

Формирование устойчивости грамотрицательных микроорганизмов к препаратам на основе серебра

С.Э.Ржеусский¹, Т.Ф.Черных², Ю.А.Буковская², О.Ю.Богданова²

¹УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Витебск, Республика Беларусь;

²ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Изучено формирование устойчивости *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa* к препаратам, содержащим серебро в виде наночастиц и ионов. Установлено, что при культивировании микроорганизма *P. aeruginosa* в среде, содержащей наночастицы серебра, нитрат серебра или протаргол, минимальная ингибирующая концентрация исследованных препаратов увеличивается в 4 раза уже через 5 пересевов и в дальнейшем остается стабильной. Наблюдается увеличение минимальной бактерицидной концентрации в 16 раз для растворов нитрата серебра и наночастиц серебра и в 4 раза для раствора протаргола. Бактерии *K. pneumoniae* формируют меньшую устойчивость по отношению к препаратам серебра: увеличение минимальной бактерицидной концентрации для раствора нитрата серебра – в 8 раз, для раствора наночастиц серебра – в 4 раза, для раствора протаргола – в 2 раза.

Ключевые слова: грамотрицательные микроорганизмы, инфекция, ожоговые и хирургические раны, резистентность, антимикробное действие, наночастицы серебра, минимальная ингибирующая концентрация, минимальная бактерицидная концентрация

Для цитирования: Ржеусский С.Э., Черных Т.Ф., Буковская Ю.А., Богданова О.Ю. Формирование устойчивости грамотрицательных микроорганизмов к препаратам на основе серебра. Бактериология. 2025; 10(1): 26–29. DOI: 10.20953/2500-1027-2025-1-26-29

Formation of resistance of gram-negative microorganisms to silver-based drugs

S.E.Rzheusky¹, T.F.Chernykh², Yu.A.Bukovskaya², O.Yu.Bogdanova²

¹Vitebsk State Order of Peoples Friendship Medical University, Vitebsk, Republic of Belarus;

²Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, Saint Petersburg, Russian Federation

The formation of resistance of *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa* to preparations containing silver in the form of nanoparticles and ions was studied. It was found that when the microorganism *P. aeruginosa* is cultivated in a medium containing silver nanoparticles with a maximum absorption spectrum in the range of 405–410 nm, silver nitrate or protargol, the minimum inhibitory concentration of the studied drugs increases 4 times after only 5 subcultures and subsequently remains stable. An increase in minimum bactericidal concentration by 16 times is observed for solutions of silver nitrate and silver nanoparticles, and by 4 times for a solution of protargol. The bacteria *K. pneumoniae* forms less resistance to silver preparations, increasing the minimum bactericidal concentration for a solution of silver nitrate by 8 times, for a solution of silver nanoparticles by 4 times, and for a solution of protargol by 2 times.

Key words: gram-negative microorganisms, infection, burn and surgical wounds, resistance, antimicrobial action, silver nanoparticles, minimum inhibitory concentration, minimum bactericidal concentration

For citation: Rzheusky S.E., Chernykh T.F., Bukovskaya Yu.A., Bogdanova O.Yu. Formation of resistance of gram-negative microorganisms to silver-based drugs. Bacteriology. 2025; 10(1): 26–29. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2025-1-26-29

Для корреспонденции:

Черных Татьяна Фёдоровна, доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой микробиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России

Адрес: 197022, Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, 14, лит. А
E-mail: tatiana.odegova@pharminnotech.com

Статья поступила 12.01.2024, принята к печати 31.03.2025

For correspondence:

Tatyana F. Chernykh, Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor, Head of the Department of Microbiology, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation

Address: lit. A, 14 Prof. Popov str., Saint Petersburg, 197022, Russian Federation
E-mail: tatiana.odegova@pharminnotech.com

The article was received 12.01.2024, accepted for publication 31.03.2025

В последние годы ключевыми оппортунистическими возбудителями, связанными с оказанием медицинской помощи, являются такие грамотрицательные микроорганизмы, как *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa* [1]. Эти микроорганизмы могут вызывать гнойные воспаления ожоговых и хирургических ран, абдоминальные инфекции, сепсис и т.д. Специалисты отмечают тяжелое течение подобных заболеваний и высокий уровень летальности, связанный с ними [2].

