



Биолог. журн. Армении, 2 (70), 2018

## АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ КОЛЛОИДНОГО СЕРЕБРА “SILVERTON”

Н.С. МНАЦАКАНЯН

*Испытательная лаборатория ООО “ЭФ-ДИ-ЭЙ Лаборатория”, марз Котайк,  
Ереванский государственный университет, кафедра биохимии,  
микробиологии и биотехнологии,  
nara.vika@mail.ru*

Была изучена антибактериальная и противогрибковая активность разных концентраций коллоидного серебра “Silverton” по отношению к *Eischerichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 и *Candida albicans*. Применен диск диффузионный метод. Была выяснена минимальная ингибирующая концентрация (MIC) коллоидного серебра по отношению к вышеперечисленным микроорганизмам. Из результатов исследования можно заключить, что коллоидное серебро “Silverton” обладает антимикробной активностью. Рекомендуется применять коллоидное серебро “Silverton” в качестве антибактериального и противогрибкового средства.

*Коллоидное серебро – микроорганизм – антимикробная, антибактериальная –  
противогрибковая активность – минимальная ингибирующая концентрация*

Ուսումնասիրվել է “Silverton” կոլոիդային արծաթի տարբեր կոնցենտրացիաների հակաբակտերիալ և հակասնկային ակտիվությունը *Eischerichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 և *Candida albicans* մանրէների նկատմամբ: Կիրառվել է դիսկ դիֆուզիոն մեթոդը: Որոշվել է կոլոիդային արծաթի նվազագույն արգելակման կոնցենտրացիան (MIC) վերը նշված միկրոօրգանիզմների նկատմամբ: Զետազոտության արդյունքներից կարելի է եզրակացնել, որ “Silverton” կոլոիդային արծաթն ունի հակամանրէային ակտիվություն: Խորհուրդ է տրվում օգտագործել “Silverton” կոլոիդային արծաթը որպես հակաբակտերիալ և հակասնկային միջոց:

*Կոլոիդային արծաթ – միկրոօրգանիզմ – հակամանրէային, հակաբակտերիալ – հակասնկային  
ակտիվություն – նվազագույն արգելակման կոնցենտրացիա*

Antibacterial and antifungal activity of various concentrations of colloidal silver “Silverton” towards *Eischerichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 and *Candida albicans* has been studied. The disk diffusion method was applied. The minimum inhibitory concentration (MIC) of colloidal silver in relation to the above listed microorganisms has been determined. From the results of study, one can conclude that colloidal silver “Silverton” has antimicrobial activity. The using of colloidal silver “Silverton” as an antibacterial and antifungal agent is recommended.

*Colloidal silver – microorganism – antimicrobial, antibacterial, antifungal activity –  
minimum inhibitory concentration*

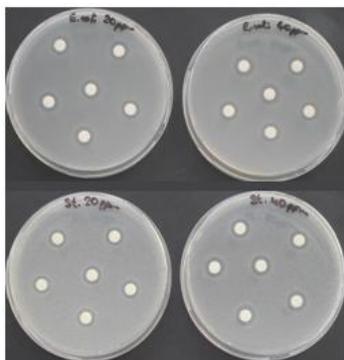
В настоящее время существует большое разнообразие антимикробных препаратов, действие которых заключается в способности подавлять рост и размножение микроорганизмов и вызывать их гибель. К ним относятся антисептики, антибиотики и противогрибковые средства. Из антисептиков наиболее распространенными являются этанол, раствор йода, перекись водорода, бриллиантовый зелёный, борная кислота, хлоргексидин глюконат и т.д. Есть также огромное разнообразие антибиотиков и противогрибковых средств, которые в зависимости от характера воздействия на клетку делят на две группы: бактериостатические или фунгостатические (угнетающие размножение микроорганизма) и бактерицидные или фунгицидные (убивающие микроорганизмы). При продолжительном воздействии антимикробных препаратов микроорганизмы могут вырабатывать устойчивость по отношению к ним [1]. Возникает вопрос разработки новых противомикробных препаратов для борьбы с микроорганизмами, вызывающими заболевания.

