

method of combining antimicrobial medications of different pharmacological groups. The result of experimental study by of "checkerboard method" was shown synergistic inhibitory activity of ciprofloxacin with ceftasidim in relation to *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterobacteriae* polyantibiotic-resistant strains.

**Key words:** combinations of the antibiotics, polyantibiotic-resistant strains, "checkerboard" method.

Рецензент - д.мед.н. Похил С.І.

Стаття надійшла до редакції 10.11.2015 р.

Дяченко Валентина Федорівна - к.біол.н., ст. наук. співроб., провідний науковий співробітник лабораторії анаеробних інфекцій ДУ "ІМІ НАМН"; +38 057 731-31-51; anaerob.lab@ukr.net

Марющенко Анатолій Михфйлович - к.мед.н., ст. наук. співроб., провідний науковий співробітник лабораторії анаеробних інфекцій ДУ "ІМІ НАМН"; anaerob.lab@ukr.net

Чигиринська Ніла Анатоліївна - ст. наук. співроб. лабораторії анаеробних інфекцій ДУ "ІМІ НАМН"; anaerob.lab@ukr.net

Куцай Наталія Михайлівна - лаборант першої категорії лабораторії анаеробних інфекцій ДУ "ІМІ НАМН"; anaerob.lab@ukr.net

© Голубнича В.М., Трофименко Я.В., Калінкевич О.В., Корнієнко В.В., Скляр А.М.

УДК: 615.324:579.873.21

**Голубнича В.М.<sup>1</sup>, Трофименко Я.В.<sup>2</sup>, Калінкевич О.В.<sup>2</sup>, Корнієнко В.В.<sup>1</sup>, Скляр А.М.<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Сумський державний університет, кафедра гігієни та екології з курсом мікробіології, вірусології та імунології (вул. Римського-Корсакова, 2, м. Суми, 40007, Україна), <sup>2</sup>Інститут прикладної фізики, Національна академія наук України (вул. Петропавлівська, 58, м. Суми, 40000, Україна), <sup>3</sup>Сумський державний педагогічний університет ім. А.С. Макаренка (вул. Роменська, 87, м. Суми, 40002, Україна)

## АНТИБАКТЕРІАЛЬНА ДІЯ КОМПЛЕКСНИХ ПРЕПАРАТІВ НА ОСНОВІ ХІТОЗАНУ ТА НАНОЧАСТИНОК МІДІ

**Резюме.** У роботі досліджено протибактеріальні властивості комплексних препаратів на основі хітозану та наночастинок міді по відношенню до клінічних штамів *S.aureus*, *E.coli* та *P.aeruginosae*, з метою подальшого використання їх при створенні препаратів із протимікробною дією.

**Ключові слова:** мікроорганізми, хітозан, наночастинок міді, протибактеріальна дія.

### Вступ

У наш час інфекції залишаються головною причиною захворюваності та смертності у всьому світі [9]. Однією із причин неефективності наявних методів лікування є постійне збільшення кількості антибіотикорезистентних мікроорганізмів. Це стало серйозним викликом для системи охорони здоров'я і все більше зводить нанівещь здобути успіхи [6]. Пошук нових підходів у вирішенні даного питання дозволить попередити виникнення ускладнень та поширення інфекцій у суспільстві.

В останні десятиліття значно зросла цікавість науковців до наночастинок металів [1], серед яких на особливу увагу заслуговують наночастинок міді [5]. Стабілізувати наночастинок, помістити їх у зручну для використання в практиці гелеподібну форму можливо за допомогою полімерів. Серед багатьох полімерів, як синтетичних, так і природних, в даному контексті найбільш придатним здається хітозан, оскільки хітозан може не лише бути інертною матрицею для наночастинок металів, але проявляє й власну біологічну активність. Хітозан - один із небагатьох природних катіонітів, для якого притаманні біосумісність із тканинами макроорганізму, здатність до біодеградації та протимікробна активність [6]. Деякі роботи вказують на синергічність протимікробної дії суспензій наночастинок металів та хітозану [8].

Метою даної роботи було дослідження антибактеріальної дії комплексних препаратів хітозану та наночастинок міді на умовно-патогенні мікроорганізми.

