

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

УДК 615.466.03:616.314-089.28].76

Леонтьев В.К.¹, Кузнецов Д.В.², Фролов Г.А.², Погорельский И.П.³, Латута Н.В.⁴, Карасенков Я.Н.⁵**АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ НАНОЧАСТИЦ МЕТАЛЛОВ**¹Российская академия наук, 119991, г. Москва;²ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский технологический университет «МИСиС», 119049, г. Москва;³ФГБОУ ВО Вятский государственный университет, 610000, г. Киров;⁴ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет), 119991, г. Москва;⁵РОСДЕНТ, 117342, г. Москва

Разработаны принципиально новые бактерицидные растворы для применения в стоматологии, челюстно-лицевой хирургии, урологии, акушерстве, гинекологии, при ЛОР-заболеваниях, проктологии.

Электроимпульсным, диспергационно-конденсационным способом получены водные и спиртовые (этиловый спирт) коллоидные нанодисперсные системы металлов и их оксидов на основе серебра (Ag), диоксида титана (TiO₂), оксида железа (FeO), оксида тантала (TaO), оксида ванадия (VO₂), оксида кобальта (CoO), диоксида тантала (TaO₂), оксида цинка (ZnO), оксида меди (CuO); смешанного раствора: диоксида титана (TiO₂), оксида алюминия (Al₂O₃) и диоксида молибдена (MoO₃).

Исследования проводили на культуре зубного налёта и смешанной культуре, выделенной из зубодесневых карманов. В составе культуры идентифицированы *S. aureus*, *S. epidermidis* и неферментирующие виды *E. coli*.

Период наблюдения более 19 сут. Все растворы показали высокую пролонгированную бактерицидную активность в разведениях от цельного раствора 1—20 mg/L. Шаг разведения в десять раз (10⁻¹; 10⁻²; 10⁻³; 10⁻⁴; 10⁻⁵; 10⁻⁶; 10⁻⁷).

Исследована бактерицидная активность порошковых образцов стекла, используемого для производства пломбирочного материала и дезинтегратов композитных материалов производства ЗАО «СтромаДент», обработанных наночастицами Ag и FeO₂. Испытуемые материалы обладают длительной до 19 сут и более бактерицидной активностью.

Ключевые слова: наночастицы металлов и их оксидов; зубной налет; бактерицидный эффект; антимикробная активность; коллоидные растворы.

Для цитирования: Леонтьев В.К., Кузнецов Д.В., Фролов Г.А., Погорельский И.П., Латута Н.В., Карасенков Я.Н. Антибактериальные эффекты наночастиц металлов. Российский стоматологический журнал. 2017; 21 (6): 304-307. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1728-2802-2017-21-6-304-307>

Leont'ev V.K.¹, Kuznetsov D.V.², Frolov G.A.², Pogorelskiy I.P.³, Latuta N.V.⁴, Krasenkov Ya.N.⁵

ANTIBACTERIAL EFFECTS OF NANOPARTICLES OF METALS¹Russian Academy of Sciences, 119991, Moscow;²«National research technological University «MISIS»», 119049, Moscow;³Vyatka state University, 610000, Kirov;⁴«I.M. Sechenov First Moscow state medical University» Ministry of health of Russia (Sechenovskiy University), 119991, Moscow, Russia;⁵ROSDENT, Russia, 117342, Moscow

All-new bactericidal solutions to be used in dentistry, maxillofacial surgery, urology, obstetrics, gynaecology, ENT, proctology have been developed.

By means of electric impulse and disperse condensate means, water and alcoholic (ethanolic) colloidal nanodispersed systems of metals have been procured and also their oxides based on: argentum (Ag), titanium dioxide (TiO₂), ferrous oxide (FeO), tantalum oxide (TaO), vanadium oxide (VO₂), cobaltous oxide (CoO), tantalum dioxide TaO₂, zink oxide (ZnO), cupric oxide (CuO), a mixed solution of: titanium dioxide (TiO₂), aluminium oxide (Al₂O₃) and molybdenum dioxide (MoO₃).

