

**Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков
имени Г.Ф. Гаузе» Российской академии медицинских наук**

«УТВЕРЖДАЮ»

Зам.директора ФГБУ «НИИНА»

РАМН, д.б.н.



Э.Р.Переверзева

«25» марта 2013 г

ОТЧЕТ

**Определение антимикробной активности (МПК) испытуемых
соединений нанодисперстного нульвалентного серебра (дисперсии
наночастиц серебра) производства ООО НПП «Сентоза Факторинг НП»
в отношении грамположительных и грамотрицательных
микроорганизмов.**

Москва, 2013

1. Штаммы, участвующие в работе

В работе использовались музейные штаммы ATCC (American Type Culture Collection):

Грамположительных:

Staphylococcus aureus 25923 ATCC*

Staphylococcus epidermidis 12228 ATCC

Streptococcus pneumoniae 49619 ATCC

Enterococcus faecalis 29212 ATCC

Грамотрицательных:

Escherichia coli 25922 ATCC

Klebsiella pneumoniae 13883 ATCC

Salmonella cholera-suis 14028 ATCC

Pseudomonas aeruginosa 27853 ATCC

2. Среды, используемые в работе

Питательные среды: бульон для определения МПК готовили из сухой среды (Mueller Hinton broth, Acumedia, Baltimore) и стерилизовали автоклавированием при 121°C в течение 15 минут.

Для культивирования *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella cholerasuis* использовали готовую сухую среду – Триптиказо-соевый агар (Trypticase Soy Agar, BBL). Для культивирования *Enterococcus* использовали готовую сухую среду - Колумбийский агар (Columbia Agar Base, BBL). Среды стерилизовали автоклавированием при 121°C в течение 15 минут.

Метод определения противомикробного действия веществ

а. Приготовление растворов изучаемых соединений:

Основные растворы испытуемых соединений готовили *ex tempore*, полученный раствор затем разводили водой до концентрации 128 мкг/мл. В качестве препаратов сравнения использовали мирамистин 0,01% и хлоргексидин 0,05%.

б. Приготовление бактериального инокулюма:

Для приготовления инокулюма использовали чистую, суточную культуру грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, выросших на плотной питательной среде, соответствующей для каждого типа микроорганизмов. В стерильном изотоническом растворе хлорида натрия готовили взвесь микроорганизмов, доводя плотность инокулюма до 0,5 по стандарту МакФарланда ($1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл). Затем полученный инокулят разводили до концентрации 5×10^5 КОЕ/мл бульоном Мюллера-Хинтон. Инокулюм использовали в течение 15 минут после приготовления; чистота бактериальных штаммов контролировалась перед каждым экспериментом.

в. Постановка эксперимента:

В работе использовали микрометод определения минимальной подавляющей концентрации (МПК) методом серийных разведений в бульоне Мюллера-Хинтон с использованием 96 – луночных стерильных планшетов.

В лунки каждого планшета вносили по 100 мкл бульона Мюллера-Хинтон; в первую лунку вносили испытуемое соединение в концентрации 128 мкг/мл в объеме 100 мкл и последовательным двукратным разведением доводили его концентрацию до 0,125 мкг/мл. Затем в каждую лунку вносили приготовленный инокулюм, разводя тем самым вдвое концентрацию изучаемых соединений. Каждый препарат в эксперименте титровали дважды. В качестве контроля включали лунки, не содержащие тестируемых препаратов (контроль

роста культуры). Кроме того ставился контроль чистоты питательных сред и растворителей. Планшеты инкубировали в термостате при 36⁰С в течение 24 часов.

Оценку роста культур проводили визуально, сравнивая видимый рост микроорганизмов в присутствии изучаемых тест - соединений с ростом культуры без них.

За МПК принимали минимальную концентрацию исследуемых соединений, обеспечивающую полное подавление видимого роста исследуемых штаммов микроорганизмов.

3. Полученные результаты: Полученные результаты представлены в таблице.

Таблица 1. Определение МПК (в мкг/мл) испытуемых серебросодержащих соединений в сравнении мирамистином и хлоргексидином в отношении *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 и *Escherichia coli* ATCC 25922.

Исследуемые образцы	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
№ 8339 Концентрат коллоидного серебра «КНД-С-К». Косметическое сырье»	1,0 1,0	0,5 0,5
№ 8401 полиаргол (Pol-yargol) субстанция для фармацевтических применений (на стадии регистрации)	0,125 0,125	0,5 0,5
№ 8403 Биологически активная добавка к пище «Коллоидное серебро Аджента»	1,0 1,0	0,5 0,5
№ 8404 повиаргол	0,25 0,25	0,5 0,5
Ванкомицин трициклический гликопептидный антибиотик	1,0	нечувствительны
Мирамистин 0,01%	0,5 0,5	16,0 16,0
Хлоргексидин 0,05%	0,125 0,125	0,25 0,25

Выводы:

Исследуемые образцы (8339, 8401 и 8403) проявляют выраженную активность в отношении *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*, сравнимую с активностью хлоргексидина и повидаргола.

Таблица 2. Определение МПК (в мкг/мл) испытуемого серебросодержащего соединения (8403) в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов.

Бактериальные штаммы (АТСС)	Образец № 8403 (БАД «Коллоидное серебро Аджента»)
Грамположительные	
<i>Staphylococcus aureus</i> 25923 ATCC	1,0 1,0
<i>Streptococcus pneumoniae</i> 49619	0,5 0,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 12228	0,5 0,5
<i>Enterococcus faecalis</i> 29212	8,0 8,0
Грамотрицательные	
<i>Escherichia coli</i> 25922 ATCC	0,5 0,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 13883	2,0 2,0
<i>Salmonella cholera-suis</i> 14028	4,0 4,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 27853	1,0 1,0

Выводы:

Испытуемое серебросодержащее соединение № 8403 (Биологически активная добавка к пище «Коллоидное серебро Аджента») проявляет выраженную активность в отношении *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Специфическая активность в отношении *Enterococcus faecalis* и *Salmonella cholera-suis* выражена чуть слабее.

4. Заключение

Образцы нанодисперстного нульвалентного серебра (дисперсии наночастиц серебра) производства компании ООО НПП «Сентоза Факторинг НП» проявляют выраженную (в разной степени) специфическую активность в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов.

Для испытания специфической активности были выбраны наиболее часто встречающиеся в клиниках микроорганизмы, поэтому выраженная специфическая активность серебросодержащих соединений имеет **большое значение** т.к. это позволяет использовать их в качестве терапевтических средств при лечении многих бактериальных инфекций.

**Ведущий научный сотрудник лаборатории
фармакологии и химиотерапии ФГБУ «НИИНА»
РАМН, дмн**



Е.П. Мирчинк

**Научный сотрудник лаборатории
фармакологии и химиотерапии ФГБУ «НИИНА»
РАМН**

Е.Б. Исакова