

УДК: 579.842.1/2 +579.61:616.34-002

**АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА
ГИДРОКСИАПАТИТНЫХ ПОКРЫТИЙ С
СОДЕРЖАНИЕМ ХИТОЗАНА И СЕРЕБРА НА
ТИТАНОВЫХ СУБСТРАТАХ ПО
ОТНОШЕНИЮ К МИКРООРГАНИЗМУ *E. COLI*
*ATCC 25922***

Суходуб Л. Б.¹, Осолодченко Т. П.¹, Яновская А.
А.², Радченко Е. А.¹, Кучма И. Ю.¹, Казмирчук В.
В.¹, Волянский Ю. Л.¹, Суходуб Л. Ф.³

¹ – ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова Национальной академии медицинских наук Украины», г. Харьков, ул.Пушкинская,14

² – Институт прикладной физики НАН Украины, г. Сумы, ул. Петропавловская, 58

³ – Сумской государственный университет, Медицинский институт, г. Сумы, ул. Римского-Корсакова, 2

Гидроксиапатитные покрытия на металлических имплантатах широко применяются в ортопедии и стоматологии, обеспечивая одновременно хорошие механические свойства металлических сплавов и их биосовместимость с нативными тканями человеческого организма. Гидроксиапатит $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (ГА) является природным соединением и основным неорганическим компонентом костной ткани и зубов. Однако, имея высокоразвитую пористую биоактивную поверхность, покрытия на основе ГА в благоприятных физиологических условиях способствуют адгезии и пролиферации различных видов микроорганизмов на имплантатах [1-3].

Для уменьшения риска развития ассоциированных с имплантатами патогенных микроорганизмов, способствующих развитию инфекций, прибегают к добавлению в покрытие из гидроксиапатита антибактериальных материалов. Тот факт, что синтетические антибактериальные материалы могут быть цитотоксичными и препятствовать формированию и росту новой костной ткани на ранней стадии, а также общепризнанная в последние годы резистентность ряда патогенных микроорганизмов к антибиотикам, подтверждают целесообразность использования природных антибактериальных материалов, в том числе хитозана. Хитозан - это производное природного полимера хитина, получаемое при его деацетилировании [4]. Благодаря наличию аминогрупп в полимерной цепи, хитозан является одним из немногих природных катионных полиэлектролитов. Механизм антимикробного действия хитозана заключается в его способности связываться с фосфолипидами мембранной оболочки микробной клетки, в результате чего происходит нарушение обмена внутриклеточных веществ микроорганизма с внешней средой. Однако, несмотря на признанную антимикробную активность хитозана по отношению к

ряду микроорганизмов, в литературных источниках наблюдаются большие расхождения, связанные с его возможностями. Вероятно, в большей степени это результат влияния различных факторов на антимикробную активность хитозана, а именно: его молекулярный вес и степень деацетилирования, окружающая среда и ее физико-химические параметры (рН, наличие ионов металлов, процентное содержание фосфатов, физиологическое состояние исследуемой культуры) [5].

Целью данной работы стало изучение антибактериальной активности композитных покрытий ГА + хитозан и ГА + серебро по отношению к микроорганизму *E. coli ATCC 25922* с целью определить, могут ли полученные материалы обладать не только биоактивными (взаимодействие с биологической тканью), но и антибактериальными свойствами.

Материалы и методы

Предметом исследования явились композитные покрытия на основе ГА с добавлением хитозана и серебра, нанесенные на субстраты из титанового сплава Ti6Al4V методом термодепозиции [6-7] и тестовый штамм микроорганизма *E. coli ATCC 25922*. В ходе работы были исследованы следующие виды покрытий: а) ГА+хитозан (концентрация хитозана в исходном растворе 0,025 г/л; б) ГА+хитозан (концентрация хитозана в исходном растворе 0,1 г/л); в) ГА+серебро (концентрация серебра в исходном растворе 1 мг/л); г) ГА+серебро + хитозановая пленка (концентрация хитозана 5 г/л в 1 % уксусной кислоте; концентрация серебра в исходном растворе 1 мг/л).

Для приготовления исходных растворов для нанесения покрытий был использован хитозан с молекулярной массой 200 кДа и степенью деацетилирования 87 % (Haidebei Marine Bio, Ltd, Jinan, China), 1 % раствор уксусной кислоты, приготовленный разбавлением ледяной CH_3COOH (х.ч.), водные растворы солей CaCl_2 (10 ммоль/л) и Na_2HPO_4 (6 ммоль/л). Раствор ионов серебра с концентрацией 10 мг/л был получен путем электролиза с использованием растворимого серебряного анода, затем разбавлен до концентрации ионов серебра 1 мг/л.