The research has been made on culture of dentobacterial plaque and mixed culture, issued from gingival spaces. The composition of culture was identified with *S. aureus*, *S. epidermidis* and nonfermentable kinds of *E. coli*.

The observation period lasted more than nineteen days. All solutions showed highly prolonged bactericidal activity in dilutions from the whole solution 1—20 mg/L. Dilution step is tenfold (10⁻¹; 10⁻²; 10⁻³; 10⁻⁴; 10⁻⁵; 10⁻⁶; 10⁻⁷).

The bactericidal activity of powder specimen of glass, used to produce dental filling material and disintegrates of composite materials, issued by «StomaDent» CJSC, processed by Ag and FeO₂ nanoparticles, have been studied. Tested materials have long, up to 19 days and more, bactericidal activity.

Key words: nanoparticles of metals and their oxides; dentobacterial plaque; bactericidal effect; antimicrobial activity; colloidal solutions.

For citation: Leont'ev V.K., Kuznetsov D.V., Frolov G.A., Pogorelskiy I.P., Latuta N.V., Krasenkov Ya.N. Antibacterial effects of nanoparticles of metals. Rossiyskii stomatologicheskii zhurnal. 2017; 21(6): 304-307. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1728-2802-2017-21-6-304-307>

For correspondence: Karasenkov Yakov Nikolaevich, Cand. Med. Sci, senior specialist of the clinic ROSDENT, E-mail: rosdent@mail.ru

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The study had no sponsorship.

Received 06.07.17

Accepted 16.08.17

На сегодняшний день чрезвычайно актуальным является вопрос поиска принципиально новых лекарственных средств с высокой антибактериальной активностью, которые позволили бы значительно снизить масштабы применения антибиотиков в практике врача и тем самым уменьшить дальнейшее распространение антибиотикорезистентности.

Сейчас в стоматологии и челюстно-лицевой хирургии используется широкий спектр антибиотиков, которые входят в состав материалов для местного лечения одонтогенных инфекционных заболеваний. Однако активность антибактериальных компонентов в составе этих препаратов кратковременна. Кроме того, придать стойкие антибактериальные свойства цементам, композитам и адгезивам не удалось. Использование светоотверждаемых композиционных материалов последнего поколения не гарантирует в дальнейшем защиту твёрдых тканей зуба от возникновения вторичного (рецидивирующего) кариеса. По этой причине актуальными являются исследования, связанные с перспективами использования коллоидных растворов наночастиц металлов в качестве антибактериального компонента в составе реставрационных материалов. Высокий уровень pH ротовой жидкости, большое разнообразие биохимических процессов, наличие широкого спектра естественных и патогенных микроорганизмов полости рта, особенности структуры, химического состава тканей зуба — всё это диктует следующие требования к пломбирочным материалам и адгезивным системам:

1. Широкий спектр бактерицидного действия.
2. Пролонгированное бактерицидное действие.
3. Отсутствие местного и системного токсического воздействия.
4. Адгезия к твёрдым тканям зуба и поверхностям ортопедических конструкций.
5. Нерастворимость в ротовой жидкости.
6. Сохранение физико-химических свойств при взаимодействии с другими стоматологическими материалами.

В последнее время изучаются возможности применения нанопрепаратов в медицине. Бактерицидная активность наночастиц серебра по различным индивидуальным штаммам микроорганизмов изучена достаточно хорошо. С практической точки зрения, необходимо исследовать антимикробные свойства водных дисперсий серебра и других металлов непосредственно с микрофлорой зубного налёта.

Существует два способа получения гидрозолей металлов и их оксидов:

- 1) химический: получение нанодисперсных систем, основанных на восстановлении ионов;
- 2) физический: получение ультрадисперсных растворов металлов и их оксидов.

Первый способ имеет ряд существенных недостатков. Водная дисперсия металла, полученная химическим восстановлением, имеет ограниченную по величине суммарную поверхностную энергию частиц, кроме того, данные растворы высокотоксичны, что связано с наличием ионов, и делает нежелательным их применение в живых организмах [5].

Поэтому наиболее перспективными способами по-

лучения ультрадисперсных растворов металлов и их оксидов для использования в живых системах являются физические. Один из них — электрокоррозионное диспергирование металлических электродов посредством вольтовой дуги.