Еще с древних времен было известно, что некоторые металлы обладают антимикробными свойствами, которое больше выражено у серебра (Ag) [2]. В дальнейшем, по мере развития нанотехнологий, были получены наночастицы, которые могли иметь новые свойства [3]. В работах многих ученых показана антибактериальная и противогрибковая активность наночастиц Ag [4]. Биологической активностью обладают также нанокompозиты из Ag [5].

Нами было предложено использовать коллоидное Ag, которое известно под торговым названием “Silverton”, в качестве противомикробного средства. Целью данной работы является изучение антибактериальных и антигрибковых свойств коллоидного Ag “Silverton” по отношению к *Eischerichia coli* (*E.coli*), *Enterococcus faecalis* (*E.faecalis*), *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*), *Pseudomonas aeruginosa* (*P.aeruginosa*), *Candida albicans* (*C.albicans*), а также определение минимальной ингибирующей концентрации (МИС) по отношению к вышеперечисленным микроорганизмам.

**Материал и методика.** Для изучения воздействия коллоидного Ag “Silverton” на микроорганизмы использовали Грам отрицательные палочковидные бактерии: *E. coli* American Type Culture Collection (ATCC) 25922 и *P. aeruginosa* ATCC 9027, Грам положительные кокковые бактерии: *S. aureus* ATCC 25923 и *E. faecalis* ATCC 29212, а также дрожжеподобный микроскопический гриб *C. albicans* (выделен из клинического материала).

Для определения антибактериальных и антигрибковых свойств применяли диск диффузионный метод [6]. Для приготовления газона в чашках Петри использовали суточные культуры вышеперечисленных микроорганизмов. С помощью спектрофотометра получили бульон мутностью 0,5 Мак-Фарланда с абсорбцией 0,08-0,13 при длине волны 625 нм, что соответствует  $10^8$  КОЕ (Колония Образующая Единица)/мл, из которого затем получили  $10^6$  КОЕ/мл с помощью десятикратных разведений. Для *C. albicans* 0,5 MacFarland соответствует  $10^6$  КОЕ/мл, из-за более крупных размеров клетки. По 2 мл с  $10^6$  КОЕ/мл разведения каждой тест культуры внесли в чашки Петри с питательной средой Nutrient agarом (Liofilchem, Italy), распределили по поверхности питательной среды, излишек жидкости удалили. Сразу же на инокулированную поверхность питательной среды положили целлюлозные диски, смоченные разными концентрациями коллоидного Ag “Silverton”: 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100 мг/л. Исходная концентрация коллоидного Ag была установлена с помощью атомно-абсорбционного спектрометра (Shimadzu серии AA-7000/ААС, Япония), после чего были приготовлены соответствующие разведения с помощью стерильной деионизированной воды. Антимикробную активность каждой концентрации коллоидного Ag по отношению к каждому из микроорганизмов проверяли в 6-ти повторностях. Параллельно с ними использовали также диски, смоченные стерильной деионизированной водой. Чашки инкубировали при температуре 37°C в течение 24 ч. После инкубационного периода измеряли диаметры подавления роста тест-культур вокруг наложенных дисков (рис.1). Измерение осуществляли с помощью штанген-циркуля [7].



**Рис.1.** Целлюлозные диски, смоченные разными концентрациями коллоидного Ag, наложенные на питательные среды с инокулированными тест-культурами: верхние две – *E. coli* (слева 20 мг/л, справа 40 мг/л), нижние две – *E. faecalis* (слева 20 мг/л, справа 40 мг/л). Вокруг дисков видны зоны задержки роста тест-культур.

**Результаты и обсуждение.** Полученные значения измерений усреднили для каждой концентрации коллоидного Ag по отношению к определенной тест-культуре. Подсчитали также относительную ошибку (RE) для каждого значения. Результаты отображены в табл. 1.