Одной из причин сложного лечения инфекций, вызванных грамотрицательной микрофлорой, является формирование у бактерий резистентности к антибиотикам [3]. Она формируется по различным механизмам и приводит к частичной или полной потере активности противомикробного препарата [4, 5].

Одним из способов борьбы с резистентностью микроорганизмов является поиск новых веществ с антимикробным действием. Перспективными в данном плане выглядят наночастицы серебра, обладающие значительным антимикробным эффектом по отношению к грамположительным и грамотрицательным микроорганизмам [6, 7], микроскопическим грибам [8].

Целью настоящей работы является изучение формирования устойчивости *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* к препаратам, содержащим серебро.

Материал и методы

Объектами исследования являлись: водный раствор наночастиц серебра, полученных глюкозным синтезом в лаборатории Витебского государственного медицинского университета, с максимумом поглощения на спектрограмме в диапазоне 405–410 нм; раствор нитрата серебра; раствор протаргола аптечного изготовления. Спектр поглощения водного раствора наночастиц серебра получали на регистрирующем спектрофотометре Specord 250 относительно воды в кювете с толщиной слоя 1 см.

Микробиологические исследования проведены в микробиологической лаборатории (лицензия на работу с ПБА III–IV групп патогенности) Центра контроля качества лекарственных средств СПХФУ, аккредитованной Росздравнадзором, и Витебском государственном медицинском университете. В качестве тест-культур были выбраны бактериальные суспензии *K. pneumoniae* ATCC 700603 и *P. aeruginosa* ATCC 9027 концентрацией $0,5 \cdot 10^9$ КОЕ/мл, эквивалентной значению мутности 0,5 по МакФарланду. Микроорганизмы культивировали на жидкой среде Мюллера–Хинтон.

Исследование проводили по методу двукратных серийных разведений в 96-луночных планшетах. После определения значения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) содержимое последней лунки, в которой отмечался рост микроорганизма, пересевали на бульон Мюллера–Хинтон. Далее с использованием полученного микробного изолята вновь проводили изучение антимикробного действия исследуемых веществ. Таким образом, в течение 20 пересевов бактерии росли в среде, содержащей серебро в концентрациях ниже МИК.

После каждого исследования на определение МИК содержимое чистых лунок пересевали на агар для определения

минимальной бактерицидной концентрации (МБК). Каждое исследование проводили в пяти повторностях.

Результаты исследования и их обсуждение

Результаты изучения формирования резистентности у штамма *P. aeruginosa* ATCC 9027 к действию серебра представлены на рис. 1, 2.

Установлено, что при культивировании *P. aeruginosa* ATCC 9027 в среде, содержащей серебро, уже после 2–3 пересевов МИК всех исследованных препаратов увеличивается. К 5-му пересеву она увеличивается в 4 раза и остается стабильной на протяжении всего дальнейшего исследования.

Показано, что аналогично МИК увеличивается МБК: в 16 раз для растворов нитрата серебра и наночастиц серебра и в 4 раза для раствора протаргола к 6-му пересеву (рис. 2). При дальнейших пересевах этот показатель не менялся.