Антибактериальная активность покрытий была исследована в отношении музейного тест-штамма культуры *E. coli ATCC 25922* (ГУ «ИМИ НАМН»), рекомендованного для изучения антибактериальных свойств препаратов. Микроорганизмы были культивированы в течение 24 часов в термостате при температуре 37 °С на питательной среде Мюллера-Хинтона (производства Махачкалинского завода питательных сред). Питательные среды готовились в соответствии с требованиями изготовителя (% концентрация, рН, условия автоклавирования). Каждая серия перед использованием в эксперименте проверялась на

ростовые свойства согласно нормативного документа [8]. Для подтверждения чистоты культур их рассеивали на селективные среды. Полученная культура была разбавлена стерильным физиологическим раствором (0,9 % водный раствор NaCl) до получения клеточной суспензии с концентрацией, которая соответствовала 0,5 единицам оптической плотности по шкале Mc Farland. Приготовление суспензии микроорганизмов проводили с использованием прибора Densi-La-Meter (изготовитель PLIVA-Lachema, Чехия, длина волны 540 нм) согласно инструкции к прибору и методики [9].

Для проведения эксперимента приготовленная бактериальная суспензия *E. coli* была добавлена в пробирки, содержащие физиологический раствор и контролируемые образцы – титановые пластины с нанесенными покрытиями. В качестве контроля для определения результатов эксперимента использовали покрытие из ГА, не содержащее антибактериальных добавок. Для убеждения в корректности результатов измерений контролировали среду - физиологический раствор и/или суспензию исследуемой культуры.

Оценка антибактериальной активности покрытий на основе ГА с добавлением хитозана и серебра по отношению к штамму микроорганизма *E. coli* была проведена на основании изменения оптической плотности культуральной суспензии, в которой находились исследуемые образцы. Измерение оптической плотности проводилось через 2, 4, 24, 48 часов с помощью спектрофотометра СФ-56 при длине волны 540 нм. Измерение проводилось в 5 точках содержимого кюветы, затем вычислялось среднее значение. Всего было проведено 3 серии измерений по каждому образцу, а данные усреднены. Величина отклонения каждого усредненного значения

оптической плотности от минимального и максимального, полученных в ходе серии измерений (Δp), показана в таблице 1, как $\pm \Delta p$.

Для определения соотношения между полученными данными оптической плотности и концентрацией микробных клеток была приготовлена суспензия микробной культуры заданной концентрации (10^9 КОЕ/мл) согласно методики, описанной выше. Затем методом двукратных серийных разведений было получено ряд суспензий с известной концентрацией и измерена их оптическая плотность. Было проведено 3 серии измерений. На основании полученных данных была построена графическая зависимость между оптической плотностью суспензии и концентрацией микробных клеток (КОЕ/мл), по которой по данным оптической плотности суспензии определяли концентрацию микробных клеток.

Результаты и обсуждение

Спектрофотометрия, как метод для измерения светопоглощающих (абсорбция) свойств клеточных культур давно практикуется в биологических и медицинских исследованиях. По сути, оптическую плотность бактериальной культуры определяет эффект светорассеивания, а светорассеивание, в свою очередь, пропорционально концентрации клеток в среде [10]. Увеличение оптической плотности в емкости с жидкой питательной средой свидетельствует о размножении в ней микроорганизмов, а высокий уровень корреляции оптической плотности с количеством микробных клеток позволяет следить за кинетикой размножения микроорганизмов [11]. Поэтому данный метод был выбран нами для исследования, результаты которого приведены в таблице 1.

Таблица 1. – Зависимость изменения оптической плотности исходных суспензий от времени инкубации при температуре 37 °С

Тип образца	Время (час) /оптическая плотность				
	0	2	4	24	48
HA(K) (Δp)	0,096±0,001	0,1074±0,006	0,114±0,003	0,118±0,005	0,1218±0,007
Ti (Δp)	0,096±0,001	0,085±0,006	0,0899±0,0002	0,092±0,015	0,1154±0,0015
HA+0,025Ch (Δp)	0,096±0,001	0,0905±0,003	0,0984±0,0005	0,100±0,0015	0,1073±0,023
HA+0,1Ch (Δp)	0,096±0,001	0,105±0,015	0,1068±0,002	0,111±0,012	0,1191±0,007
HA+Ag (Δp)	0,096±0,001	0,1026±0,004	0,0922±0,007	0,107±0,004	0,1084±0,002
HA+Ch(L)+Ag (Δp)	0,096±0,001	0,0969±0,005	0,1037±0,005	0,091±0,0009	0,0808±0,011

Приведенные в таблице 1. данные наглядно отражены на диаграмме (рис. 1). Как было указано выше, в начале эксперимента (0 час. на диаграммах) все

образцы находились в равных условиях, оптическая плотность суспензии составляла $0,096 \pm 0,001$.

