

УДК 615.468.8:615.281:[620.3:546.57]:576.8.06

Кабешев Б.О.<sup>1</sup>, Шевченко Н.И.<sup>1</sup>, Бонцевич Д.Н.<sup>2</sup>, Васильков А.Ю.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека, Гомель, Беларусь

<sup>2</sup> Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

<sup>3</sup> Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, Россия

Kabeshev B.O.<sup>1</sup>, Shevchenko N.I.<sup>1</sup>, Bontsevich D.N.<sup>2</sup>, Vasilkov A.Yu.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> National Scientific and Practical Centre of Radiation Medicine and Human Ecology, Gomel, Belarus

<sup>2</sup> Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

<sup>3</sup> M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

## Характеристика *in vitro* антибактериальной активности шовного материала на основе полиамида, модифицированного наночастицами серебра, в отношении музейных и клинических штаммов микроорганизмов *St. aureus*, *E. coli* и *Ps. aeruginosa*

*In vitro* characteristics of antibacterial activity of polyamide-based suture material modified by silver nano-particles in relation to museum and clinic strains of *St. aureus*, *E. coli* и *Ps. aeruginosa*

### Резюме

В статье представлена информация о способе получения и результатах исследования *in vitro* антиинфекционных свойств нового антибактериального шовного материала на основе полиамида, модифицированного наночастицами серебра. Изучали образцы шовного материала, модифицированного наночастицами серебра, за 12 месяцев до опытного исследования. Исследовались нестерильные и стерильные (автоклавирование) образцы хирургических нитей, модифицированных наночастицами серебра. Установлено, что новый шовный материал обладает выраженным антибактериальным эффектом. Антибактериальная активность одинаково выражена как в отношении музейных (ATCC), так и клинических штаммов микроорганизмов *St. aureus*, *E. coli* и *Ps. aeruginosa*. Степень выраженности антибактериального эффекта не зависела от времени экспозиции образца исследуемой нити в суспензии микроорганизмов. Кроме того, не было выявлено различий в выраженности антибактериального эффекта как для нестерильных, так и стерильных образцов хирургических нитей, модифицированных наночастицами серебра.

**Ключевые слова:** хирургическая шовная нить, наночастицы серебра, *St. aureus*, *E. coli*, *Ps. aeruginosa*.

## Resume

---

The article provides with information on the method of obtaining and investigation of antibacterial properties of a new antibacterial polyamide-based suture material modified by silver nano-particles. The samples of sterile and non-sterile suture materials were modified by silver nano-particles have been studied for over 12 months before performing investigation. The investigation was conducted both for non-sterile and sterile (by autoclaving) samples of surgical threads modified by silver nano-particles. It has been established that suture material modified by silver nano-particles has a markable antibacterial affect. Antibacterial activity was similarly manifested both in relation to ATCC (American Tissue Culture Collection) strains and to clinical ones of *St. aureus*, *E. coli*, *Ps. aeruginosa*. The degree of antibacterial affect evidence for independence from exposure time of an investigated thread sample in microorganisms suspension. Besides, no differences in antibacterial affect evidence both for non-sterile and sterile samples of surgical threads modified by silver nano-particles was revealed.

**Key words:** surgical suture thread, silver nano-particles, *St. aureus*, *E. coli*, *Ps. aeruginosa*.

---

## ■ ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на активное внедрение в хирургическую практику новых средств и методов (антибактериальные препараты, видеолапароскопия, дренирование и т.д.), проблема послеоперационных осложнений остается нерешенной и процент осложнений не уменьшается. Наиболее известные и тяжелые послеоперационные осложнения – инфекции области хирургического вмешательства – составляют большую долю в числе всех послеоперационных осложнений и остаются самой частой причиной летальности (до 77%). Кроме того, развитие гнойно-септических инфекций в ране отягощает течение основного заболевания, вследствие чего удлинняется время пребывания больного в стационаре, увеличивается стоимость лечения и сроки восстановления трудоспособности оперированных больных.

