапии инфекционных заболеваний, вызванных пленкообразующими микроорганизмами, поскольку будет оказывать на них комплексное воздействие.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Сухина М.А., Калашникова И.А., Кашников В.Н. и соавт. Влияние антибактериальных веществ на рост биопленки клинических изолятов. *Колопроктология*. 2018; № 2(64), с. 78-84.
2. Andersson DI, Hughes D. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? *Nat. Rev. Microbiol.* 2010; 8(4): 260-271.
3. Anuradha K, Bangal P, Madhavendra SS. Macromolecular arabinogalactan polysaccharide mediated synthesis of silver nanoparticles, characterization and evaluation. *Macromolecular Res.* 2016; 24(2): 152-162.
4. Bowler PG, Welsby S, Towers V. et al. Multidrug-resistant organisms, wounds and topical antimicrobial protection. *Int. Wound J.* 2012;9(4):387-396.
5. Bryaskova R, Pencheva D, Nikolov S. et al. Synthesis and comparative study on the antimicrobial activity of hybrid materials based on silver nanoparticles (AgNps) stabilized by polyvinylpyrrolidone (PVP). *J. Chem. Biol.* 2011;4(4):185-191.
6. Cassir N, Rolain JM, Brouqui P. A new strategy to fight antimicrobial resistance: the revival of old antibiotics. *Front. Microbiol.* 2014; 5: 551.
7. Chaloupka K, Malam Y, Seifalian AM. Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. *Trends Biotechnol.* 2010;28(11):580-588.
8. Chernousova S, Epple M. Silver as antibacterial agent: ion, nanoparticle, and metal. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2013;52: 1636-1653.
9. Choi O, Hu Z. Environ. Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria. *Sci. Technol.* 2008; 42(12):4583-4588.
10. Dantes R, Mu Y, Belflower R. et al. Emerging Infections Program—Active Bacterial Core Surveillance MRSA Surveillance Investigators. National burden of invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections, United States, 2011. *JAMA Intern. Med.* 2013; 173(21): 1970-1978.
11. Gurunathan S, Han JW, Kwon DN et al. Enhanced antibacterial and anti-biofilm activities of silver nanoparticles against Gram-negative and Gram-positive bacteria. *Nanoscale Res. Lett.* 2014;9(1):373.
12. Habash MB, Park AJ, Vis EC et al. Synergy of silver nanoparticles and aztreonam against *Pseudomonas aeruginosa* PA01 biofilms. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; 58(10): 5818-5830.
13. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms:

from the natural environment to infectious diseases. *Nat. Rev. Microbiol.* 2004; 2(2):95-108.

14. Jaiswal S, Bhattacharya K, McHale P et al. Dual effects of b-cyclodextrin-stabilised silver nanoparticles: enhanced biofilm inhibition and reduced cytotoxicity. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2015;26(1): 52.

15. Lazar V. Quorum sensing in biofilms – how to destroy the bacterial citadels or their cohesion/power? *Anaerobe.* 2011;17(6):280-285.

16. Li WR, Xie XB, Shi QS et al. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2010; 85:1115-1122.

17. Mohanty S, Mishra S, Jena P et al. An investigation on the antibacterial, cytotoxic, and antibiofilm efficacy of starch-stabilized silver nanoparticles. *Nanomedicine.* 2012;8: 916-924.

18. Neverova NA, Levchuk AA, Ostroukhova LA et al. Distribution of extractive substances in wood of the Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.). *Russ. J. Bioorganic Chem.* 2013;39 (7): 712-719.

19. Palanisamy NK, Ferina N, Amirulhusni AN et al. Antibiofilm properties of chemically synthesized silver nanoparticles found against *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Nanobiotechnol.* 2014; 12: 2.

20. Periasamy S, Joo HS, Duong AC et al. How *Staphylococcus aureus* biofilms develop their characteristic structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012; 109(4): 1281-1286.

21. Rai MK, Deshmukh SD, Ingle AP et al. Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria. *J. Appl. Microbiol.* 2012;112(5): 841-852.

22. Silver S. Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds. *FEMS Microbiol. Rev.* 2003; 27(2-3): 341-353.

23. Taraszkiewicz A, Fila G, Grinholc M et al. Innovative strategies to overcome biofilm resistance. *Biomed. Res. Int.* 2013; p. 150653.

24. Walker B, Barrett S, Polasky S et al. Environment. Looming global-scale failures and missing institutions. *Science.* 2009; 325(5946): 1345-1346.

25. Wu D, Fan W, Kishen A et al. Evaluation of the antibacterial efficacy of silver nanoparticles against *Enterococcus faecalis* biofilm. *J. Endod.* 2014; 40(2):285-290.

26. Zhang XF, Liu ZG, Shen W et al. Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17(9): pii: E1534.

REFERENCES

1. Sukhina M.A., Kalashnikova I.A., Kashnikov V.N. et al. Effect of antimicrobial agents on the biofilm growth of clinical isolates. *Koloproktologia.* 2018; no. 2 (64), pp. 78-84. (in Rus.)