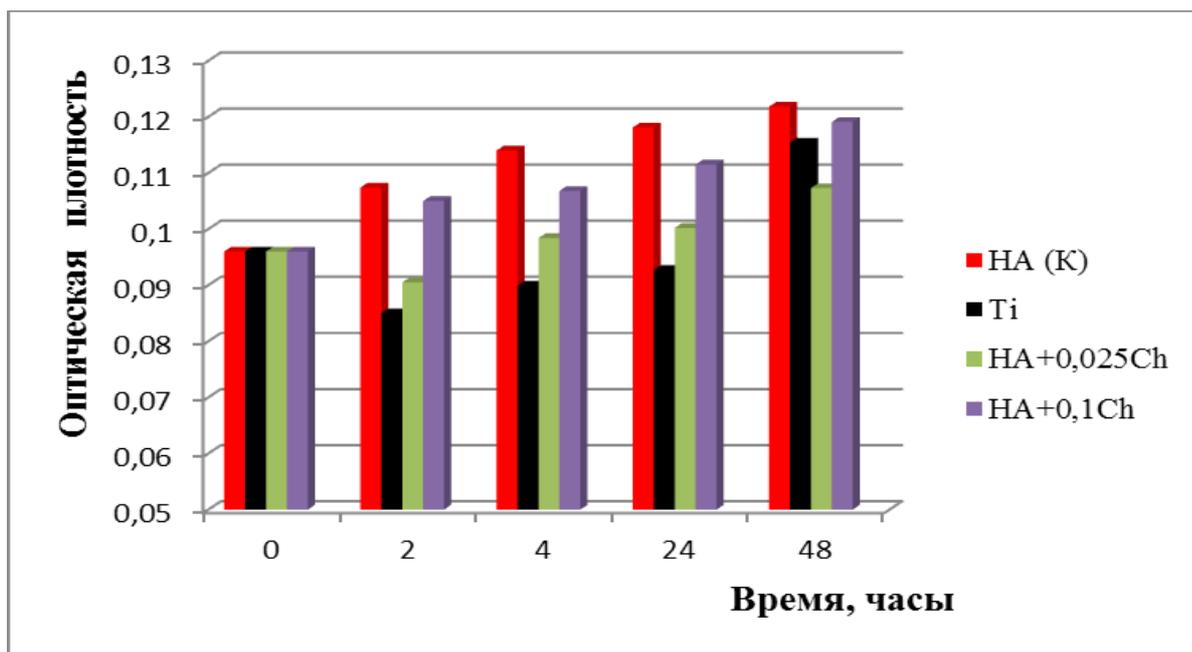


Рис. 1. Динамика изменения оптической плотности суспензий культуры *E. coli* ATCC 25922, содержащей образцы ГА-хитозан, полученные из растворов с концентрациями хитозана 0,1 г/л и 0,025 г/л.

Через 2 часа эксперимента количество микроорганизмов в различной степени изменилось во всех пробирках. Наиболее благоприятной для микроорганизмов стала пористая поверхность биологически активного покрытия, состоящего только из ГА. Так, через 2 часа количество клеток в пробирке с данным образцом достигло $(6,0 \pm 0,006) \times 10^7$, а через 48 часов $(1,6 \pm 0,007) \times 10^8$ КОЕ/мл. Этот образец мы выбрали в качестве контрольного для оценки антимикробных свойств композитных покрытий. Как и ожидалось, гладкая отшлифованная поверхность непокрытого титанового, биологически инертного образца оказала наименьшее влияние на пролиферацию микробных клеток в первые сутки экспозиции. Оптическая плотность раствора оставалась наименьшей в течение 24 часов. Через 48 часов количество микробных клеток выросло до $(1,25 \pm 0,001) \times 10^7$ КОЕ/мл, что на 24 % меньше, чем на контрольном образце. Покрытия, полученные из растворов с добавлением хитозана, также проявили наличие антимикробной активности в сравнении с контрольным покрытием (ГА). Более активным антимикробным действием обладает покрытие, полученное из раствора с меньшим содержанием хитозана (0,025 г/л).

Учитывая специфику метода термодепозиции, мы предполагаем, что из-за увеличения концентрации хитозана в исходном растворе происходит увеличение вязкости последнего, укрупнение частичек образующейся в растворе твердой фазы. Вследствие этого могут меняться такие характеристики, как морфология и гидрофобность поверхности, которые оказывают влияние на антимикробную активность [12]. Кроме того, определенное количество протонированных

аминогрупп хитозана, определяющих его антимикробные свойства, вероятно, оказываются связанными присутствующими в растворе фосфат-анионами, что также влияет на противомикробную активность хитозана. Хотя большая часть исследователей показывает антимикробные свойства растворов хитозана в уксусной или соляной кислотах [5, 13] при pH раствора ниже значения pKa, ряд авторов приводят результаты активности хитозана в составе твердотельных образцов [14, 15] и при значении pH окружающей среды выше, чем pKa. В этом случае ответственность за антимикробную активность вместо электростатического эффекта несет эффект гидрофобности или хелатирования [16].

В своем эксперименте мы исследовали действие хитозана в составе труднорастворимого композитного покрытия в физиологическом растворе при pH = 7 и температуре 37 °C. Из литературных источников [5] известно, что при высоких концентрациях (более 200 ppm) хитозан активно воздействует на все виды бактерий, при низких (20 ppm) концентрациях не только отсутствует антимикробная активность хитозана, но он способствует росту микроорганизмов, при средних (50-100 ppm) концентрациях активность хитозана зависит от его молекулярного веса. Вследствие отсутствия в условиях эксперимента растворения и диффузии хитозана в объем раствора, область его взаимодействия с микроорганизмами ограничена зоной, прилегающей к поверхности пластины, а концентрацию хитозана, воздействующего на микроорганизмы в условиях данного эксперимента, определить не представляется возможным. Однако, судя по полученным результатам спектрофотометрических измерений, композитное

покрытие на основе ГА и хитозана проявляет небольшую бактериостатическую активность в течение, как минимум, 48 часов. Так, в пробирке с покрытием, полученным из раствора, содержащего 0,025 г/л хитозана, через 48 часов находилось $(5,58 \pm 0,023) \times 10^7$ КОЕ/мл микробных клеток, что на $4,5 \times 10^7$ КОЕ/мл больше исходного количества или на 70 % меньше, чем увеличение в контрольном образце. Покрытие, полученное из раствора, содержащего 0,1 г/л хитозана, обусловило через 48 часов увеличение микробных клеток на 13×10^7 КОЕ/мл по сравнению с исходным количеством, что на 14 % меньше по сравнению с контролем.