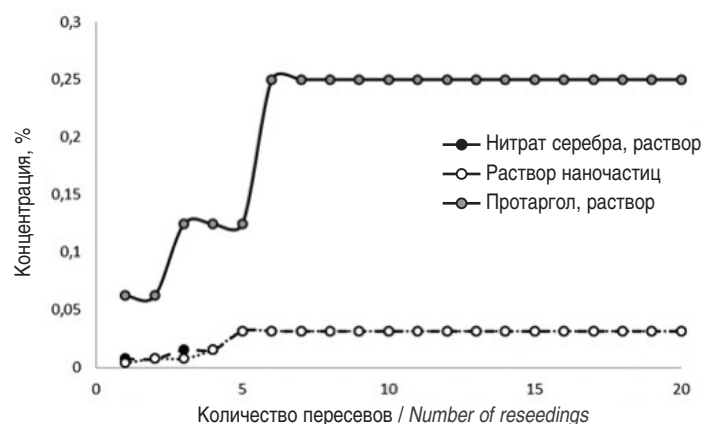


Рис. 1. Формирование устойчивости штамма *P. aeruginosa* ATCC 9027 к препаратам серебра в течение 20 пересевов (МИК). Ось ординат – концентрация действующего вещества, %: нитрат серебра; раствор протаргола; суспензия наночастиц серебра.
Fig. 1. Formation of resistance of *P. aeruginosa* strain ATCC 9027 to silver preparations over 20 reseedings (MIC). Ordinate axis – concentration of active substance, %: silver nitrate; protargol solution; suspension of silver nanoparticles.

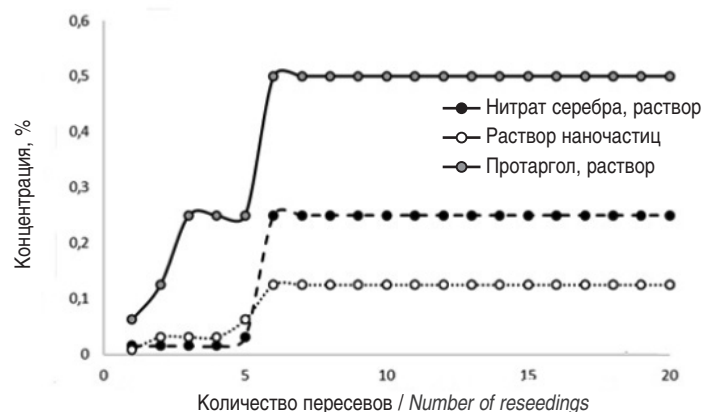


Рис. 2. Формирование устойчивости *P. aeruginosa* ATCC 9027 к препаратам серебра в течение 20 пересевов (МБК). Обозначения те же, что и на рис. 1.
Fig. 2. Formation of resistance of *P. aeruginosa* strain ATCC 9027 to silver preparations over 20 reseedings (MBC). The designations are the same as in Figure 1.

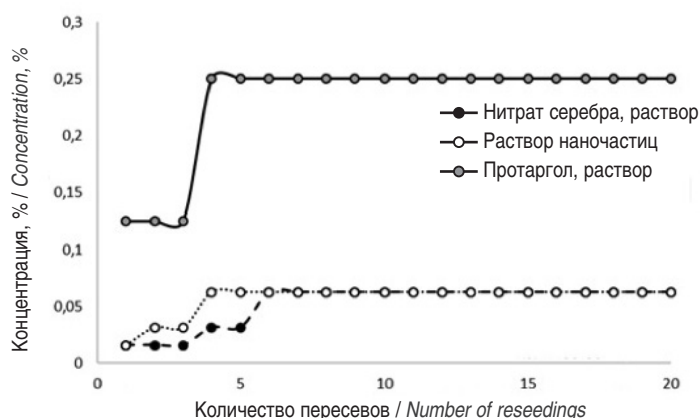


Рис. 3. Формирование устойчивости *K. pneumonia* ATCC 700603 к препаратам серебра в течение 20 пересевов (МИК). Обозначения те же, что и на рис. 1.

Fig. 3. Development of resistance of *K. pneumoniae* ATCC 700603 to silver preparations over 20 subcultures (MIC). The designations are the same as in Figure 1.