**Таблица 1.** Величины зон задержки роста тест-культур (мм) в зависимости от концентрации коллоидного Ag "Silverton"

Зоны задержки роста тест-культур, мм	Концентрации коллоидного Ag, мг/л											
	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	
<i>E. coli</i>	0	2,67 ±0,37	3,37 ±0,15	3,43 ±0,18	3,59 -0,41 +0,20	4,04 ±0,33	4,02 -0,26 +0,13	4,08 ±0,28	4,13 ±0,38	4,45 ±0,30	4,99 ±0,47	
<i>P. aeruginosa</i>	0	1,29 ±0,14	1,41 ±0,16	2,44 -0,10 +0,19	2,45 ±0,15	3,32 -0,40 +0,20	3,21 ±0,21	3,65 ±0,10	3,96 -0,12 +0,23	4,65 -0,35 +0,18	5,21 -0,45 +0,91	
<i>S. aureus</i>	0	0	1,05 -0,11 +0,23	1,57 -0,10 +0,19	2,25 -0,20 +0,10	2,98 ±0,23	3,12 ±0,23	3,17 -0,33 +0,17	3,27 -0,43 +0,22	4,40 -0,20 +0,40	4,53 ±0,37	
<i>E. faecalis</i>	0	0	1,47 -0,41 +0,83	2,22 ±0,47	2,51 ±0,33	2,57 ±0,13	2,74 ±0,24	2,80 ±0,22	2,91 -0,44 +0,22	3,05 -0,68 +0,34	3,35 -0,45 +0,23	
<i>C. albicans</i>	0	0	0	0	3,63 ±0,17	4,18 ±0,28	4,37 ±0,18	5,14 -0,78 +0,39	5,97 ±0,36	6,27 -0,16 +0,32	6,28 -0,24 +0,48	

Из табл. 1 видно, что коллоидное Ag подавляет рост микроорганизмов в разной степени, что зависит как от концентрации коллоидного Ag, так и от вида микроорганизма.

Одна и та же концентрация коллоидного Ag влияет на разные микроорганизмы в разной степени. В то же время разные концентрации коллоидного Ag подавляют рост одного и того же микроорганизма в разной степени и чем выше концентрация, тем в большей степени подавляется рост микроорганизма. Таким образом, степень задержки роста микроорганизма прямо пропорциональна концентрации

коллоидного Ag, и эта зависимость проявляется у всех микроорганизмов исследуемых в данном опыте.

Концентрация в 10 мг/л имела подавляющее воздействие лишь на *E.coli* и *P. aeruginosa*, которое более выражено у *E. coli*. У *S. aureus*, *E. faecalis* и *C. albicans* концентрация в 10 мг/л вообще не вызвала задержки роста. У *S. aureus* и *E. faecalis* задержка роста проявляется начиная с концентрации 20 мг/л, а у *C. albicans* – начиная с концентрации 40 мг/л. При сравнении зон задержки роста Грам положительных и Грам отрицательных бактерий видно, что Грам отрицательные бактерии более чувствительны к воздействию наночастиц Ag. Так, коллоидное Ag с концентрацией 10 мг/л подавляет рост только Грам отрицательных бактерий, у Грам положительных бактерий задержка роста проявляется начиная с 20 мг/л. Кроме того, у Грам отрицательных бактерий более выражена степень задержки роста, вызванная воздействием разных концентраций наночастиц Ag. Так, у *E. coli* и *P. aeruginosa* зоны подавления роста вокруг наложенных дисков больше, чем у *S. aureus* и *E. faecalis*: с 10 мг/л до 80 мг/л наибольшая зона подавления роста наблюдается у *E. coli*, в случае 90 мг/л и 100 мг/л – у *P. aeruginosa*. Несмотря на это, при сравнении величины зон задержки роста у всех микроорганизмов видно, что начиная с 40 мг/л наибольшая зона подавления роста наблюдается у *C. albicans*, по сравнению с остальными микроорганизмами (рис.2).