Суть метода состоит в электрической эрозии электродов под действием искро-дугового разряда, возникающего между ними. Образующаяся низкотемпературная плазма (до 40000 К) в вольтовой дуге охлаждается жидкостью (водой), находящейся в конденсированном состоянии при температуре окружающей среды. В результате огромного перепада температур происходит конденсация материала электродов (металла) в жидкости с образованием полидисперсной коллоидной системы, состоящей из дисперсной фазы: кластеров атомов и наноразмерной фазы металлов (оксидов металлов) в аморфном и кристаллическом состоянии; и дисперсионной среды, представленной жидкостью, в которой и происходит конденсация. Полученные таким способом коллоидные растворы являются устойчивыми (от нескольких месяцев до нескольких лет) системами со средней массовой концентрацией от 0,1 до 30 мг/л.

Анализ микрофотографий просвечивающей электронной микроскопии показывает, что коллоидные системы отличаются между собой различным распределением частиц и соотношением кристаллической и аморфной фаз, что позволяет предположить высокую потенциальную поверхностную энергию частиц этих систем (рис. 1, 2; рис. 3, 4 на вклейке). Потенциальная энергия будет передаваться дисперсионной среде длительное время из-за кристаллизации аморфной фазы, коагуляции и коалесценции частиц, перекристаллизации кристаллической фазы и окислительно-восстановительных процессов, связанных с изменением химического состава самой дисперсной фазы.

Антибактериальные свойства наночастиц серебра, титана, меди, кобальта, никеля и циркония обусловлены наличием двойного электрического слоя вокруг наночастиц, который обладает высокой реакционной активностью и взаимодействует с адсорбционными центрами пептидогликанов клеточной оболочки [2, 3]. Нарушая целостность микробной стенки и цитоплазматической мембраны, наночастицы металлов проникают в клетку и участвуют как катализатор в окислительных процессах с высвобождением и кумуляцией свободных радикалов, разрушением клеточных структур, что завершается гибелью клетки [7, 1]. Уже есть исследования, доказывающие высокую антибактериальную активность композитных соединений наночастиц серебра с оксидами меди и цинка в отношении микроорганизмов *P. gingivalis*, *F. nucleatum* и *P. intermedia* [9].

Исследования бактерицидных свойств коллоидных растворов металлов и оксидов металлов диффузионным методом показывают наличие ярко выраженного бактерицидного эффекта для концентраций растворов от 1 до $10 \cdot 10^{-7}$ мг/л (рис. 5, 6 на вклейке).

При оценке антимикробной активности исполь-

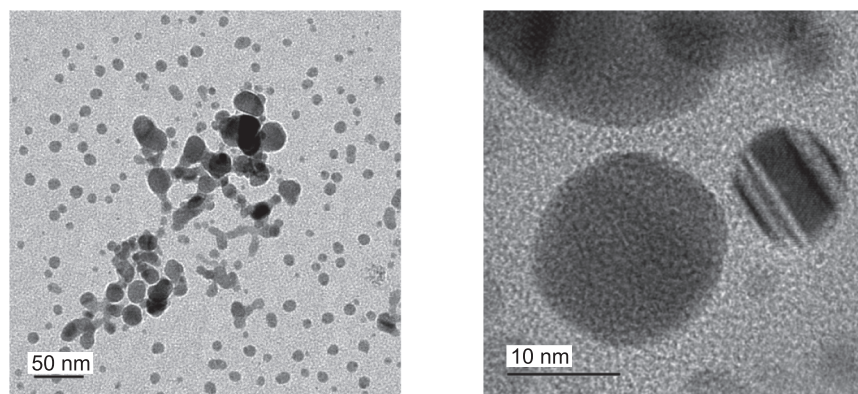


Рис. 1. Наночастицы серебра, полученные методом просвечивающей электронной микроскопии (JEM 2100).