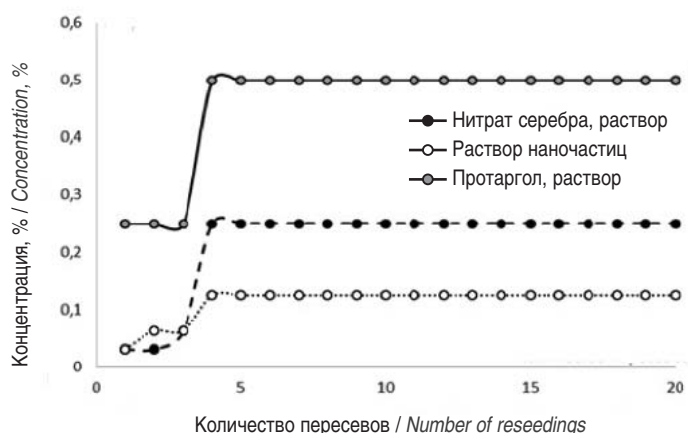


Рис. 4. Формирование устойчивости *K. pneumonia* ATCC 700603 к препаратам серебра в течение 20 пересевов (МБК). Обозначения те же, что и на рис. 1.

Fig. 4. Development of resistance of *K. pneumoniae* ATCC 700603 to silver preparations over 20 subcultures (MBC). The designations are the same as in Figure 1.

Сходные результаты наблюдали при изучении формирования резистентности к препаратам серебра бактерии *K. pneumonia* ATCC 700603 (рис. 3).

Показано, что при культивировании данного микроорганизма в среде, содержащей серебро, уже к 4-му пересеву наблюдается увеличение МИК раствора нитрата серебра и наночастиц серебра в 4 раза. Установлено, что МИК протаргола увеличивается только в 2 раза.

Определено, что максимальное увеличение МБК препаратов серебра по отношению к *K. pneumonia* ATCC 700603 также происходило к 4-му пересеву (рис. 4).

Установлено, что *K. pneumonia* формируют меньшую устойчивость по отношению к препаратам серебра, чем *P. aeruginosa*. К 4-му пересеву наблюдали увеличение МБК для раствора нитрата серебра в 8 раз, для раствора наночастиц серебра – в 4 раза, для раствора протаргола – в 2 раза.

Показано, что препараты на основе наночастиц серебра в концентрации <0,015% не обладают антимикробным эффектом против инфекции, вызванной грамотрицательными

микроорганизмами, но способны формировать у бактерий некоторую устойчивость. В концентрациях 0,015–0,125% наночастицы скорее будут оказывать бактериостатическое действие, подавляя рост микроорганизмов, и только в более высокой концентрации можно говорить о бактерицидном действии. С этой точки зрения особое внимание следует уделить применению всевозможных косметических средств и изделий медицинского назначения с «ионами серебра» [9].

На антимикробную активность наночастиц серебра при практическом применении будет большое влияние оказывать как микробная нагрузка, как и наличие раневого отделяемого [10], поэтому выбор концентрации перспективных препаратов может осуществляться только в совокупности с указаниями по применению, такими, например, как элементы предварительного туалета раны или совместное использование нескольких усиливающих друг друга антисептиков.

Закключение

Установлено, что в условиях *in vitro* грамотрицательные бактерии *P. aeruginosa* ATCC 700603 и *K. pneumonia* ATCC 9027 способны вырабатывать устойчивость к серебру в виде наночастиц и солей, увеличивая их МИК в 2–4 раза, а МБК – в 2–16 раз. Устойчивость появляется уже ко 2-му, а максимальной силы достигает к 4–6-му пересеву.

Информация о финансировании

Финансирование данной работы не проводилось.

Financial support

No financial support has been provided for this work.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest.