2. Andersson DI, Hughes D. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? *Nat. Rev. Microbiol.* 2010; 8(4): 260-271.

3. Anuradha K, Bangal P, Madhavendra SS. Macromolecular arabinogalactan polysaccharide mediated synthesis of silver nanoparticles, characterization and evaluation. *Macromolecular Res.* 2016; 24(2): 152-162.

4. Bowler PG, Welsby S, Towers V. et al. Multidrug-resistant organisms, wounds and topical antimicrobial protection. *Int. Wound J.* 2012;9(4):387-396.

5. Bryaskova R, Pencheva D, Nikolov S. et al. Synthesis and comparative study on the antimicrobial activity of hybrid materials based on silver nanoparticles (AgNps) stabilized by polyvinylpyrrolidone (PVP). *J. Chem. Biol.* 2011;4(4):185-191.

6. Cassir N, Rolain JM, Brouqui P. A new strategy to fight antimicrobial resistance: the revival of old antibiotics. *Front. Microbiol.* 2014; 5: 551.

7. Chaloupka K, Malam Y, Seifalian AM. Nanosilver as a new generation of nanoparticle in biomedical applications. *Trends Biotechnol.* 2010;28(11):580-588.

8. Chernousova S, Eppe M. Silver as antibacterial agent: ion, nanoparticle, and metal. *Angew. Chem. Int. Ed.* 2013;52: 1636-1653.

9. Choi O, Hu Z. Environ. Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria. *Sci. Technol.* 2008; 42(12):4583-4588.

10. Dantes R, Mu Y, Belflower R. et al. Emerging Infections Program–Active Bacterial Core Surveillance MRSA Surveillance Investigators. National burden of invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections, United States, 2011. *JAMA Intern. Med.* 2013; 173(21): 1970-1978.

11. Gurunathan S, Han JW, Kwon DN et al. Enhanced antibacterial and anti-biofilm activities of silver nanoparticles against Gram-negative and Gram-positive bacteria. *Nanoscale Res. Lett.* 2014;9(1):373.

12. Habash MB, Park AJ, Vis EC et al. Synergy of silver nanoparticles and aztreonam against *Pseudomonas aeruginosa* PA01 biofilms. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; 58(10): 5818-5830.

13. Hall-Stoodley L, Costerton JW, Stoodley P. Bacterial biofilms:

from the natural environment to infectious diseases. *Nat. Rev. Microbiol.* 2004; 2(2):95-108.

14. Jaiswal S, Bhattacharya K, McHale P et al. Dual effects of b-cyclodextrin-stabilised silver nanoparticles: enhanced biofilm inhibition and reduced cytotoxicity. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 2015;26(1): 52.

15. Lazar V. Quorum sensing in biofilms – how to destroy the bacterial citadels or their cohesion/power? *Anaerobe.* 2011;17(6):280-285.

16. Li WR, Xie XB, Shi QS et al. Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on *Escherichia coli*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2010; 85:1115-1122.

17. Mohanty S, Mishra S, Jena P et al. An investigation on the antibacterial, cytotoxic, and antibiofilm efficacy of starch-stabilized silver nanoparticles. *Nanomedicine.* 2012;8: 916-924.

18. Neverova NA, Levchuk AA, Ostroukhova LA et al. Distribution of extractive substances in wood of the Siberian larch (*Larix sibirica* Ledeb.). *Russ. J. Bioorganic Chem.* 2013;39 (7): 712-719.

19. Palanisamy NK, Ferina N, Amirulhusni AN et al. Antibiofilm properties of chemically synthesized silver nanoparticles found against *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Nanobiotechnol.* 2014; 12: 2.

20. Periasamy S, Joo HS, Duong AC et al. How *Staphylococcus aureus* biofilms develop their characteristic structure. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2012; 109(4): 1281-1286.

21. Rai MK, Deshmukh SD, Ingle AP et al. Silver nanoparticles: the powerful nanoweapon against multidrug-resistant bacteria. *J. Appl. Microbiol.* 2012;112(5): 841-852.

22. Silver S. Bacterial silver resistance: molecular biology and uses and misuses of silver compounds. *FEMS Microbiol. Rev.* 2003; 27(2-3): 341-353.

23. Taraszkiewicz A, Fila G, Grinholc M et al. Innovative strategies to overcome biofilm resistance. *Biomed. Res. Int.* 2013; p. 150653.

24. Walker B, Barrett S, Polasky S et al. Environment. Looming global-scale failures and missing institutions. *Science.* 2009; 325(5946): 1345-1346.

25. Wu D, Fan W, Kishen A et al. Evaluation of the antibacterial efficacy of silver nanoparticles against *Enterococcus faecalis* biofilm. *J. Endod.* 2014; 40(2):285-290.

26. Zhang XF, Liu ZG, Shen W et al. Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications, and Therapeutic Approaches. *Int. J. Mol. Sci.* 2016; 17(9): pii: E1534.