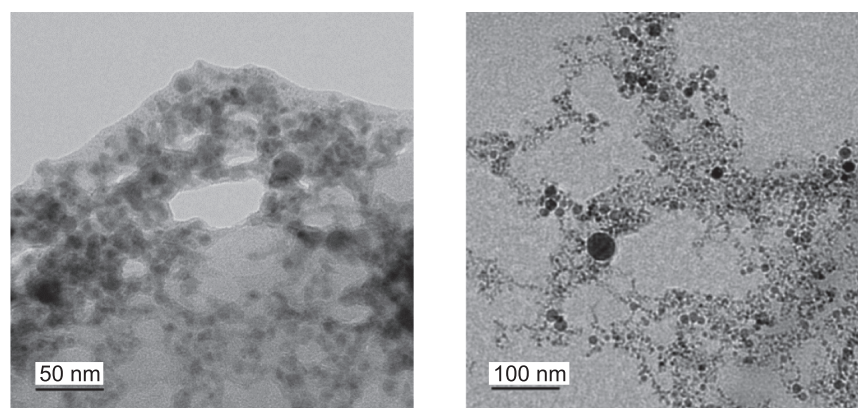


Рис. 2. Наночастицы оксида меди (I) и цинка (слева), оксида железа (II) (справа), полученные методом просвечивающей электронной микроскопии (JEM 2100).

зовали смешанную культуру биопленки зубного налёта. На поверхность FT-агара на основе перевара Хоттингера в чашки Петри с посевом индикаторных микробов были помещены бязевые тест-объекты, предварительно стерилизованные и пропитанные исследуемыми растворами. Инкубирование чашек Петри с посевами индикаторной культуры и исследуемыми образцами проводили при температуре 37°C в течение 24 ч.

Исследуемые водные коллоидные растворы серебра, оксида железа (II), оксида никеля (II), диоксида титана, диоксида тантала и смешанного раствора диоксида титана и диоксида молибдена в соотношении 19:1, с концентрациями соответственно 12,2 мг/л, 12,4 мг/л, 8,2 мг/л, 10,3 мг/л, 7,5 мг/л, 6,8 мг/л кратно разбавлялись в 10, 10², 10³, 10⁴, 10⁵, 10⁶ и 10⁷ раз соответственно. По окончании инкубирования под тест-объектами для всех растворов и при всех разбавлениях обнаружено отсутствие бактериальной среды.

Наличие значительной радиальной диффузии свидетельствует о возникновении вокруг частиц в дисперсионной среде пространства, в котором будет сохраняться бактерицидный эффект, причём площадь этого пространства несоизмеримо больше, чем размер самих частиц.

Сохранение бактерицидного эффекта коллоидных

растворов оксида никеля, диоксида титана, серебра и оксида железа (II) (рис. 7, 8 на вклейке) отмечается на 9-е сутки и более, что даёт нам возможность предположить, что наночастицы металлов и оксидов металлов, внесённые в состав стоматологических композиционных материалов, придадут им пролонгированные бактерицидные свойства. Кроме того, для растворов серебра, оксида железа (II), оксида никеля (II) и диоксида титана наблюдаются диффузионные зоны ингибирования бактериального роста, которые сохраняются до 19 сут.

Бактерицидная активность бязь-тестов по зубному налёту, пропитанных комбинированным коллоидным раствором диоксида титана, оксида алюминия с диоксидом молибдена и коллоидным раствором диоксида тантала, отличалась от других образцов ингибированием роста только под фрагментами бязи, и в некоторых разведениях — выходом за их пределы (рис. 9 на вклейке).

Таким образом, максимальные показатели антибактериальной активности в отношении бактерий зубного налёта показали растворы:

- серебра с концентрацией 1,22, 1,22 • 10⁻³ и 1,22 • 10⁻⁵ мг/л;
- оксида железа (II) с концентрацией 1,24, 1,24 • 10⁻² и 1,24 • 10⁻⁶ мг/л;
- оксида никеля (II) с концентрацией 8,2, 0,82 и 8,2 • 10⁻⁶ мг/л;

— диоксида титана с концентрацией $10,3, 1,03$ и $1,03 \cdot 10^{-6}$ мг/л.