### Матеріали та методи

Розчини хітозану (3%) готували розчиненням хітозану (молекулярна маса 500 кДа, ступінь деацетилювання 85%, виробництво ЗАО "Біопрогрес" м. Москва) у 1% оцтової (ОК), молочній кислоті (МК) або аскорбінової (АК) кислоті протягом 24 годин до повного розчинення хітозану. Оксалат хітозану (доц. Скляр А.М., кафедра хімії СДПУ ім. А.С. Макаренка) розчиняли в оцтової кислоті. Для синтезу наночастинок міді до розчину хітозану в оцтової та молочній кислотах та розчину оксалату хітозану спочатку додавали розчин аскорбінової кислоти (10%) - кінцева концентрація 0,1%, а потім розчин сульфату міді (II) п'ятиводний ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 50 мМ. До розчину хітозану в аскорбінової кислоті одразу додавали розчин сульфату міді. Отримані суміші інкубували спочатку 3 години при 60 °С, а потім 24 години при 37 °С для повного відновлення міді та використовували для подальших досліджень. Також в дослідженні використовували розчин сульфату міді (концентрація міді 600 мкг/мл), 3% розчини хітозану в оцтової, молочній та аскорбінової кислотах.

У якості тест-культур було використано мультирезистентні штами (*S.aureus*, *E.coli* і *P.aeruginosae*), виділені від хворих із гострими респіраторними захворюваннями. Вивчення чутливості мікроорганізмів проводили методом серійних розведень у агарі. До вихідних концентрацій досліджуваних речовин додавали нагрітий до 50

°С МПА у співвідношенні від 1:40 до 8:40. Із добових культур досліджуваних мікроорганізмів готували мікробну суспензію, яка відповідала 0,5 одиницям оптичної густини за шкалою Мак-Фарланда, потім розводили її у 10 разів та інокулювали на поверхню агару, при цьому утворювалась пляма діаметром 5-8 мм. Посіви інкубували за температури 37 °С упродовж 24 год, за МІК вважали таку кількість речовин, що викликала повну інгібіцію видимого росту [2].

Статистичну обробку результатів здійснювали шляхом визначення похибки відносних величин та коефіцієнту Стюдента із використанням програми GraphPad. Різницю між групами вважали статистично значимою при  $t \geq 2$  та  $p < 0,05$ .

### Результати. Обговорення

Всі штами, які було використано у роботі, попередньо досліджувались на чутливість до азитроміцину, левофлоксацину, кларитроміцину, цифрану та метициліну. Аналіз отриманих результатів показав, що 50% мікроорганізмів були резистентними більше ніж до трьох антибіотиків, а всі досліджувані штами стафілококів були резистентними до метициліну.

Дослідження антибактеріальної дії хітозану та його комплексних препаратів із НЧ міді виявило, що проти-мікробна активність сполук залежить від складу та способу отримання (табл. 1).

Усі досліджувані зразки демонстрували антибактеріальну активність стосовно мультирезистентних штамів мікроорганізмів. Розчин хітозану пригнічував ріст досліджуваних мікроорганізмів у концентрації 3 мг/мл та вище. Додавання наночастинок міді призводило до підсилення антибактеріальної дії хітозану (ріст мікроорганізмів пригнічувався при концентрації 0,75 мг/мл). МІК комплексних препаратів хітозану з наночастинами міді для (0,75-1,5 мг/мл) була у 2 та більше рази нижче порівняно із МІК для *E.coli* і *P. aeruginosae* (3-6 мг/мл). Отримані нами результати відрізняються від даних наведених у інших дослідженнях [4], де відмічається більша чутливість *E.coli* відносно комплексних препаратів наночастинок хітозану легованих металами. Можливо це пов'язано з тим, що в дослідженні [4] використовували наночастинок хітозану та метали в іонній формі (водорозчинні солі металів). В нашій роботі досліджувалися наночастинок міді, стабілізовані розчином хітозану.

Найбільш ефективними виявились комплексні препарати хітозану, отриманого із використанням молочної кислоти, та оксалату хітозану у поєднанні із наночастинами міді. Відомо, що позитивно заряджені групи хітозану, приєднуючись до негативно зарядженої по-

