

## СНИЖЕНИЕ МИКРОБНОЙ ОБСЕМЕНЕННОСТИ КОМПОЗИЦИИ НА ОСНОВЕ АЛЬГИНАТА НАТРИЯ\* \*\*

### BACTERIAL (MICROBIAL) CONTENT REDUCTION IN THE ALGINATE- BASED COMPOSITION

Т.С. БЫРКИНА, Д.Р. ГАФУРОВА, Н.Д. ОЛТАРЖЕВСКАЯ, Г.Е. КРИЧЕВСКИЙ  
T.S. BYRKINA, D.R. GAFUROVA, N.D. OLTARZHEVSKAYA, G.E. KRICHEVSKI

(Московский государственный университет технологий и управления им. К.Г. Разумовского,  
ООО "Колетекс", ООО "НПО Текстильпрогресс")  
(Moscow State University of Technologies and Management named after K.G.Razumovskiy,  
LLC "Coletex", LLC "SPA Textileprogress")  
E-mail: koletex@list.ru

*Альгинат натрия широко используется в различных областях: в текстильной промышленности в виде загустки при печати, в фармацевтике как вспомогательное вещество при создании различных лекарственных форм, в пищевой промышленности в качестве загустителя и стабилизатора и т.д. Однако, несмотря на все положительные свойства этого полимера (высокая загущающая способность, тиксотропность, лечебное действие, например, гемостатическое, регенирующее и т.п.), он имеет нежелательный показатель – высокую микробную обсемененность. Если для применения в текстильной печати это не имеет особого значения, то при получении лечебных материалов, в том числе и на текстильной основе, становится важным и требует особого внимания как на стадии создания материалов, так и во время их хранения и эксплуатации.*

*Sodium alginate is widely used in various fields: in the textile industry in the form of thickener during printing, in pharmaceuticals industry it is used as an adjuvant upon for various dosage bands; in food processing industry it is used as a thickener and stabilizer etc. However, despite of all positive properties (high thickening ability; thixotropy, healing effect – hemostatic, regenerant ability ect.), sodium alginate has an adverse effect – it is high bacterial (microbial) content. The fact does not have important impact on textile printing but is essential for the medical material manufacturing, including production of textile-based materials, on the stage of producing, storage and exploitation.*

**Ключевые слова:** лечебные материалы, альгинат натрия, срок годности, гидрогель, поливиниловый спирт, наночастицы серебра, консервант, стерильность.

**Keywords:** healing materials, sodium alginate, time increase, hydrogel, polyvinyl alcohol, silver nanoparticles, preservative, sterility.

В отечественной компании ООО "Колектес" более 20 лет ведутся исследования по

разработке и производству лечебных материалов на текстильной и полимерной (при-

\* Работа проводилась в рамках выполнения гранта РФФИ № 15-29-04847.

\*\* По материалам пленарного доклада на XIX Международном научно-практическом форуме "SMARTEX-2016" (Иваново, ИВГПУ, май 2016 г.).

родный биополимер – альгинат натрия) основе. Гидрогелевая композиция (ГК) – аналог полимерной загустки в текстильной печати, в которую вместо красителя включено лекарственное вещество, наносится через шаблон (вручную или на плоскочечной машине) на текстильную основу и высушивается при температуре 23...25°C. После печати получают изделия (салфетки марки "Колетекс®"), биополимерный поверхностный слой которых в результате неограниченного набухания в раневой среде длительно выделяет введенное лекарство. В ряде случаев применение непосредственно загустки из альгината натрия (АН) и лекарства, то есть лечебной ГК (торговая марка "Колегель®"), удобнее и эффективнее, в частности, для направленной доставки лекарства, когда очаг поражения находится в полости (например, опухоль) [1]. Такие материалы и рассматриваются в настоящей работе.

Выпускаемые в ООО "Колетекс" медицинские изделия подвергаются обязательной финишной стерилизации, осуществляемой радиационным методом ( $\gamma$ -облучение). Стерилизующая доза подбирается таким образом, чтобы при достижении стерильности свойства текстильного материала и лекарства не изменялись. Медицинские изделия на текстильной основе обрабатываются после сушки и не подвергаются существенному радиолитису при стерилизации, в то время как вязкость ГК за счет радиолитиса резко снижается, что приводит к деполимеризации АН и отрицательно сказывается на свойствах материала. Таким образом, доза стерилизации ГК должна быть как можно меньше, но при этом обеспечивать стерильность. Установлено, что

оптимальной дозой  $\gamma$ -облучения гидрогелевых материалов является 6 КГр [2].