Литература

1. Yakovlev SV, Suvorova MP, Beloborodov VB, Basin EE, Eliseev EV, Kovelchenov SV, et al. Multicentre Study of the Prevalence and Clinical Value of Hospital-Acquired Infections in Emergency Hospitals of Russia: ERGINI Study Team. Antibiot Khimioter. 2016;61(5-6):32-42. (English, Russian).
2. Тапальский ДВ, Карпова ЕВ, Акуленок ОМ, Окулич ВК, Генералов ИИ, Лескова НЮ, и др. Антибиотикорезистентность *Klebsiella pneumoniae* на фоне пандемии COVID-19: опыт многопрофильного стационара. Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2021;10,3(38):15-22. DOI: 10.33029/2305-3496-2021-10-3-15-22
3. Орлова НВ. Антибиотикорезистентность и современная стратегия антибактериальной терапии. Медицинский совет. 2022;16(8):89-97. DOI: 10.21518/2079-701X-2022-16-8-89-97
4. Даудова АД, Демина ЮЗ, Генатуллина ГН, Абдрахманова РО, Баева ГР, Ясенявская АЛ, и др. Антибиотикорезистентность. Вызов современности. Антибиотики и химиотерапия. 2023;68(3-4):66-75. DOI: 10.37489/0235-2990-2023-68-3-4-66-75
5. Четвернина ЕА, Абрамовских ОС, Савочкина АЮ, Пыхова ЛР, Полторацк АЕ. Антибиотикорезистентность грамотрицательной флоры у пациентов с сепсисом. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2022;24(S1):46.

6. Rajesh S, Dharanishanthi V, Vinoth Kanna A. Antibacterial mechanism of biogenic silver nanoparticles of *Lactobacillus acidophilus*. J of Experimental Nanoscience. 2015;10:1143-1152. DOI: 10.1080/17458080.2014.985750
7. Ржеусский СЭ, Довнар АГ, Кугач ВВ. Изучение антимикробной активности повияргола. Вестник Витебского государственного медицинского университета. 2015;14(6):120-126.
8. Hembram KC, Kumar R, Kandha L, Parhi PK, Kundu CN, Bindhani BK. Therapeutic prospective of plant-induced silver nanoparticles: application as antimicrobial and anticancer agent. Artif Cells Nanomed Biotechnol. 2018;46(sup3):S38-S51. DOI: 10.1080/21691401.2018.1489262
9. Panáček A, Kvítek L, Smékalová M, Večeřová R, Kolář M, Röderová M, et al. Bacterial resistance to silver nanoparticles and how to overcome it. Nat Nanotechnol. 2018 Jan;13(1):65-71. DOI: 10.1038/s41565-017-0013-y
10. Saravanan M, Arokiyaraj S, Lakshmi T, Pugazhendhi A. Synthesis of silver nanoparticles from *Phenerochaete chrysosporium* (MTCC-787) and their antibacterial activity against human pathogenic bacteria. Microb Pathog. 2018 Apr;117:68-72. DOI: 10.1016/j.micpath.2018.02.008
5. Chetvernina EA, Abramovskikh OS, Savochkina AY, Pykhova LR, Poltorak AE. Antibiotikorezistentnost' gramotritsatel'noi flory u patsientov s sepsisom. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2022;24(S1):46. (In Russian).
6. Rajesh S, Dharanishanthi V, Vinoth Kanna A. Antibacterial mechanism of biogenic silver nanoparticles of *Lactobacillus acidophilus*. J of Experimental Nanoscience. 2015;10:1143-1152. DOI: 10.1080/17458080.2014.985750
7. Rzeussky SE, Dounar HG, Kugach VV. The study of antimicrobial activity of poviargol. Vitebsk Medical JoUrnal. 2015;14(6):120-126. (In Russian).
8. Hembram KC, Kumar R, Kandha L, Parhi PK, Kundu CN, Bindhani BK. Therapeutic prospective of plant-induced silver nanoparticles: application as antimicrobial and anticancer agent. Artif Cells Nanomed Biotechnol. 2018;46(sup3):S38-S51. DOI: 10.1080/21691401.2018.1489262
9. Panáček A, Kvítek L, Smékalová M, Večeřová R, Kolář M, Röderová M, et al. Bacterial resistance to silver nanoparticles and how to overcome it. Nat Nanotechnol. 2018 Jan;13(1):65-71. DOI: 10.1038/s41565-017-0013-y
10. Saravanan M, Arokiyaraj S, Lakshmi T, Pugazhendhi A. Synthesis of silver nanoparticles from *Phenerochaete chrysosporium* (MTCC-787) and their antibacterial activity against human pathogenic bacteria. Microb Pathog. 2018 Apr;117:68-72. DOI: 10.1016/j.micpath.2018.02.008