**Таблиця 1.** Антибактеріальна активність хітозану та його комплексних препаратів із наночастинами міді.

Склад досліджуваної субстанції	Відсоток чутливих штамів (%) n=14, концентрація досліджуваних речовин (хітозан (мг/мл)/НЧ Cu (мкг/мл))			
	0,75/15	1,5/30	3/60	6/120
Хітозан АК	0	0	0	0
Хітозан АК Cu	0	64,2±3,7* p<0,0001	100±1,9	100±1,9
Хітозан ОК	0	28,6±3,5	100±1,9	100±1,9
Хітозан ОК Cu	0	71,4±3,5* p<0,0001	100±1,9	100±1,9
Оксалат хітозану	42,9±3,8	100±1,9	100±1,9	100±1,9
Оксалат хітозану Cu	78,6±3,1* p<0,0001	100±1,9	100±1,9	100±1,9
Хітозан МК	0	0	42,9±3,8	100±1,9
Хітозан МКCu	78,6±3,1* p<0,0001	100±1,9* p<0,0001	100±1,9	100±1,9
CuSO <sub>4</sub>	0	0	0	0
2% CH <sub>3</sub> COOH	0	0	28,6±3,5	35,7±3,7

**Примітка.** \* - статистично достовірна різниця із даними клітинки, яка розташована вище у стовбці. АК - аскорбінова кислота, ОК - оцтова кислота, МК - молочна кислота.

верхні мікробної клітини, порушують її метаболізм [7], а іони міді викликають порушення бар'єрної функції клітинної мембрани [3]. Можна припустити, що поєднання цих двох ефектів призводить до взаємного підсилення антибактеріальної дії цих речовин та дозволяє знижувати їх МІК.

### Висновки та перспективи подальших розробок

1. Комплексні препарати із хітозану та наночастинок міді проявляють сильнішу протимікробну дію, ніж чисті гелі хітозану та іони міді. Використання в якості розчинника для хітозану молочної кислоти або оксалату дозволяє знизити МІК хітозану та наночастинок міді у два рази. Стафілококи є більш чутливими до дії комплексних препаратів із хітозану та наночастинок міді, порівняно із *E.coli* і *P.aeruginosae*.

Детальне дослідження препаратів хітозану в поєднанні з наночастинами металів, їхніх фізико-хімічних властивостей та механізмів дії на бактеріальні клітини, вірусні частинки. Створення на основі отриманих результатів найбільш прийнятних з точки зору безпечності та антибактеріальної дії антисептиків. Детальне дослідження впливу комплексних препаратів на основі хітозану та наночастинок міді на властивості мікроорганізмів і на людину є перспективним напрямком наукових пошуків.

### Список літератури

1. Вплив металів-мікроелементів на функціональний стан бактерій-пробіотів / Л. С. Резніченко, Т. Г. Грузіна, В. В. Вембер [та ін.] // Український біохімічний журнал. - 2008. - № 1. - С. 96-101.
2. Про затвердження методичних вказівок "Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів": Наказ від 05.04.2007, № 167. - Офіц. вид. - К.: Міністерство охорони здоров'я України, 2007.

- 23 с. - (Нормативний документ).
3. Роль активных форм кислорода в медь-индуцированной проницаемости плазматической мембраны бактерий *E. coli* / В.С. Лебедев, Ф.В. Веселовский, Е.Ю. Дейнега [и др.] // Биофизика. - 2002. - № 2. - С. 295-299.
  4. Суходуб Л. Б. Наночастинок хітозану, модифіковані іонами металів / Л.Б. Суходуб // Журнал нано та електронної фізики. - 2014. - № 4. - С. 04034-1-6.
  5. Чекман І. С. Нанофармакологія: стан та перспективи наукових досліджень / І.С. Чекман, О. В. Ніцак // Вісник фармакології та фармації. - 2007. - № 11. - С. 7-10.
  6. Copper Complexation Screen Reveals Compounds with Potent Antibiotic Properties against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* / M. Haeili, C. Moore, C. Daviset [et al.] // Antimicrob Agents Chemother. - 2014. - № 58(7). - P. 3727-3736.
  7. Development of antimicrobial jute packaging using chitosan and chitosan-metal complex / A. Higazy, M. Hashem, A. ElShafeiet [et al.] // Carbohydrate Polymer. - 2010. - № 79 (4). - P. 867-874.
  8. Singla A. Chitosan: some pharmaceutical and biological aspects-an update / A. Singla, M. Chawla // J. Pharm. Pharmacol. - 2001. - № 53 (8). - P. 1047-1067.
  9. Viraeltiology of acute respiratory tract infection among pediatric inpatients and outpatients from 2010 to 2012 in Beijing, China / C. Liu, Y. Xiao, Z. Xie [et al.] // Chinese journal of pediatrics. - 2013. - № 51 (4). - P. 255-9.