Для достижения стерильности конечной продукции необходимо, чтобы начальная микробная обсемененность АН была как можно меньше (по требованию нормативных документов – не более  $1 \cdot 10^2$  КОЕ/г). Однако в процессе хранения его обсемененность возрастает, поскольку АН является хорошим источником для развития различных микроорганизмов. Технологической особенностью при производстве ГК также является то, что от стадии расфасовки композиции до момента стерилизации, которая проводится в специальной организации, проходит время до 3 суток, и в это время, несмотря на условия хранения (4°C), исходная обсемененность композиции может возрасти.

Поэтому наша задача – разработка способов снижения обсемененности ГК. Чем меньше микробная обсемененность ГК, тем меньше может быть доза стерилизации и соответственно меньше деструкция. При этом следует добиться срока годности ГК, принятого для подобного рода продукции, не менее 2 лет.

Объекты исследования – АН и ГК на его основе. В качестве дополнительной полимерной добавки использовался поливиниловый спирт (ПВС) Mowiol 6-98 и Mowiol 28.99 с молекулярной массой 45.000 и 145.000 соответственно, не более 30% ПВС от общего содержания АН из-за его недостаточной способности к биодegradации [3]. Состав изучаемых композиций на основе АН и ПВС приведен в табл. 1.

Таблица 1

№	Компоненты композиции	Содержание компонента в % масс. в композиции						
		1	2	3	4	5	6	7
1	Альгинат натрия	7,0	6,3	5,6	4,9	6,3	5,6	4,9
2	ПВС 45.000	-	0,7	1,4	2,1	-	-	-
3	ПВС 145.000	-	-	-	-	0,7	1,4	2,1
4	Диоксидин	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
5	Лидокаин	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0	2,0
6	Вода дистиллированная	90,1	90,1	90,1	90,1	90,1	90,1	90,1

На первом этапе определяли общую микробную обсемененность для АН, а также дополнительно вводимого ПВС и лечебных композиций на основе АН и АН с ПВС для того, чтобы оценить вклад синтетического полимера в снижение общей микробной обсемененности. Общую микробную обсемененность определяли в соответствии с указаниями ОФС 42-0067-07 "Микробиологическая чистота".

В ГК вводили лекарство диоксидин – антибактериальный препарат широкого спектра действия вместе с местным анестетиком лидокаином. Оценивали способность диоксидина снижать микробную обсемененность композиции до стерилизации.

Поскольку такой важный параметр ГК, как вязкость, изменяется ввиду деструкции (радиолиза) при  $\gamma$ -облучении, оптимальное содержание ПВС в ГК определяли не только исходя из общей микробной обсемененности гидрогеля на третьи сутки после приготовления, но и по вязкости до и после стерилизации. Вязкость оценивали на программируемом вискозиметре RVDV-II+Pro.

В связи с тем что традиционно используемые синтетические антимикробные препараты в ГК "Колегель" и "Колетекс" (фурагин, гентамицина сульфат, хлоргексидина биглюконат) имеют строго определенный спектр действия, а также из-за выработки устойчивости микроорганизмов к препаратам, была оценена возможность применения в качестве антимикробного агента НЧС, действующих на микроорганизмы и не вызывающих у них резистентность [4].

Представляло интерес изучить введение НЧС дополнительно с позиции консервирующего агента до финишной стерилизации ГК. Нами рассматривалась возможность получения НЧС по методу "зеленой химии", подразумевающая использование природных восстановителей, которыми являются полисахариды [5].

ГК на основе АН с НЧС исследовали спектрофотометрически на приборе СФ 102 (качественный анализ), а также с помощью метода зондовой микроскопии (Нтегра). Микробную обсемененность ГК на ос-

нове АН с НЧС определяли с помощью тест-подложки RIDA COUNT.