В настоящее время доминирующей причиной послеоперационных гнойных раневых осложнений считают не столько госпитальные штаммы, сколько микробную флору, которая уже была в организме больного до его госпитализации. Это обстоятельство имеет немаловажное и, по-видимому, решающее значение в трактовке причин послеоперационных раневых осложнений, которые по определению относятся к проявлениям внутрибольничной инфекции, однако по существу являются продолжением того гнойно-воспалительного заболевания (острый аппендицит, острый холецистит, перитонит и т.д.), с которым больной был госпитализирован. Кроме того, воспаление может быть вызвано эндогенной микробной флорой пациента, агрессивные свойства которой проявляются в связи с ослаблением факторов антиинфекционной защиты, обусловленных основным заболеванием, операционной травмой или кровопотерей. Одно только присутствие хирургической нити является фактором, способствующим появлению очага инфекции. Современные профилактические мероприятия предполагают назначение антибактериальных препаратов по определенным схемам в зависимости от класса чистоты оперативного вмешательства. Эти мероприятия дают определенный эффект. Однако необходимо отметить следующие негативные моменты,

По критериям R. Foord и P. Cruise, даже «чистые» операции характеризуются 2–5% риском развития осложнений микробной этиологии [1–5].

существующие на практике: в ряде случаев антибиотикопрофилактика не проводится, или проводится неадекватными препаратами, или проводится с нарушением методики, что повышает риск неэффективности процедуры. Более того, неэффективная антибактериальная профилактика и терапия приводят к росту устойчивости возбудителей инфекций в области хирургического вмешательства к антибиотикам. Стремление минимизировать риск развития инфекционных осложнений заставляет искать принципиально новый подход к их профилактике. Поэтому очередным шагом было создание хирургического шовного материала с антибактериальным покрытием, представляющим собой ряд антибиотиков или антисептиков [6]. Но и шовный материал с антибиотиками также имеет свои недостатки, так как обладает ограниченной продолжительностью местного антимикробного действия (не более 2–3 суток), малой устойчивостью антимикробного покрытия, определенным спектром чувствительности к нему микроорганизмов, а также противопоказаниями к применению и побочному действию этих антибиотиков местно.

Одним из продуктов современного направления научной деятельности – нанотехнологий – стали наночастицы серебра [7, 8]. Известно, что ионы серебра связываются с азотистыми основаниями дезоксирибонуклеиновой кислоты, нарушая ее стабильность и соответственно жизнеспособность бактерий, грибов. Кроме того, проникновение ионов серебра в клетку через цитоплазматическую мембрану вызывает нарушение функции клеточной оболочки (бактериостатический эффект) и блокаду множества бактериальных ферментов (бактериолитический эффект), что ускоряет гибель микроорганизмов. Наночастицы серебра, благодаря значительной суммарной площади поверхности, являются источником огромного количества ионов серебра. Кроме того, серебро в виде наночастиц, фиксированных на полимерной основе (шовном материале), стабильнее, чем ионизированное серебро. Поэтому можно предположить, что наночастицы серебра, находящиеся в шовном материале, будут длительно угнетать рост микробов в ране и предупреждать образование микробных биопленок на ее поверхности [10–13]. Использование такого хирургического шовного материала может быть как дополнение к антибактериальной терапии для большей минимизации рисков послеоперационных осложнений, так и самостоятельной мерой предупреждения инфекционных осложнений в случаях, когда использование антибиотиков не показано или противопоказано.

Повышенный интерес к наночастицам обусловлен их уникальными свойствами, в том числе выраженной антибактериальной активностью.

## ■ ЦЕЛЬ

Получение шовного материала, модифицированного наночастицами серебра, и определение *in vitro* наличия и стойкости его антибактериального эффекта в отношении музейных и клинических штаммов микроорганизмов.

## ■ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования использован капрон 3-метрического размера, условный номер 2/0 (производитель Волоть, Российская Федерация; ТУ 9432-001-24648800-95), модифицированный наночастицами серебра. Суспензия наночастиц серебра получена посредством металлопарового синтеза. Предварительно готовят изопропанол кипячением и перегонкой в атмосфере инертного газа, дегазируют в вакууме чередованием

циклов замораживание/размораживание. Перед началом металлопарового синтеза колбу реактора с серебром охлаждают погружением в сосуд с жидким азотом, затем подают в колбу реактора изопропанол, выполняют металлопаровой синтез в вакууме не выше  $10^{-4}$  мм рт. ст. в течение 2 часов. Подачей инертного газа убирают вакуум, затем соконденсат наночастиц металла и изопропанола разогревают до температуры его плавления, пропитывают шовный материал полученным органоэлем. Удаляют избыток органоэля сушкой в вакууме  $10^{-1}$  мм рт. ст.

Распределение размеров частиц серебра носит бимодальный характер и характеризуется средним размером 4 и 30 нм. Для исследования нами было изготовлено два образца модифицированного шовного материала: 1) модифицированная нить, подвергшаяся стерилизации путем автоклавирования; 2) модифицированная нить без какой-либо стерилизационной обработки. Испытывались нити, с момента модификации которых наночастицами прошло 12 месяцев. До исследования нити хранились в темном месте при комнатной температуре в нестерильном виде. Автоклавирование выполнялось за 24 часа до проведения опыта.