**Голубничая В.Н., Трофименко Я.В., Калининвич О.В., Корниенко В.В., Скляр А.М.**

#### АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЕ ДЕЙСТВИЕ КОМПЛЕКСНЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ХИТОЗАНА И НАНОЧАСТИЦ МЕДИ

**Резюме.** В работе исследованы противобактериальные свойства комплексных препаратов на основе хитозана и наночастиц меди по отношению к клиническим штаммам *S.aureus*, *E. coli* и *P. aeruginosae*, с целью дальнейшего использования их при создании препаратов с противомикробным действием.

**Ключевые слова:** микроорганизмы, хитозан, наночастицы меди, противобактериальное действие.

**Holubnychya V. M., Trofimenko Y.V., Kalinkevych O.V., Kornienko V.V., Sklyar A.M.**

#### ANTIBACTERIAL ACTION OF CHITOSAN AND COPPER NANOPARTICLES COMPOSITES

**Summary.** We studied the antibacterial activities of chitosan and copper nanoparticles composites against clinical strains of *S.aureus*, *E. coli* and *P. aeruginosae* for further use their as components of the drugs with antimicrobial action.

**Key words:** microorganisms, chitosan, copper nanoparticles, antibacterial action.

*Рецензент - д.мед.н., проф. Дяченко А.Г.*

*Стаття надійшла до редакції 19.11.2015 р.*

*Голубничая Вікторія Миколаївна - доц. кафедри гігієни та екології СумДУ; +38 098 59-31-032; golubnichiy@ukr.net*

*Трофименко Яна Віталіївна - аспірант відділу радіаційної біофізики Інституту прикладної фізики НАН України*

*Калініквич Оксана Володимирівна - м.н.с відділу радіаційної біофізики Інституту прикладної фізики НАН України*

*Корниенко Вікторія Володимирівна - асистент каф. гігієни та екології СумДУ*

*Скляр Анатолій Михайлович - доц. кафедри хімії Сумського державного педагогічного університету ім. А.С.Макаренка*

© Гураль А.Р., Панас М.А., Корнійчук О.П.

УДК: 612.336.3:615.276.065]-08

**Гураль А.Р., Панас М.А., Корнійчук О.П.**

Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, кафедра мікробіології (вул. Пекарська 69, м. Львів, 79010, Україна)

## ВПЛИВ НЕСТЕРОЇДНОГО ПРОТИЗАПАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ НАПРОКСЕНУ НА МІКРОФЛОРУ КИШЕЧНИКА В ЕКСПЕРИМЕНТІ

**Резюме.** Досліджено вплив напроксену на мікробіоценоз вмісту різних відділів травного каналу білих щурів ( $N=20$ ), яким вводили препарат у дозі 10 мг/кг *per os*. При скринінговому дослідженні активності напроксену на стандартні культури мікроорганізмів *in vitro* встановлено інгібуючий вплив напроксену на *Staphylococcus aureus* ATCC 25923(F - 49), *Candida albicans* ATCC 885-653, відсутність ефекту відносно *Escherichia coli* ATCC 25922. Застосування напроксену дозволило констатувати активацію усіх груп досліджених мікроорганізмів у проксимальних відділах травного каналу в порівнянні з показниками тварин інтактної групи. Встановлено наявність ешерихій у всіх відділах травного каналу при застосуванні напроксену на тлі відсутності кишкової палички в *diodepit* інтактних тварин (у досліді - на рівні  $(2, 1 \pm 0, 20)$  ІгКУО/г). Виявлено також деяку активацію мікроаерофільної молочнокислої мікрофлори у верхній частині травного каналу: лактобацил - на рівні  $(4, 0 \pm 0, 16)$  ІгКУО/г проти  $(3, 4 \pm 0, 29)$  в контролі, біфідобактерій - на рівні  $(2, 0 \pm 0, 30)$  проти  $(3, 0 \pm 0, 28)$  ІгКУО/г.

**Ключові слова:** напроксен, протимікробна активність, білі щурі, мікробіоценоз кишечника.

### Вступ

Однією з важливих функцій нормосимбіонтної мікрофлори людського організму є її протективна активність відносно хімічних та біологічних факторів, що порушують гомеостаз людського організму. Особливо

важливим є збереження цілісності полімікробних пліткових структур слизової оболонки травного каналу. Найбільш потужним чинником, що спричинює мікроекологічні порушення є застосування протимік-