Заключение

По результатам проведённых нами исследований можно утверждать, что полученные коллоидные растворы наночастиц металлов и оксидов металлов могут стать хорошей альтернативой антибактериальным препаратам при лечении местных инфекционных процессов. Об этом свидетельствуют пролонгированный бактерицидный эффект этих полидисперсных коллоидных систем, широкий спектр антибактериальной активности.

В стоматологии возможно применение данных коллоидных растворов в качестве антибактериального компонента композиционных пломбировочных материалов, адгезивных систем и протравочных гелей, а также силлеров и временных пломбировочных материалов, что позволит улучшить результаты лечения и профилактики кариеса и его осложнений.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондаренко В.М., Чубунов В.Ф., Бондаренко В.М. Микроэлементы и инфекция. *Журн. микробиол.* 1987; 3: 118—26.
2. Погорельский И.П., Фролов Г.А., Гурин К.И. Микробиологические аспекты отбора наночастиц металлов для создания на их основе антимикробных дезинфицирующих композиций. *Дезинфекционное дело.* 2012; 4: 37—40.
3. Погорельский И.П., Фролов Г.А., Гурин К.И. Сочетанное действие наночастиц серебра и перекиси водорода на жизнеспособность и ультраструктуру клеток *Bacillus cereus*. *Дезинфекционное дело*, 2014; 2: 35—7.
4. Поляков В.А., Бурачевский И.И., Морозова С.С., Фролов Г.А., Карасенков Я.Н., Дмитриева Е.В., Доманская Д.С. Новые аспекты «серебряной» фильтрации водок. *Пищевая промышленность.* 2013; 2: 24—7.
5. Современная стоматология — эффективность профилактики и лечения. *Нанотехнологии в стоматологии: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 60-летию деятельности стоматологического факультета Тверской государственной медицинской академии на Тверской земле* / Под ред. М.Н. Калинин, В.А. Румянцева, И.А. Жмакина, Б.Н. Давыдова, К.Б. Баканова, В.В. Тетарчука, А.А. Артамонова. Тверь; 2014: 175—7.
6. Яковлева Г.В., Стехин А.А. Особенности токсических свойств нанобъектов. *Гигиена и санитария.* 2008; 6: 21—6.

7. Denyer S.P., Stewart G.S.A.B. Mechanism of action disinfectants. *Intern. Biodeteriorat. Biodegradat.* 1998; 41: 261—8.
8. Fan W., Wu D., Tay F.R. Effects of adsorbed and template nanosilver in mesoporous calcium-silicate nanoparticles on inhibition of bacteria colonization of dentin. *Int. J. Nanomed.* 2014; 12: 217—30.
9. Vargas-Reus M.A., Memarzadeh K., Huang J. Antimicrobial activity of nanoparticulate metal oxides against peri-implantitis pathogens. *Int. J. Antimicrobial. Agents.* 2012; 40: 135—9.
10. Zhang K., Li F., Imarato S. Dual antibacterial agents of nanosilver and 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide in dental adhesive to inhibit caries. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 2013; 101: 929—38.