В ходе эксперимента нами была также изучена антибактериальная активность по отношению к культуре *E. coli* композитных покрытий на основе ГА и серебра, полученных из раствора, содержащего кроме солей кальция и фосфора, 1 мг/л серебра.

Кроме этого, было исследовано трехкомпонентное композитное покрытие, состоящее из пленки хитозана, на которую методом термодепозиции нанесено покрытие ГА+Ag.

Из литературных источников [17] известно, что антибактериальная активность серебра обусловлена свободными ионами Ag^+ . Ряд авторов [18] считают одним из недостатков серебро-содержащих биоматериалов медленное высвобождение ионов серебра, зависящее от pH среды. В своем эксперименте мы исследовали антибактериальную активность покрытий с содержанием серебра в физиологическом растворе при pH=7. В качестве контрольного использовали покрытие, содержащее только ГА.

На рис.2 показано изменение оптической плотности суспензии микробной культуры во времени в присутствии образцов с содержанием серебра.

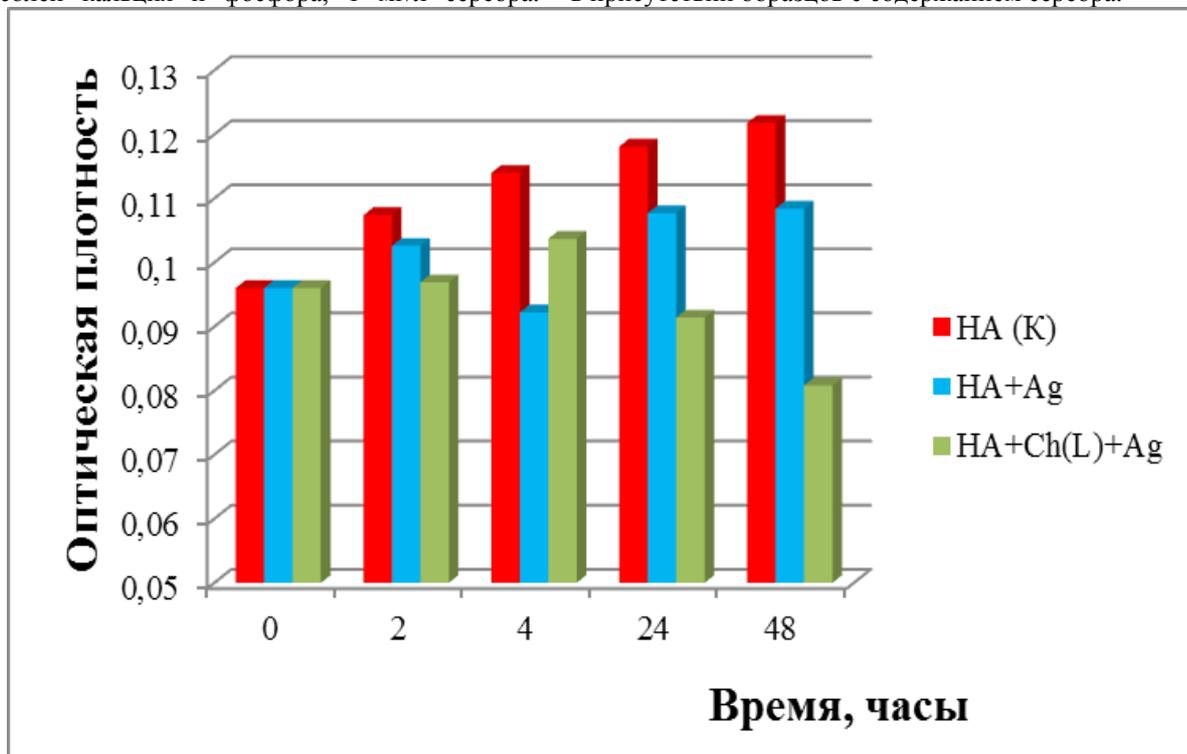


Рис.2. Динамика изменения оптической плотности суспензий культуры *E. coli* ATCC 25922, содержащей образцы ГА-хитозан-серебро

Результаты эксперимента показывают, что наибольшую антибактериальную активность покрытия ГА + серебро проявляют через 4 часа экспозиции в суспензии микробной культуры. Возможно, это связано с достижением максимума диффузии ионов серебра в окружающую среду. Как через 24, так и через 48 часов наблюдается ингибирование роста микроорганизмов, их количество остается практически одинаковым, около $(6 \pm 0,004) \times 10^7$ КОЕ/мл. Увеличение роста микробных клеток через 48 часов на 70% меньше, чем увеличение на контрольном образце. По уровню антибактериальной активности это покрытие

сравнимо с покрытием, полученным из раствора, содержащего 0,025 г/л хитозана.