Из разрешенных консервирующих добавок (КД) для альгинатной ГК использовали сорбат калия (CAS №24634-61-5) и мицеллярные формы КД, выпускаемых ЗАО "АКВАНОВА РУС": DS 4 (4% сорбиновая кислота), DS 12 (12% бензойная кислота), DS 44 (4% сорбиновая кислота и 4% бензойная кислота). Данные КД были выбраны исходя из их токсикологической безопасности и разрешения их использования в медицине, пищевой и косметической промышленности [6], а также их ценовых характеристик. Образцы ГК с вышеперечисленными КД проверяли на стерильность в соответствии с указаниями ОФС 42-066-07 "Стерильность". Оценивали влияние присутствия в ГК НЧС и КД на вязкость композиции после стерилизации.

Было установлено, что общая микробная обсемененность АН, ПВС 45.000, ПВС 145.000 составляет  $3,0 \cdot 10^3$  КОЕ/г,  $<1,0 \cdot 10^1$  КОЕ/г,  $<1,0 \cdot 10^1$  КОЕ/г соответственно.

Количество микроорганизмов определялось в композициях, хранившихся трое суток при температуре 4°C до стадии стерилизации. Результаты приведены на рис. 1 (общая обсемененность композиций с различным содержанием ПВС).

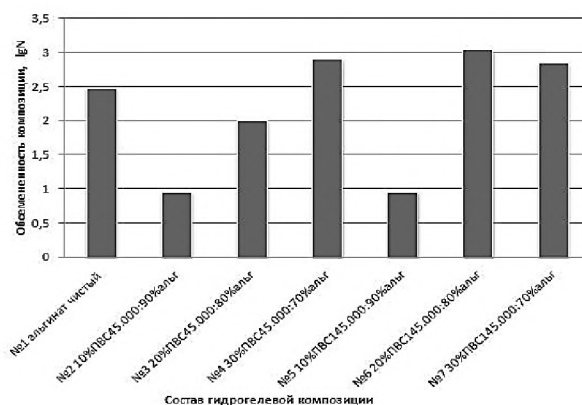


Рис. 1

Введение в композицию ПВС с меньшей микробной обсемененностью по сравнению с АН в количестве 0,7% может понизить общую микробную обсемененность композиции до стерилизации. Необходимо было определить оптимальную концентра-

цию вводимого ПВС с точки зрения реологических характеристик и степени десорбции ЛВ из ГК. Составы ГК приведены на

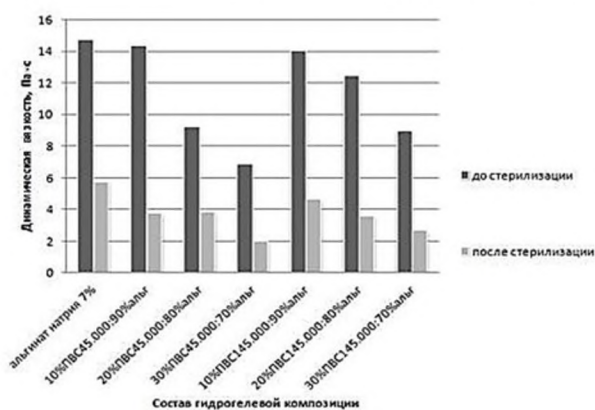


Рис. 2

Из рис. 2 (влияние радиационной стерилизации на вязкость ГК различного состава) видно, что вязкость всех ГК снижается после  $\gamma$ -стерилизации 6 КГр, вязкость ГК №5 снизилась в меньшей степени по сравнению с остальными, однако ни один вариант по показателю вязкости не отвечает технологическим требованиям.

Введение ПВС позволяет снизить исходную обсемененность ГК, но после стерилизации не поддерживает вязкость на необходимом уровне.

Из рис. 3 (обсемененность композиций на основе АН с диоксином и без на трети сутки хранения до стерилизации (температура хранения 4°C)) видно, что диоксидин снижает общую микробную обсемененность ГК при хранении до стерилизации за счет подавления бактериальной микрофлоры, однако его вклад недостаточен, чтобы предотвратить ухудшение качества продукции.

Таким образом, исследование с целью сохранения вязкости и снижения обсемененности ГК было продолжено путем подбора КД, которые при дозе 6 КГр обеспечат гарантированный срок хранения ГК – 2 года.

В качестве лечебных антибактериальных, а также консервирующих и стабилизирующих вязкость добавок в работе рассматривали введение в ГК нитрата серебра и собственно синтез в альгинатной компози-

рис. 1. Образец сравнения – ГК на основе АН (7,0% масс. АН) с 0,9 % диоксида и 2,0% лидокаина.