REFERENCES

1. Bondarenko V.M., Chubunov V.F., Bondarenko V.M. Trace elements and infection. *Zurnal Microbiologii.* 1987; 3: 118—26.
2. Pogorelskiy I.P., Frolov G.A., Gurin K.I. Microbiological aspects of the selection of the metal nanoparticles to create on the basis of their antimicrobial disinfectant compositions. *Dezinfektsionnoe delo.* 2012; 4: 37—40.
3. Pogorelskiy I.P., Frolov G.A., Gurin K.I. Combined effect of silver nanoparticles and hydrogen peroxide on the viability and ultrastructure of *Bacillus cereus* cells. *Dezinfektsionnoe delo.* 2014; 2: 35—7.
4. Polyakov V.A., Burachevskiy I.I., Morozova S.S., Frolov G.A., Tarasenkova Ya.N., Dmitrieva E.V., Domanskaya D.S. New aspects of the «silver» filter vodka. *Pishchevaya promyshlennost.* 2013; 2: 24—7.
5. Modern dentistry — the effectiveness of prevention and treatment. *Nanotechnologies in dentistry: materials of all-Russian scientific-practical conference with international participation, dedicated to the 60th anniversary activities of the faculty of dentistry Tver state medical Academy in Tver region. [Nanotekhnologii v stomatologii: materialy Vserossiyskoy nauchno-prakticheskoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem, posvyashchennoy 60-letiyu deyatel'nosti stomatologicheskogo fakul'teta Tverskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii na Tverskoy zemle]*. Ed. M.N. Kalinkin, V.A. Rumyantsev, I.A. Zhmakina, B.N. Davydov, K.B. Bakanov, V.V. Tatarchuk, A.A. Artamonov. Tver; 2014: 175—7.
6. Yakovleva G.V., Stekhin A.A. Peculiarities of the toxic properties of nano-objects. *Gigiena i sanitariya.* 2008; 6: 21—6.
7. Denyer S.P., Stewart G.S.A.B. Mechanism of action disinfectants. *Intern. Biodeteriorat. Biodegradat.* 1998; 41: 261—8.
8. Fan W., Wu D., Tay F.R. Effects of adsorbed and template nanosilver in mesoporous calcium-silicate nanoparticles on inhibition of bacteria colonization of dentin. *Int. J. Nanomed.* 2014; 12: 217—30.
9. Vargas-Reus M.A., Memarzadeh K., Huang J. Antimicrobial activity of nanoparticulate metal oxides against peri-implantitis pathogens. *Int. J. Antimicrobiol. Agents.* 2012; 40: 135—9.
10. Zhang K., Li F., Imarato S. Dual antibacterial agents of nanosilver and 12-methacryloyloxydodecylpyridinium bromide in dental adhesive to inhibit caries. *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 2013; 101: 929—38.

Поступила 06.07.17

Принята в печать 16.08.17

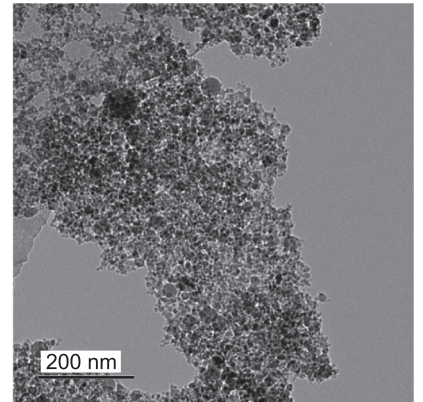
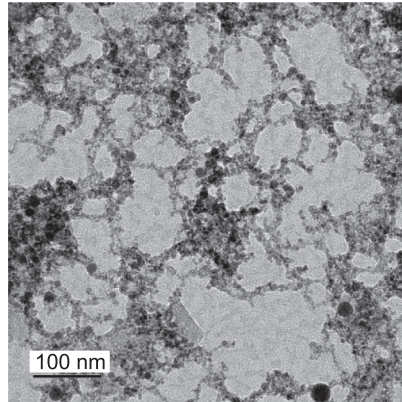


Рис. 3. Наночастицы диоксида тантала (слева) и диоксида титана (справа), полученные методом просвечивающей электронной микроскопии (JEM 2100).

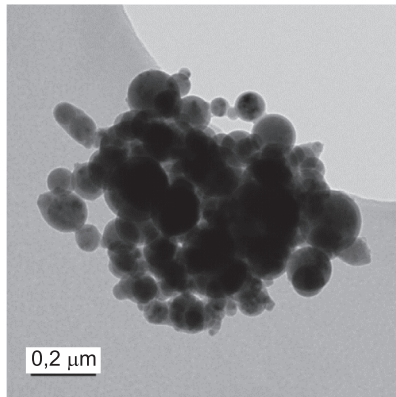
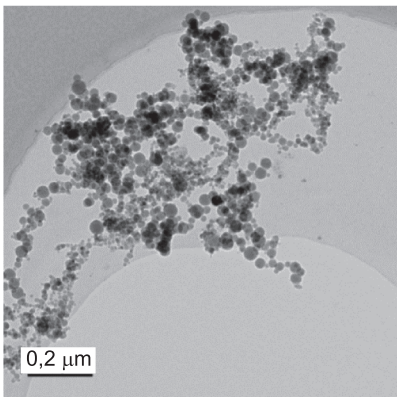


Рис. 4. Наночастицы оксида меди (I) (слева) и диоксида ванадия (справа), полученные методом просвечивающей электронной микроскопии (JEM 2100).