Трехкомпонентное композитное покрытие оказалось наиболее эффективным вследствие проявления эффекта синергизма ионов серебра и хитозана, основанного на способности последнего к хелатообразованию. Это согласуется с литературными данными, свидетельствующими об усилении противомикробных свойств хелатных комплексов по сравнению с лигандами [19]. Возможным объяснением такого эффекта является перераспределение положительного заряда металлического иона между атомами-донорами,

присутствующими в лиганде, в результате чего происходит делокализация электронной плотности по хелатному кольцу, что, в свою очередь, способствует увеличению липидного слоя бактериальных мембран. Кроме того, покрытие на основе ГА наносится на сформированную на субстрате пленку хитозана с заданными физико-химическими параметрами (толщина, концентрация), которые могут варьироваться до необходимых пределов. Проведенный эксперимент показал, что в течение

первых 4 часов в присутствии такого покрытия хотя и наблюдался небольшой рост количества микроорганизмов, происходило ингибирование роста микробных клеток по сравнению с контрольным образцом. Данные графические зависимости были построены на основании расчетных данных, приведенных в таблице 2. На рис. 3. графически изображена динамика изменения количества клеток бактериальной культуры в течение 48 часов в присутствии образцов с содержанием хитозана.

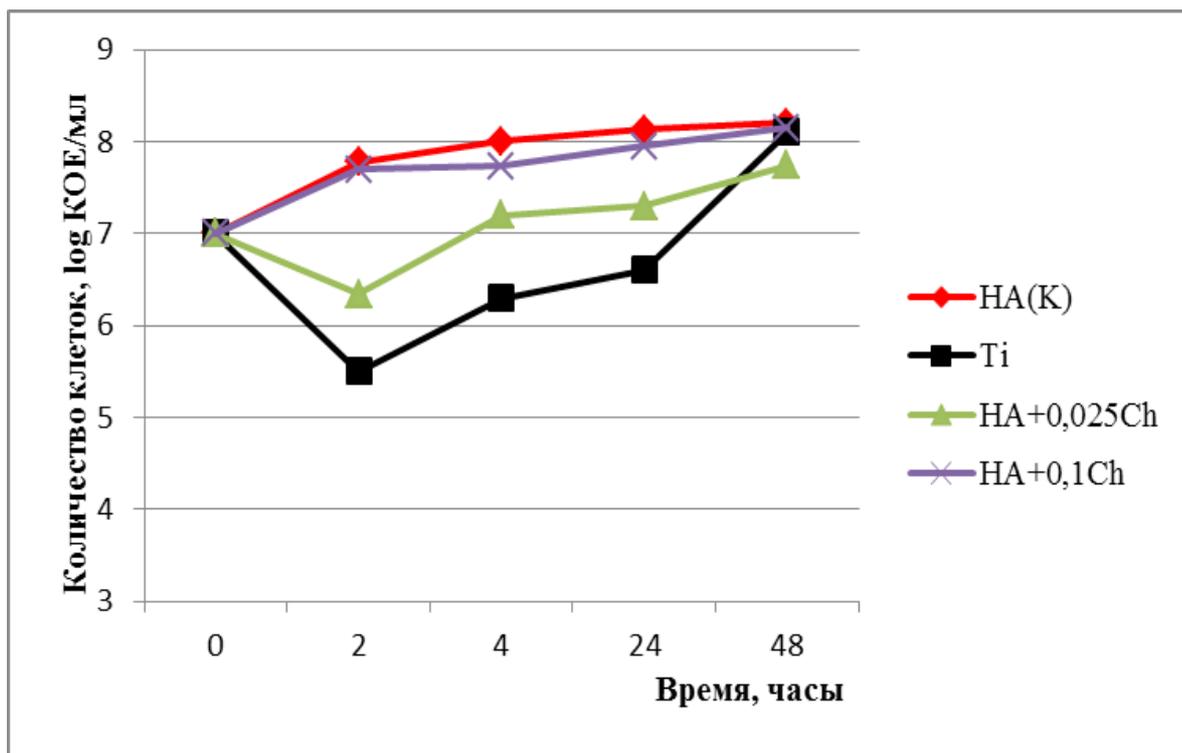


Рис.3. Изменение количества клеток микроорганизма *E.coli* в течение 48 часов, обусловленное присутствием хитозана, как антибактериального компонента

На рис.4 показана динамика изменения количества клеток культуры *E. coli* ATCC 25922 в присутствии образцов с содержанием серебра. В данной работе была исследована антибактериальная активность композитных покрытий, полученных методом термодепозиции, содержащих хитозан и серебро по отношению к микроорганизму *E. coli* ATCC 25922. Заданные в исследуемых образцах концентрации противомикробных компонентов обусловили проявление бактериостатического эффекта исследуемых покрытий в физиологическом растворе при температуре 37 °C. Наиболее эффективным

оказалось трехкомпонентное покрытие, состоящее из пленки хитозана, ГА и серебра. Очевидно, что соосаждение неорганической (ГА) и органической (хитозан) составляющих в условиях метода термодепозиции усложняет варьирование режимами процесса и получение покрытий с определенными характеристиками. Введение в состав композитных материалов противомикробных средств, в частности, хитозана и серебра, целесообразно, однако их концентрационные характеристики требуют уточнения в ходе дальнейших *in vivo* исследований.