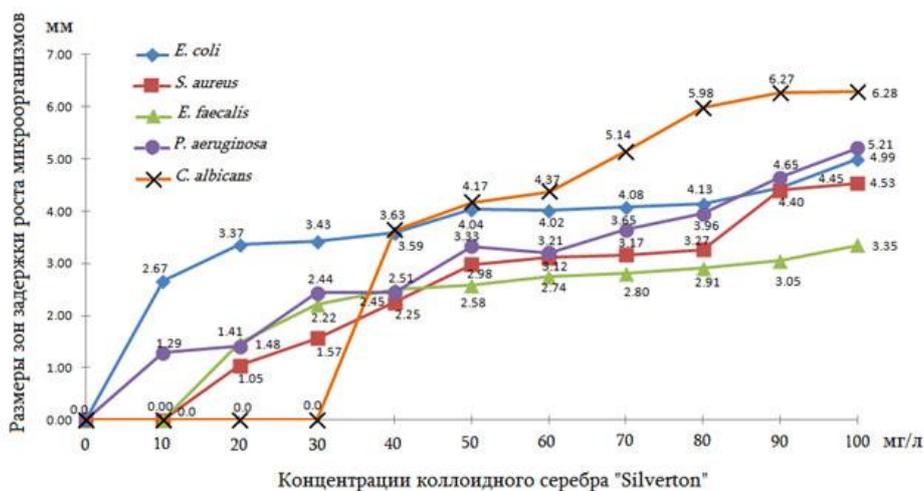


Рис.2. Зоны задержки роста тест-культур в зависимости от концентрации коллоидного Ag “Silverton”

Обобщая данные, можно заключить, что МИС для *E.coli* и *P. aeruginosa* является 10 мг/л коллоидного Ag “Silverton”, для *S. aureus* и *E. faecalis* – 20 мг/л коллоидного Ag “Silverton”, для *C.albicans* – 40 мг/л коллоидного Ag “Silverton”. Молекулярные и биохимические основы антимикробной активности Ag в полной мере еще не выяснены, хотя есть множество научных работ, направленных на их изучение [8, 9]. Многими научными исследованиями доказано наличие выраженной антибактериальной и антигрибковой активности наночастиц Ag, также выяснена зависимость противомикробной активности наночастиц Ag от их формы, размеров, разряженности [10-12].

Нет единой теории, объясняющей механизм антимикробного воздействия Ag на клетку. Однако известно, что воздействие Ag на клетку начинается с их адсорбции на клеточной оболочке, после чего запускаются механизмы, приводящие к торможению деления клетки, что заканчивается ее гибелью.

Основное преимущество наночастиц – это сочетание большой площади поверхности и малого удельного веса, что обеспечивает высокую эффективность их воздействия. Таким образом, чем меньше размеры частиц, тем больше площадь поверхности контакта Ag с микроорганизмами.

В связи с наличием хорошо выраженной антимикробной активности наночастицы Ag и нанокompозиты из Ag нашли широкое применение во многих отраслях деятельности человека. Сфера их применения продолжает расширяться.

Согласно данным агентства США по регистрации заболеваемости людей, вызванной воздействием токсичных веществ, нет зарегистрированных случаев нарушений здоровья человека в результате обработки кожи с помощью Ag или его соединениями. Однако были зарегистрированы случаи умеренных аллергических реакций у людей при частых кожных контактах с порошкообразным цианидом Ag, растворами рентгенографии и на Ag в зубной амальгаме. Других случаев нарушений здоровья человека, возникших при кожном контакте с Ag или его соединениями не были зарегистрированы [13]. Известно, что длительное воздействие Ag или его соединений на кожу может привести к локальному изменению пигментации, но количество Ag и продолжительность его воздействия, которые могут привести к данным последствиям, не установлены. Ag или его соединения, нанесенные на кожу в незначительных количествах (менее 1%), могут абсорбироваться, удаляются из организма человека через выделительную систему, так например, период его "полувыведения" из организма (печени) может достигать от нескольких до 50 дней [14].