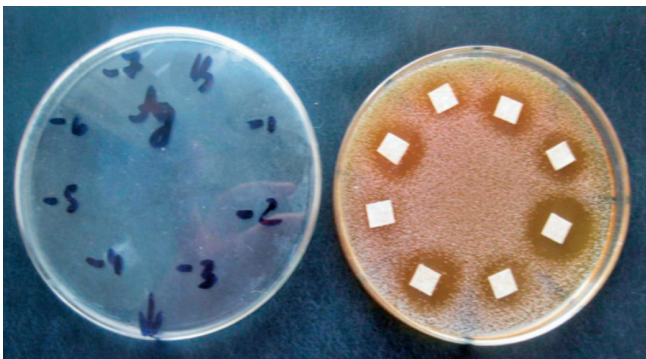


Рис. 5. Бактерицидная активность бязь-тестов по зубному налёту, пропитанных коллоидным раствором серебра на 2-е сутки.

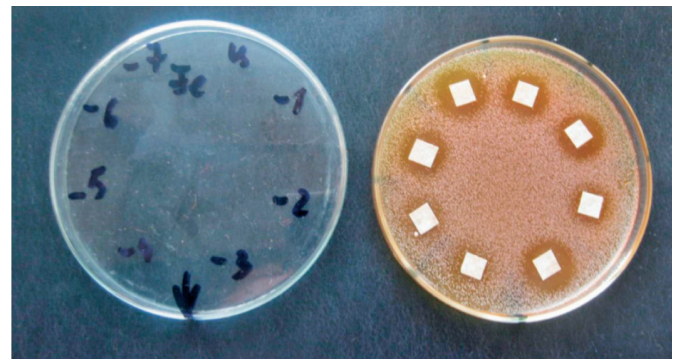


Рис. 6. Бактерицидная активность бязь-тестов по зубному налёту, пропитанных коллоидным раствором оксида железа (II) на 2-е сутки.



Рис. 7. Бактерицидная активность бязь-тестов по зубному налёту, пропитанных коллоидным раствором оксида никеля и диоксида титана на 9-е сутки.

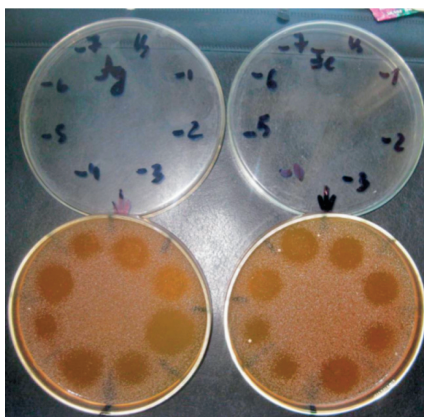


Рис. 8. Бактерицидная активность бязь-тестов по зубному налёту, пропитанных коллоидными растворами серебра и оксида железа (II) на 9-е сутки.

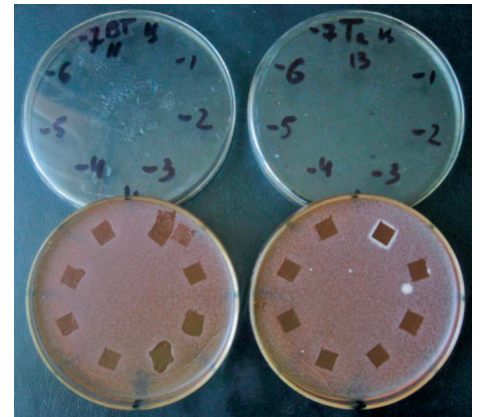


Рис. 9. Бактерицидная активность бязь-тестов по зубному налёту, пропитанных комбинационным коллоидным раствором диоксида титана, оксида алюминия с диоксидом молибдена и коллоидным раствором диоксида тантала на 9-е сутки.