

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ БАКТЕРИЦИДНОЙ АКТИВНОСТИ ПРЕПАРАТОВ КОЛЛОИДНОГО СЕРЕБРА

Р.Н. Костылева, В. А. Бурмистров, О.А. Полунина

*Государственный научный центр вирусологии
и биотехнологии Вектор,*

ЗАО НПЦ «Вектор-Инвест»

Сибирский университет потребительской кооперации

Антимикробные свойства серебра и его соединений не вызывают сомнений. Представляет интерес сравнение бактерицидной активности различных серебросодержащих препаратов в сопоставимых условиях. Это важно для понимания механизма действия серебросодержащих препаратов, а также с точки зрения конструирования более эффективных препаратов серебра. В данной работе была предпринята попытка сравнительного изучения антибактериальной активности *in vitro* ряда серебросодержащих препаратов.

В качестве объектов исследования были взяты препараты коллоидного серебра, представленные на российском рынке, а именно: *колларгол*, *протаргол*, *повиаргол*, *арговит* и биологически активные добавки на основе коллоидного серебра – препараты «Лунная роса» (ЗАО ПК «Линфас», ООО «Новый камелот», г. Санкт-Петербург) и «Князь Серебряный» (ЗАО «КурортМедСервис», г. Москва).

Краткая характеристика препаратов. Колларгол и протаргол представляют собой коллоидные частицы серебра, стабилизированные гидролизатами белков (казеина, желатина) /1/. Повиаргол – препарат коллоидного серебра, в котором в качестве стабилизатора коллоидных частиц используется полимер медицинского назначения поливинилпирролидон /2/. Арговит – кластерный комплекс серебра с поливинилпирролидоном (разновидность коллоидного серебра) /3,4/. Более подробно характеристики и свойства этих препаратов, а также области их использования приведены в сборнике /5/ и в монографии /6/. Что касается состава препаратов «Лунная роса» и «Князь Серебряный», производители и распространители этих препаратов каких-либо дополнительных сведений, кроме рекомендаций по применению

и информации, что эти препараты содержат коллоидное серебро, к сожалению, не приводят /7,8/.

Экспериментальная часть

Работа была выполнена в лаборатории микробиологии Отдела биологического и технологического контроля государственного научного центра вирусологии и биотехнологии ГНЦ ВБ «Вектор».

В качестве тест-штаммов были использованы стандартные типовые культуры микроорганизмов, рекомендованные ГосФармакопеей РФ для определения антимикробного действия препаратов, полученные из банка культур клеток НИИ «Коллекция культур микроорганизмов» ГНЦ ВБ «Вектор»:

- *Staphylococcus aureus* 209p (золотистый стафилококк)
- *Pseudomonas aeruginosae* № 47 АТСС 9027 (синегнойная бактерия)
- *Escherichia coli* АТСС 25922 (F-50) (кишечная палочка)

Штаммы выращивали 18-20 час на скошенном МПА (мясопептонный питательный агар) с добавкой 0,1% глюкозы, суспендировали в физиологическом растворе, доводили концентрацию клеток до 10^9 на мл по оптическому стандарту мутности ОСО 42-28-29-85 и готовили ряд 10-кратных разведений до 10^3 клеток/мл, которые свежеприготовленными и использовали в работе.

Специфическую антимикробную активность серебросодержащих препаратов изучали стандартным методом серийных разведений в различных питательных средах, на разных тест-штаммах, при различных микробных нагрузках (от 10 до 10^5 клеток на мл.).

Сухие порошкообразные препараты коллоидного серебра – колларгол, протаргол и повиаргол – перед использованием растворяли в стерильной дистиллированной воде из расчета исходной рабочей концентрации 1%, или 10 мг/мл. Арговит выпускается в виде концентрированного 20 % раствора, который также перед использованием разбавляли водой до рабочей концентрации в 1 %. С использованием этих 1%-ных рабочих растворов готовили промежуточные разведения 1/5, 1/10, 1/50, 1/100, 1/500, 1/1000, которые применяли для приготовления больших разведений препаратов. Препараты «Лунная роса» и «Князь Серебряный» выпускаются в виде водных растворов, готовых к применению. В таком неразбавленном виде их и использовали в экспериментах. Для компенсации снижения концентрации пита-

тельных веществ в питательной среде при внесении относительно больших объемов этих препаратов в ряде случаев использовали соответствующее расчетное количество среды с двойной концентрацией питательных веществ.