Экспериментально установлено, что Ag имеет бактериостатическое действие, однако мутагенной активности Ag не выявлено. Также не установлено и канцерогенное действие Ag [13].

Таким образом, на основе результатов, полученных в настоящем исследовании, можно сделать вывод, что коллоидное Ag "Silverton" обладает антибактериальным и антигрибковым воздействием. Имея в виду вышеизложенное, рекомендуется применять "Silverton" в качестве антимикробного средства с концентрациями 20 мг/л и 40 мг/л. Это наименьшие концентрации, при которых проявляются антибактериальная и антигрибковая активность по отношению к микроорганизмам, изученным в данном исследовании, при этом исключается возможность побочных эффектов из-за воздействия больших концентраций Ag.

Автор выражает благодарность д.б.н., проф. А.А. Трчуняну за советы и критические замечания.

## ЛИТЕРАТУРА

1. *Martens E., Demain A.L.* The antibiotic resistance crisis, with a focus on the United States. *J Antibiot.*, 70, 5, 520-26, 2017.
2. *Lemire J.A., Harrison J.J. & Turner R.J.* Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications. *Nat. Rev. Microbiol.*, 11, 371-84, 2013.
3. *Heiligtag F.J., Niederberger M.* The fascinating world of nanoparticle research. *Materials Today* 16, 7-8, 262-71, 2013.

4. Zhang X.F., Liu Z.G., Shen W, Gurunathan S. Silver Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Properties, Applications and Therapeutic Approaches. *Int. J. Mol. Sci.* 17, 9, 1534, 2016.
5. Mnatsakanyan N., Trchounian A. Nanocomposite filter made from porous mineral tuff with absorbed silver nanoparticles and its application for disinfection of water. *J. Water Supply: Science and Technol.*, 67, 2, 127-36, 2018.
6. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Disk diffusion method. Antimicrobial susceptibility testing. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Version 5.0, 2015.
7. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). *Disc diffusion method for antimicrobial susceptibility testing. Reading guide.* European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Version 4.0, 2014.
8. Bao H., Yu X., Xu C., Li X., Li Z., Wei D., Liu Y. *New Toxicity Mechanism of Silver Nanoparticles: Promoting Apoptosis and Inhibiting Proliferation.* PLoS ONE, 10, 3, e0122535, 2015.
9. Durán N., Durán M., de Jesus M.B., Seabra A.B., Fávaro W.J., Nakazato G. Silver nanoparticles: A new view on mechanistic aspects on antimicrobial activity. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 12, 3, 789-99, 2016.
10. Liu H.L., Dai S.A., Fu K.Y., Hsu S.H. Antibacterial properties of silver nanoparticles in three different sizes and their nanocomposites with a new waterborne polyurethane. *Int J. Nanomedicine*, 5, 1017-28, 2010.
11. Ayala-Nunez N.V., Lara Villegas H.H., del Carmen Ixtapan Turrent L., Padilla C.R. Silver Nanoparticles Toxicity and Bactericidal Effect Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Nanoscale Does Matter. *Nanobiotechnol* , 5, 1-4, 2-9, 2009.
12. Sadeghi B., Garmaroudi F.S., Hashemi M., Nezhad H.R., Nasrollahi A., Ardalan Si., Ardalan S. Comparison of the anti-bacterial activity on the nanosilver shapes: Nanoparticles, nanorods and nanoplates. *Adv Powder Technol.*, 23, 1, 22-26, 2012.
13. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). Toxicological profile for Silver. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service; 1990.
14. Nordberg G.F., Gerhardsson L. Silver. In: Seiler H.G., Sigel H., Sigel A., Eds. *Handbook on the toxicity of inorganic compounds.* New York, Marcel Dekker; p. 619-624, 1988.

Поступила 17.04.2018