Антибактериальную активность проверяли в отношении следующих музейных штаммов микроорганизмов из коллекции ATCC (American Type Culture Collection) 25923 *St. aureus*, ATCC 25922 *E. coli*, ATCC 27853 *Ps. aeruginosa* и суточных культур клинических штаммов микроорганизмов *St. aureus*, *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, выделенных от пациентов с инфекционными процессами, в том числе в области хирургического вмешательства или раневого процесса. Для клинических штаммов определялась чувствительность к антибактериальным препаратам с помощью микробиологического анализатора miniApi Bio Merieux (Франция). Из агаровой культуры при помощи денситометра Bio Merieux (Франция) готовили суспензию микроорганизмов плотностью 0,5 по Мак-Фарланду (McF)  $1,5 \times 10^8$  КОЕ/мл, затем методом разведений плотность инокулюма создавали  $1,5 \times 10^6$  КОЕ/мл. Образец исследуемой нити длиной 0,5 м помещали в 5 мл исходной суспензии микроорганизмов. Инкубация проводилась в термостате при непрерывном встряхивании при температуре 37 °С. Через 4, 6, 8 часов производили высев 0,1 мл суспензии на плотную питательную среду Мюллер–Хинтон и помещали в термостат при температуре 37 °С на 18 часов. Затем производили подсчет КОЕ в 0,1 мл суспензии с последующим пересчетом содержания микроорганизмов в 1 мл.

Результаты исследований обрабатывались с применением пакета программ Statistica 6.0 с использованием t-test Стьюдента. Различия считали достоверными при  $p < 0,05$  и высокодостоверными при  $p < 0,001$  ( $p$  – показатель достоверности, характеризующий вероятность ошибочно отвергнуть нулевую гипотезу об отсутствии различий).

## ■ РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Нами уже неоднократно проводились опыты в отношении музейных штаммов микроорганизмов из коллекции ATCC (American Type Culture Collection) 25923 *St. aureus*, ATCC 25922 *E. coli*, ATCC 27853 *Ps. aeruginosa*, и во всех случаях был зафиксирован выраженный антибактериальный эффект. Однако мы впервые исследовали модифицированные нити, полученные за 12 месяцев до исследования и хранившиеся в темном месте при комнатной температуре в нестерильном виде. Это позволяет оценить стойкость антибактериального эффекта модифицированной нити

Контрольной была суспензия микроорганизмов без образцов исследуемого шовного материала.

во времени. Выбор музейных штаммов микроорганизмов для испытания был обусловлен тем, что они обладают генетической стабильностью, их фенотипические характеристики хорошо изучены и не требуется текущий контроль над этими свойствами при воспроизведении опытов. Клинические же штаммы микроорганизмов, будучи выделенными от пациентов с инфекционными процессами разной этиологии, локализации, стадии болезни, получающими специализированное лечение, имеют разные свойства. Прежде всего, это касается чувствительности к препаратам, используемым для антиинфекционной химиотерапии. Общеизвестно, что именно клинические штаммы в ряде случаев обладают ассоциированной резистентностью к более чем одному химическому классу антибиотиков. В связи с этим необходимо проведение теста на чувствительность к антибактериальным препаратам для клинических штаммов микроорганизмов в каждом случае проводимого опыта. В нашем опыте использовались по два клинических штамма каждого вида микроорганизмов *St. aureus*, *E. coli*, *Ps. aeruginosa*. Все штаммы клинических микроорганизмов, использованных в данном исследовании, обладали выраженной ассоциированной резистентностью к более чем одному химическому классу антибактериальных препаратов (табл. 1–3).

В результате проведенных лабораторных исследований как в отношении музейных, так и в отношении клинических штаммов микроорганизмов можно констатировать одинаково выраженный антибактериальный эффект. При этом степень выраженности антибактериального

**Таблица 1**  
**Результат определения лекарственной чувствительности клинических штаммов *E. coli***

Антибактериальный препарат	Чувствительность	
	Штамм № 1	Штамм № 2
Amo/penicill.gr.a	R	R
Amox/clav.ac	R	R
Pic/ureidopen.	R	R
Piper + tazobactam	R	R
Ticarcillin	R	R
Ticar/clav.ac	R	R
Cft/cephalo.1G	R	R
Cefoxitin	R	R
Ctx/cephalo.3G	R	R
Ceftazidime	S	R
Cefepime	R	R
Cefuroxime	R	R
Meropenem	S	S
Imipenem	S	S
Cotrimoxazole	R	R
Tobramycin	S	R
Amikacin	S	S
Gentamicin	S	R
Netilmicin	S	R
Ciprofloxacin	R	R

Примечание: S – чувствительный штамм, R – устойчивый штамм.