Типичная стандартная методика проведения испытаний: различные разведения (количества) исследуемых препаратов вносили в пробирки с питательной средой и культурой тест-штамма. Питательные среды готовили согласно прописи с использованием полуфабрикатов питательных сред, в частности, производства НИИ питательных сред. Наиболее часто используемыми средами были мясопептонный бульон (МПБ) с добавкой 0,1% глюкозы (среда №1 по ГосФармакопее XI) или рыбо-пептонный бульон (РПБ) с добавкой 0,1% глюкозы. Инокуляция – суспензией 18-часовой культуры тест-штамма из расчета соответствующей микробной нагрузки, обычно 10^2 кл/мл. Инкубация посевов – 24-72 часа при 37°C , с последующим подтверждающим высевом на чашки Петри с питательным агаром. Учет результатов – визуальная оценка наличия роста тест-штамма в опытных пробах в сопоставлении с ростом тест-штамма в положительном контроле (питательная среда с тест-штаммом без препарата). Отрицательный контроль (питательная среда без тест-штамма, контроль стерильности питательной среды), а также контроль стерильности препаратов (питательная среда без тест-штамма, но с добавлением препарата) везде был отрицательный.

Результаты и их обсуждение

В таблице 1 приведены результаты по сравнительному изучению антимикробной активности колларгола, протаргола, повииаргола и арговита на трех тест-штаммах в сопоставимых условиях. Условия проведения эксперимента: питательная среда – мясопептонный бульон с добавкой 0,1 % глюкозы (МПБ); инокуляция суспензией 18-часовой культуры тест-штамма из расчета микробной нагрузки 10^2 кл/мл; инкубация 48 часов при 37°C , с последующим подтверждающим высевом на чашки Петри с питательным агаром.

Как видно из данных, приведенных в таблице, тест-штаммы отличаются по своей чувствительности к действию серебра. Наиболее чувствительным оказался *Staphylococcus aureus* 209p, наименее чувствительным – *Pseudomonas aeruginosae* № 47 ATCC 9027. Препараты

серебра также отличались по своей активности между собой (до 2 – 10 раз). Наиболее активным в данных условиях оказался арговит, затем следовал повиаргол, ненамного уступающий ему по активности, а затем шли колларгол и протаргол, незначительно отличающиеся между собой с переменным успехом на разных тест-штаммах.

Таблица 1

Сравнение антимикробной активности серебросодержащих препаратов на разных тест-штаммах* (микробная нагрузка 10^2 кл/мл)

| Концентрация препарата мкг/мл | Наличие роста тест-штамма ** | | | | | | | | | | | |
|-------------------------------|------------------------------|-----|-----|-----|------------------|-----|-----|-----|-------------------------|-----|-----|-----|
| | Staphylococcus aureus | | | | Escherichia coli | | | | Pseudomonas aeruginosae | | | |
| | Кол | Про | ПВА | Арг | Кол | Про | ПВА | Арг | Кол | Про | ПВА | Арг |
| 100 | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| 50 | – | – | – | – | – | – | – | – | – | ± | – | – |
| 25 | – | – | – | – | – | – | – | – | ± | + | – | – |
| 10 | – | – | – | – | ± | – | – | – | + | + | ± | – |
| 5 | – | – | – | – | + | ± | – | – | + | + | + | ± |
| 2 | – | ± | – | – | + | + | ± | ± | + | + | + | + |
| 1 | ± | + | – | – | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 0,5 | + | + | ± | – | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 0,2 | + | + | + | ± | + | + | + | + | + | + | + | + |
| 0,1 | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

* - Кол – колларгол, Про – протаргол, ПВА – повиаргол, Арг – арговит.

** - контроль тест-штамма (питательная среда с тест-штаммом без препарата) везде положительный; микробная нагрузка 10^2 кл/мл.

В таблице 2 приведены данные по активности повиаргола и арговита при культивировании тест-штаммов на разных питательных средах и при микробной нагрузке 10^3 кл/мл.

Таблица 2

Сравнение антимикробной активности повиаргола и арговита на разных питательных средах

| Концентрация препарата мкг/мл | Наличие роста тест-штамма* | | | | | |
|-------------------------------------|----------------------------|---------|-------------------------|---------|-------------|---------|
| | Staphylococcus aureus | | Pseudomonas aeruginosae | | | |
| | Среда МПБ** | | Среда МПБ** | | Среда РПБ** | |
| | повиаргол | арговит | повиаргол | арговит | повиаргол | арговит |
| 100 | – | – | – | – | – | – |
| 50 | – | – | ± | – | – | – |
| 25 | – | – | + | ± | – | – |
| 10 | – | – | + | + | ± | – |
| 5 | – | – | + | + | + | ± |
| 2 | – | – | + | + | + | + |
| 1 | + | – | + | + | + | + |
| 0,5 | + | + | + | + | + | + |

* - контроль тест-штамма (питательная среда с тест-штаммом без препарата) везде положительный; микробная нагрузка 10^3 кл/мл.