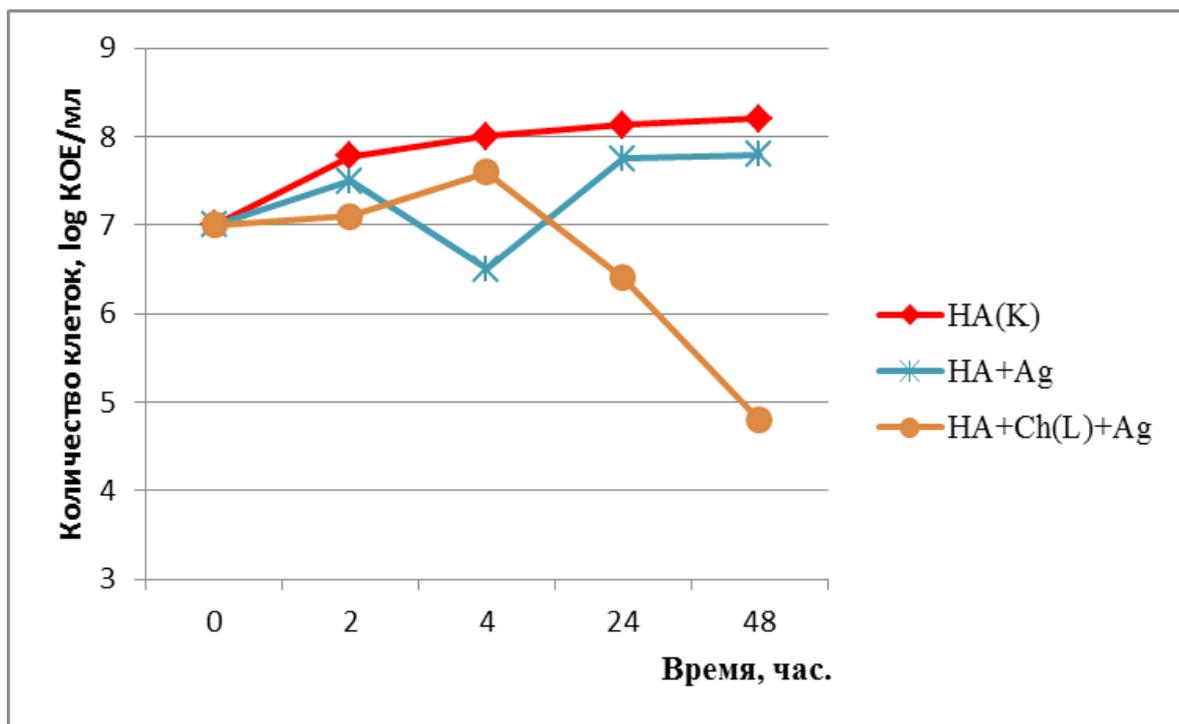


Рис.4. Изменение количества клеток микроорганизма *E.coli* в течение 48 часов, обусловленное присутствием серебра, как антибактериального компонента.

Таблица 2 Изменение концентрация микробных клеток С (КОЕ/мл) в растворах с экспериментальными субстратами во времени

Образец	Концентрация , С	Время (час)				
		0	2	4	24	48
HA (K)	КОЕ/мл	$1 \pm 0,001 \times 10^7$	$6,0 \pm 0,006 \times 10^7$	$1,15 \pm 0,003 \times 10^8$	$1,35 \pm 0,005 \times 10^8$	$1,6 \pm 0,007 \times 10^8$
	lg C	7	7,78	8,0	8,13	8,2
Ti	КОЕ/мл	$1 \pm 0,001 \times 10^7$	$3,2 \pm 0,006 \times 10^5$	$2,0 \pm 0,0002 \times 10^6$	$3,4 \pm 0,015 \times 10^6$	$1,25 \pm 0,001 \times 10^8$
	lgC	7	5,5	6,3	6,6	8,1
HA+0,0 25Ch	КОЕ/мл	$1 \pm 0,001 \times 10^7$	$2 \pm 0,003 \times 10^6$	$1,6 \pm 0,0005 \times 10^7$	$2,0 \pm 0,0015 \times 10^7$	$5,58 \pm 0,023 \times 10^7$
	lgC	7	6,34	7,2	7,3	7,74
HA+0,1 Ch	КОЕ/мл	$1 \pm 0,001 \times 10^7$	$5 \pm 0,0015 \times 10^7$	$5,4 \pm 0,002 \times 10^7$	$8,9 \pm 0,012 \times 10^7$	$1,4 \pm 0,007 \times 10^8$
	lgC	7	7,7	7,73	7,95	8,15
HA+Ag	КОЕ/мл	$1 \pm 0,001 \times 10^7$	$3,16 \pm 0,004 \times 10^7$	$3,16 \pm 0,007 \times 10^6$	$5,58 \pm 0,004 \times 10^7$	$6,25 \pm 0,002 \times 10^7$
	lgC	7	7,5	6,5	7,75	7,8
HA+Ch (L)+Ag	КОЕ/мл	$1 \pm 0,001 \times 10^7$	$1 \pm 0,005 \times 10^7$	$3,4 \pm 0,005 \times 10^7$	$2,5 \pm 0,0009 \times 10^6$	$6,3 \pm 0,011 \times 10^4$
	lgC	7	7,07	7,6	6,4	4,8

Это связано с тем, что, согласно литературным данным [3], хитозан в составе биосовместимого покрытия на металлических имплантатах может влиять не только на пролиферацию патогенных микроорганизмов, но и на клетки, участвующих в регенерации костной ткани.