Характеристика in vitro антибактериальной активности шовного материала на основе полиамида, модифицированного наночастицами серебра, в отношении музейных и клинических штаммов микроорганизмов *St. aureus*, *E. coli* и *Ps. aeruginosa*

**Таблица 2**  
**Результат определения лекарственной чувствительности клинических штаммов *St. aureus***

Антибактериальный препарат	Чувствительность	
	Штамм № 1	Штамм № 2
Penicillin	R	R
Cotrimoxazole	R	R
Gentamicin	R	R
Erythromycin	R	R
Clindamycin	R	R
Tet/cyclines	S	R
Minocycline	S	R
Vancomycin	S	S
Teicoplanin	S	S
Rifampicini	R	S
Nor/quinolones 2G	R	S
Levofloxacini	R	S
Fusidic acid	S	S
Nitrofurantoin	S	S
Quinupristine-dalfo	S	S
Coag-oxacillin	R	R
Oxacillin	R	R

Примечание: S – чувствительный штамм, R – устойчивый штамм.

**Таблица 3**  
**Результат определения лекарственной чувствительности клинических штаммов *Ps. aeruginosa***

Антибактериальный препарат	Чувствительность	
	Штамм № 1	Штамм № 2
Ampicil-sulbactam	R	R
Ticarcillin	R	R
Ticarcillin-pyo	R	R
Ticar/ clav.ac	R	R
Ticar.clav.ac-pyo	R	R
Pic/ureidopen.	R	R
Piper.- pyo	R	R
Piper + tazobactam	R	R
Piper.tazo-pyo	R	R
Cefepime	R	R
Imipenem	S	R
Meropenem	S	R
Ceftazidime	S	R
Amikacin	R	R
Gentamicin	R	R
Tobramycin	R	R
Ciprofloxacin	R	R
Colistin	S	S
Cotrimoxazole	R	R

Примечание: S – чувствительный штамм, R – устойчивый штамм.

эффекта не зависела от вида микроорганизма, от времени экспозиции и степени стерильности исследуемой нити (табл. 4, 5). Экспозиция нити в течение 4, 6 и 8 часов привела к одинаково выраженному снижению количества жизнеспособных колониеобразующих единиц микроорганизмов. Клинические штаммы микроорганизмов *St. aureus*, *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, обладающие ассоциированной резистентностью ко многим антибактериальным препаратам, оказались чувствительны к воздействию нитей, модифицированных наночастицами серебра. Примечательно также, что автоклавирование, то есть воздействие температурой и давлением как способ стерилизации шовного материала, не оказало никакого негативного воздействия на степень выраженности антибактериального эффекта нитей, модифицированных наночастицами.

Антибактериальный эффект во всех случаях носил бактерицидный характер.

При статистической обработке результатов исследования как при  $p < 0,05$ , так и при  $p < 0,001$  достоверности различия результатов (снижения количества КОЕ и соответственно процента редукции КОЕ) после 4-, 6- и 8-часовой экспозиции образцов исследуемых нитей выявлено не было.

## ■ ВЫВОДЫ

1. Шовный материал, модифицированный наночастицами серебра за 12 месяцев до исследования, обладает антибактериальной

**Таблица 4**

**Количество и процент редукции КОЕ музейных штаммов микроорганизмов нестерилизованным шовным материалом, модифицированным наночастицами серебра**

Вид микроорганизма		Время экспозиции					
		4 часа		6 часов		8 часов	
		КОЕ	процент редукции КОЕ	КОЕ	процент редукции КОЕ	КОЕ	процент редукции КОЕ
<i>St. aureus</i> ATCC 25923	опыт № 1	$1,5 \times 10^3$	99,999	0	100%	0	100%
	опыт № 2	$1,5 \times 10^3$	99,999	0	100%	0	100%
<i>E. coli</i> ATCC 25922	опыт № 1	0	100%	0	100%	0	100%
	опыт № 2	0	100%	0	100%	0	100%
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853	опыт № 1	0	100%	0	100%	0	100%
	опыт № 2	0	100%	0	100%	0	100%