** - МПБ (РПБ) – мясо-пептонный (рыбо-пептонный) бульон с 0,1% глюкозы.

Из сравнения данных, приведенных в таблицах 1 и 2, следует, что при повышении микробной нагрузки минимальные подавляющие концентрации также повышаются, то есть, бактерицидная активность понижается. Это понятно и легко объяснимо. С практической точки зрения это означает, что чем меньше бактериальная обсемененность раны, или чем более тщательнее проведена первичная (и вторичная тоже) хирургическая обработка раны, то тем более низкой концентрацией препарата серебра можно будет обойтись. Помимо вида тест-штамма, микробной нагрузки, длительности инкубации, минимальные ингибирующие концентрации препаратов зависят также и от состава питательных сред, в частности, от минимизации ростовых качеств питательной среды, наличия в ней факторов роста. В среде с более высокими ростовыми качествами и, следовательно, более благоприятными условиями для роста бактерий (среда МПБ по сравнению с РПБ) минимальная ингибирующая концентрация возрастает, то есть бактерицидная и бактериостатическая активности препаратов понижаются.

В таблице 3 приведены данные тестирования антимикробной активности препаратов «Лунная роса» и «Князь Серебряный» в сравнении с колларголом и арговитом. Условия проведения эксперимента: тест-штамм – *Ps. aeruginosa* ATCC 9027, посевная доза 100 клеток на 10 мл, питательная среда №1 по ГФ XI (МПБ), инкубация 72 часа при 37⁰С с подтверждающим посевом на МПА.

Таблица 3

Сравнение антимикробной активности препаратов коллоидного серебра

| Препарат | Наличие роста тест-штамма | | | |
|------------|---------------------------|--------------------|-----------------------|---------------------|
| | «Лунная роса» | «Князь Серебряный» | Колларгол 1 % раствор | Арговит 1 % раствор |
| Разведение | | | | |
| 1/2 | – | – | - | - |
| 1/4 | ± | – | - | - |
| 1/6 | + | ± | - | - |
| 1/10 | + | + | - | - |
| - | | | | |
| 1/100 | + | + | – | – |
| 1/500 | + | + | ± | – |
| 1/1000 | + | + | + | ± |
| 1/2000 | + | + | + | + |

Как видно из результатов, приведенных в таблице 3, препараты колларгол и арговит в виде 1 %-го раствора значительно превосходят по своей антимикробной активности препараты – биологически активные добавки «Лунная роса» и «Князь Серебряный», включающие в свой состав коллоидное серебро.

В заключение еще раз отметим, что, помимо свойств и характеристик самого серебросодержащего препарата, на его антимикробную активность влияет также множество других факторов, в частности, видовые и штаммовые различия микробов, микробная нагрузка или уровень обсемененности, наличие ростовых факторов в питательной среде, длительность и условия культивирования. Это необходимо учитывать при корректном сравнении антимикробной активности серебросодержащих препаратов.

Литература

1. Родионов П.П., Третьяков В.В. – Колларгол и протарогол. Свойства. / Коллоидное серебро. Физико-химические свойства. Применение в медицине. – препринт № 1, Институт катализа им. Г.К. Борескова, СО РАН, Новосибирск, 1992 г., стр. 1 – 14.
2. Копейкин В.В., Афиногенов Г.Е. – Повиаргол – новый лекарственный серебросодержащий препарат. / Применение препаратов серебра в медицине. – препринт № 2, Институт клинической иммунологии, СО РАМН, Новосибирск, 1993 г., стр. 25 – 33.
3. Бурмистров В.А. – Новые серебросодержащие препараты – разработки ЗАО «Вектор-Бест» для медицины, лечебной косметологии и ветеринарии. / «Применение препаратов серебра в медицине». – Сб. трудов по материалам научно-практической конференции «Новые химические системы и процессы в медицине», под ред. Е.М. Блажитко, Новосибирск, 2003, стр. 10 – 15.
4. Одегова Г. В., Бурмистров В.А., Родионов П.П. – Исследование состояния серебра в серебросодержащих антибактериальных препаратах арговит и аргогель. / «Применение препаратов серебра в медицине». – Сб. трудов по материалам научно-практической конференции «Новые химические системы и процессы в медицине», под ред. Е.М. Блажитко, Новосибирск, 2003, стр. 58 – 63.
5. Применение препаратов серебра в медицине. – Сб. трудов по материалам научно-практической конференции «Новые химические системы и процессы в медицине», под ред. Е.М. Блажитко, Новосибирск, 2003, 115 с.
6. Блажитко Е.М., Бурмистров В.А., Колесников А.П., Михайлов Ю.И., Родионов П.П. – Серебро в медицине – Новосибирск, Наука-Центр, 2004 г., 254 с.
7. Серебро против простуды и гриппа. – «Аргументы и факты», 2004 г., № 2, с.13.
8. Серебро дороже золота. – «Аргументы и факты», 2004 г., № 11, с. 9.