References

1. Covetous A. Clorhexidine-loaded calcium phosphate nanoparticles for dental maintenance treatment: combination of mineralizing and antibacterial effects [Text] / A. Covtun, D. Kozlova, K. Ganesan, C. Biewald, N. Seipold, P. Gaengler, W. H. Arnold, M. Epple // RSC Advances. – V.2. – 2012. – p. 870-875.
2. Hendriks J. Van Horn, J. Van H. Der Mei H. Busscher, / Biomaterials. – V.25. – 2004. – p. 545-556.
3. Song, Ley Antibacterial hydroxyapatite/chitosan complex coatings with superior osteoblastic cell respons [Text] / Ley Song, Lu Gan, Yan-Feng Xiao, Yao Wu, Zhong-Wei Gu // Materials Letters. – V.65. – 2011. – p. 974-977.
4. Nejati Hafdani, F. A Review on Application of Chitosan as a Natural Antimicrobial [Text] / F. Nejati Hafdani, N. Sadeghinia // World Academy of Science, Engineering and Technology. – V.74. – 2011. – p. 257-261.
5. Liu Nan Effect of MW and concentration of chitosan on antibacterial activity of Escherichia coli [Text] / Nan Liu, Xi-Guang Chen, Hyun-Jin Park et al. // Carbohydrate Polymers - V.64. - 2006.- p. 60-65.
6. Yanovska, A. A. Obtaining of chitosan-hydroxyapatite coatings for medical implants [Text] / A. A. Yanovska, V. N. Kuznetsov L. F. Danilchenko, Sukho dub // Biophysical Bulletin of V. N. Karazin Kharkiv National University. – V. 26 (1). – 2012. – p. 88-98.
7. Yanovska G. O Coatings based on hydroxyapatite, chitosan, and silver for biomedical application [Text] / G.O. Yanovska, V. M. Kuznetsov, O. S. Stanislavov, V.Yu. Illiashenko // Chemistry, Physics and Technology of Surface. – V. 3 (3). – 2012. – p. 346-351.
8. Bacteriological control of culture media [Text]: information letter / Ministry of public health of Ukraine. – Kiev, 2000. – №. 05.4.1/1670.
9. Standardizing preparation of microbial suspensions [Text]: the newsletter of the Ministry of health of Ukraine. – Kiev, 2006. – №. 163.
10. Determination of density and numbers of cells in cell cultures [electronic resource] / Access Mode: <http://www.avantes.ru/methods/5.php>.
11. Scala, L. Z. Practical aspects of modern clinical microbiology [Text] / L. Z. Skala, S. V. Sidorenko, A. G. Nehorosheva, S. P. Rezvan, V. P. Karp, // "Labinform". – Moscow, 1997. – 184 P.
12. Kenawy E. R. The chemistry and application of antimicrobial polymers: a state-of-the- art review [Text] / Kenawy E.R. ,Worley S.D.,Broughton R. // Biomacromolecules. – 2007. – V.8. – p. 1359-1384.
13. Takanori Fujimoto Antibacterial effects of Chitosan solution against Legionella pneumophila, Escherichia coli, and Staphylococcus aureus [Text] / Takanori Fujimoto, Yasuo Tsuchiya, Michinori Terao, Kazutoshi Nakamura, Masaharu Yamamoto // International Journal of Food Microbiology. – V. 112. – 2006. – p. 96-101.
14. D. A. Buzinova Sorption and bactericidal properties of Chitosan films [Text] / D. A. Buzinova, A. B. Schipovskaya // News of Saratov University. – T. 8. Series Chemistry. Biology ecology. vol. 2. – 2008. – p. 42-46.
15. Kong M. Antibacterial mechanism of chitosan microspheres in a solid dispersing system against *E. coli* [Text] / M. Kong, X.G. Chen, C.S. Liu Liu, X. H. Meng, L. J Yu // Colloids and Surfaces. Biointerfaces. – 2008. – V. 65. – p. 197-202.
16. Kong M. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review [Text] / Ming Kong, Xi Guang Chen, Ke Xing, Huyn Jin Park // International Journal of Food Microbiology. – 2010. – V. 144. – p. 51-63.
17. Noda I. Next Generation Antibacterial Hydroxyapatite Coating: Antibacterial Activity of Ag Ions in Serum [Text] / I. Noda, F. Miyaji, Y. Ando, H. Miyamoto, T. Shimazaki at.al. // Bioceramics Development and Application. – V.1. – 2011. – p. 1-3.
18. Diaz Marcos Synthesis and Antimicrobial Activity of Silver-Hydroxyapatite Nanocomposite [Text] / Marcos Diaz, Flora Barba, Miriam Miranda, Francisco Guitian, Ramon Torrecillas, and Jose S. Moya // Journal of Nanomaterials. – Article ID 498505. – 2009. – p. 1-6.
19. Warra A. A. Transition metal complexes and their application in drugs and cosmetics- A Review [Text] / J.Chem. Pharm. Res. – V. 3 (4). – 2011. – p. 951-958.