**Таблица 5**

**Количество и процент редукции КОЕ музейных штаммов микроорганизмов стерильным шовным материалом, модифицированным наночастицами серебра**

Вид микроорганизма		Время экспозиции					
		4 часа		6 часов		8 часов	
		КОЕ	процент редукции КОЕ	КОЕ	процент редукции КОЕ	КОЕ	процент редукции КОЕ
<i>St. aureus</i> ATCC 25923		0	100%	0	100%	0	100%
<i>E. coli</i> ATCC 25922		0	100%	0	100%	0	100%
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC 27853		$1,5 \times 10^4$	99,990	$1,5 \times 10^3$	99,999	$1,5 \times 10^3$	99,999

Стерильная и нестерильная нити, содержащие наночастицы серебра, в равной степени обладают выраженным антибактериальным эффектом в отношении как музейных, так и клинических штаммов микроорганизмов.

- активностью в отношении как музейных штаммов микроорганизмов из коллекции, так и клинических, в том числе метициллинрезистентных штаммов *St. aureus*, полирезистентных *E. coli*, *Ps. aeruginosa*.
2. Антибактериальный эффект во всех наблюдениях носил бактерицидный характер, степень его выраженности одинакова для всех использованных в исследовании штаммов микроорганизмов и не зависит от времени экспозиции шовного материала в суспензии.
  3. В результате проведенных испытаний шовного материала, модифицированного наночастицами серебра, установлено отсутствие зависимости антибактериального эффекта от степени стерильности нити.

## ■ ЛИТЕРАТУРА

1. Абаев, Ю.К. Раневая инфекция в хирургии. – Минск: Беларусь, 2003. – 293 с.
2. Буянов, В.М., Егиев, В.Н., Удотов, О.А. Хирургический шов. – М.: График Групп, 2000. – 93 с.
3. Однорядные кишечные швы и современные шовные материалы в колоректальной хирургии / В.М. Буянов и [др.] // Вестник хирургии. – 1999. – Т. 158, № 2. – С. 77–82.
4. Голуб, А.В. Новые возможности профилактики инфекций области хирургического вмешательства // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2011. – Т. 13, № 1. – С. 5–12.
5. Новые возможности профилактики послеоперационных осложнений в абдоминальной хирургии / В.К. Гостищев и [др.] // Хирургия. – 2011. – № 5. – С. 56–60.
6. Мохов, Е.М., Сергеев, А.Н. Возможности и перспективы применения в хирургии биологически активного шовного материала // Российский медицинский журнал. – 2007. – № 2. – С. 18–21.
7. Синтез и свойства наночастиц серебра: достижения и перспективы / Ю.А. Крутяков и [др.] // Успехи химии. – 2008. – Т. 77, № 3. – С. 242–269.
8. Chen, X., Schluesener, H.J. Mini review. Nanosilver: A nanoparticle in medical application Toxicology Letters. – 2008. – Vol. 176. – P. 1–12.
9. Биологически активные перевязочные и хирургические шовные материалы / П.И. Толстых и [др.] // Хирургия. – 1988. – № 4. – С. 3–8.
10. Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* / Ahmad R. Shahverdi et al. // Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine. – 2007. – № 3. – P. 168–171.
11. Effect of silver on burn wound infection control and healing: Review of the literature / B.S. Atiyeh [et al.] // Burns. – 2007. – № 33. – P. 139–148.
12. Sonochemical coating of silver nanoparticles on textile fabrics (nylon, polyester and cotton) and their antibacterial activity / Perelstein Hana [et al.] // Nanotechnology. – 2008. – № 19. – P. 1–6.
13. Antibacterial Characterization of Silver Nanoparticles against *E. coli* ATCC-15224 / M. Raffi [et al.] // J. Mater. Sci. Technol. – 2008. – Vol. 24, № 2. – P. 192–196.
14. Нанонаука и нанотехнология в производстве и материаловедении волокнистых материалов и изделий / Б.А. Бузов и [др.] // Швейная промышленность. – 2006. – № 4. – С. 46–47.
15. Полунина, О.А. Разработка рецептуры и товароведная оценка потребительских свойств хлеб с серебряным нанобиокомпозитом: автореф. дис. ... канд. тех. наук. – Новосибирск, 2007. – 16 с.

Поступила в редакцию 15.05.2013

Контакты:

e-mail 6733866@mail.ru

Кабешев Борис Олегович – врач-хирург Республиканского научно-практического центра радиационной медицины и экологии человека