References

1. Yakovlev SV, Suvorova MP, Beloborodov VB, Basin EE, Eliseev EV, Kovelonov SV, et al. Multicentre Study of the Prevalence and Clinical Value of Hospital-Acquired Infections in Emergency Hospitals of Russia: ERGINI Study Team. Antibiot Khimioter. 2016;61(5-6):32-42. (English, Russian)
2. Tapalski DV, Karpova EV, Akulenok OM, Okulich VK, Generalov II, Leskova NYu, et al. Antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* against the background of the COVID-19 pandemic: experience of the multidisciplinary hospital. Infectious Diseases: News, Opinions, Training. 2021;10,3(38):15-22. DOI: 10.33029/2305-3496-2021-10-3-15-22 (In Russian).
3. Orlova NV. Antibiotic resistance and modern strategy of antibacterial therapy. Medical Council. 2022;16(8):89-97. DOI: 10.21518/2079-701X-2022-16-8-89-97 (In Russian).
4. Daudova AD, Demina JZ, Genatullina GN, Abdrakhmanova RO, Baeva GR, Yasenyavskaya AL, et al. Antibacterial Resistance. The Challenge of Modernity. Antibiotics and Chemotherapy. 2023;68(3-4):66-75. DOI: 10.37489/0235-2990-2023-68-3-4-66-75 (In Russian).

Информация о соавторах:

Ржеусский Сергей Эдуардович, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармации УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

Буковская Юлия Александровна, ассистент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России

Богданова Ольга Юрьевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России

Information about co-authors:

Sergey E. Rzeussky, PhD in Pharmaceutical Sciences, Associate Professor of the Department of Pharmacy, Vitebsk State Order of Peoples Friendship Medical University

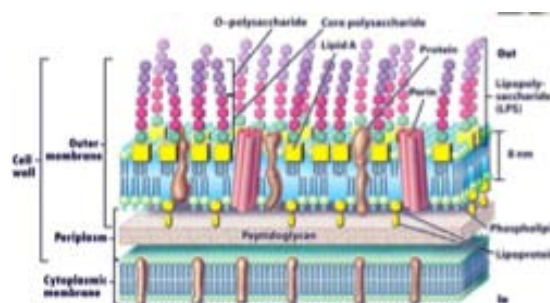
Yulia A. Bukovskaya, Assistant, Department of Microbiology, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Ministry of Health of the Russian Federation

Olga Yu. Bogdanova, PhD in Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Microbiology, Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University, Ministry of Health of the Russian Federation

НОВОСТИ НАУКИ

Ответ псевдомонад на повреждение внешней мембраны

Проанализировали живые клетки с помощью корреляционной атомно-силовой микроскопии (АСМ) и флуоресцентной микроскопии. Показано, что силы вдавливания выше 7 наноньютонов запускают локальные, повторные и целевые сборки H1-T6SS в течение нескольких секунд после воздействия наконечника атомно-силового микроскопа (АСМ). Анализ соответствующих кривых силы АСМ показывает, что нарушение одного слоя клеточной оболочки необходимо и достаточно для запуска сборки H1-T6SS. Нонапептид полимиксина В, повреждающий внешнюю мембрану, также запускает сборку H1-T6SS. Это говорит о том, что у *P. aeruginosa* развился механизм обнаружения опасности, который позволяет быстро и точно задействовать антибактериальный H1-T6SS в ответ на нарушения внешней мембраны.



Brüderlin M, Kolesnikov M, Röthlin F, Lim RYH, Basler M.
Pseudomonas aeruginosa assembles H1-T6SS in response to physical and chemical damage of the outer membrane.
Sci Adv. 2025 Mar 7;11(10):eadr1713. DOI: 10.1126/sciadv.adr1713