УДК: 579.842.1/2 +579.61:616.34-002
**АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА
ГИДРОКСИАПАТИТНЫХ ПОКРЫТИЙ С
СОДЕРЖАНИЕМ ХИТОЗАНА И СЕРЕБРА НА
ТИТАНОВЫХ СУБСТРАТАХ ПО
ОТНОШЕНИЮ К МИКРООРГАНИЗМУ *E. COLI*
ATCC 25922**

**Суходуб Л. Б., Осолодченко Т. П., Яновская А. А.,
Радченко Е. А., Кучма И. Ю., Казмирчук В. В.,
Волянский Ю. Л., Суходуб Л. Ф.**

В данной работе были исследованы антибактериальные свойства покрытий на основе гидроксиапатита, хитозана и серебра, полученных методом термодепозиции из водных растворов с различной концентрацией хитозана (0,025 и 0,1 г/л) и серебра (1 мг/л), как антимикробных компонентов, а также трехкомпонентного покрытия, состоящего из пленки хитозана, гидроксиапатита и серебра. Исследование антибактериальных свойств полученных композитных покрытий по отношению к микроорганизму *E. coli* ATCC 25922 было проведено методом спектрофотометрического измерения и анализа оптической плотности суспензий, содержащих опытные образцы. Результаты показали, что заданные концентрации противомикробных компонентов обеспечили проявление бактериостатического эффекта исследуемых покрытий по отношению к культуре *E. coli* ATCC 25922 в физиологическом растворе при температуре 37°C. Наиболее эффективным оказалось трехкомпонентное покрытие, состоящее из пленки хитозана, гидроксиапатита и серебра.

Ключевые слова: гидроксиапатит, хитозан, серебро, микроорганизм *E. coli*, оптическая плотность, антибактериальная активность.

UDK: 579.842.1/2 +579.61:616.34-002
ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF
HYDROXYAPATITE COATINGS CONTAINING
OF CHITOSAN AND SILVER ON TITANIUM
SUBSTRATES IN RELATION TO
MICROORGANISMS *E. COLI ATCC 25922*

Sukhodub L. B., Osolodchenko T. P., Yanovska A. A.,
Radchenko E. A., Kuchma I. Y., Kazmirchuk V. V.,
Volyansky Yu. L., Sukhodub L. F.

In this work it was studied the antibacterial properties of coatings based on HA, with Chitosan and silver ions additions, produced by substrates thermodeposition method from aqueous solutions with varying concentrations of Chitosan (0.025 and 0.1 g/l) and silver (1 mg/l) as the antimicrobial components as well as three-part cover, consisting of a film of Chitosan, HA and silver. Study on antibacterial properties of composite coatings on the pathogen *E. coli ATCC 25922* was held by Spectrophotometric measurement and analysis of optical density of suspensions, containing samples. 3 series of measurements data were averaged. The results showed that the concentration of antimicrobial components have indicated a bacteriostatic effect of coatings on the culture of *E. coli AS ATCC 25922* in physiological solution at a temperature of 37 °C. The most effective was the three-part cover consisting of a film of chitosan, HA and silver.
Keywords: hydroxyapatite, Chitosan, silver, microorganism *E. coli*, optical density, antibacterial activity.

УДК: 579.842.1/2 +579.61:616.34-002
ПРОТИМІКРОБНІ ВЛАСТИВОСТІ
ГІДРОКСИАПАТИТНИХ ПОКРИТТІВ З
ВМІСТОМ ХІТОЗАНУ ТА СРІБЛА НА
ТИТАНОВИХ СУБСТРАТАХ ЩОДО
МІКРООРГАНІЗМУ *E. COLI ATCC 25922*

Суходуб Л. Б., Осолодченко Т. П., Яновська Г. О.,
Радченко О. О., Казмірчук В. В., Волянський Ю.
Л., Суходуб Л. Ф.

В даній роботі було вивчено антибактеріальні властивості покриттів на основі ГА, хітозану і срібла, отриманих методом термічної депозиції з водних розчинів з різною концентрацією хітозану (0.025 і 0,1 г/л) та срібла (1 мг/л), як антимікробних компонентів, а також трьохкомпонентного покриття, що складається з плівки хітозану, ГА і срібла. Дослідження антибактеріальних властивостей композитних покриттів щодо мікроорганізму *E. coli ATCC 25922* було проведено методом спектрофотометричного вимірювання та аналізу оптичної густини суспензії, що містила зразки. Дані 3-х серій даних були усереднені. Результати показали, що задані концентрації заданих компонентів забезпечили прояв бактеріостатичного ефекту по відношенню до мікроорганізму *E. coli* в фізіологічному розчині при температурі 37 °C. Найбільш ефективним виявилось трьохкомпонентне покриття, що складається з плівки хітозану, ГА, та срібла.

Ключові слова: гідроксиапатит, хітозан, срібло, мікроорганізм *E. coli*, оптична густина, антибактеріальна активність.