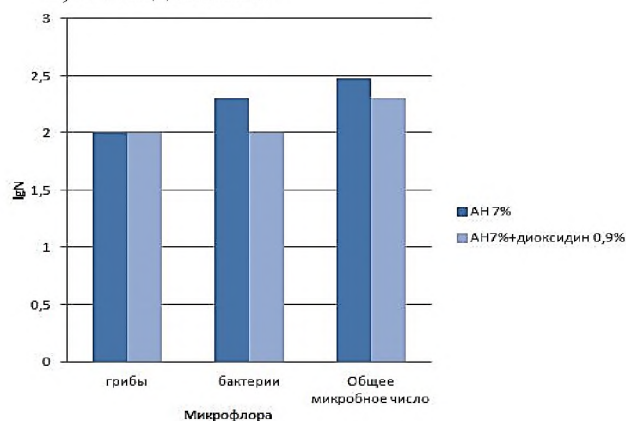


Рис. 3

ции НЧС, обладающих антимикробным эффектом, а также использование традиционных КД – сорбата калия, КД на основе сорбиновой и бензойной кислоты.

В работе использовался наиболее экологичный и экономичный способ получения НЧС – метод "зеленой химии". В качестве восстановителя использовалась основа изучаемой ГК – полисахарид АН. Косвенным доказательством наличия в композиции на основе АН НЧС являлось наличие максимума поглощения в области длин волн от 400-420 нм, характерное для НЧС [5], и изменение цвета ГК (в зависимости от концентрации НЧС от светло- до темно-коричневого). Также были получены изображения поверхности пленки, получаемой высушиванием капли композиции на основе АН с нитратом серебра, с помощью зондовой микроскопии (рис. 4 – рельеф поверхности пленки образца на основе альгината натрия при размере скана 2×2 мкм (а) и 1×1 мкм (б)).

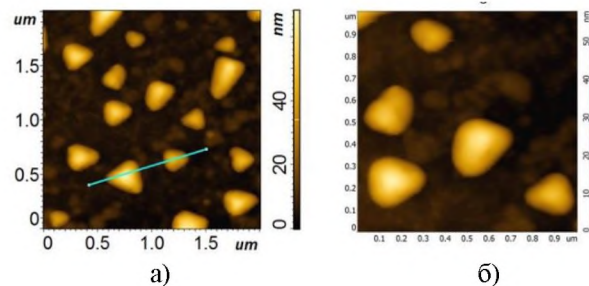


Рис. 4

Экспериментально доказано, что созданные ГК стабильны в течение 4 недель, за этот срок максимум поглощения композиций практически не меняется.

Далее необходимо было оценить влияние НЧС на обсемененность данной

композиции. Результаты оценки приведены в табл. 2 (обсемененность композиций на основе альгината натрия с наночастицами серебра).

Т а б л и ц а 2

№	Состав	Содержание микроорганизмов, КОЕ/г	
		общее микробное число	<i>Staphylococcus aureus</i>
1	Композиция на основе АН	$4,0 \cdot 10^1$	$1,0 \cdot 10^1$
2	Композиция на основе АН с НЧС	$<1,0 \cdot 10^1$	$<1,0 \cdot 10^1$

Образование в альгинатной композиции НЧС позволяет избежать возрастания нежелательной микрофлоры во время отсрочки стадии радиационной стерилизации (табл. 2). Это позволяет использовать НЧС одновременно и в качестве эффективного антимикробного вещества в композиции, и в качестве КД. Традиционные КД оценивались как с позиции стерильности композиций, содержащих 7% АН, так и с точки зрения сохранения их вязкости после стерилизации. Установлено, что из всех выбранных КД только добавка 0,25% сорбата калия поддерживает стерильность ГК после стерилизации. Исследование реологических характеристик стерильных ГК с КД показало, что вязкость ГК с сорбатом калия после финишной стерилизации 6,6 Па·с, в то время как вязкость ГК без добавления консерванта 6,0 Па·с.

Таким образом, получение НЧС непосредственно в гидрогеле на основе АН позволяет достичь антимикробной активности и увеличить его срок хранения до стадии финишной стерилизации, оказывая консервирующий эффект. Введение в лечебную гидрогелевую композицию сорбата калия в концентрации 0,25 % масс. обеспечивает ее стерильность и стабилизирует вязкость после финишной радиационной стерилизации, проводимой в дозе 6 КГр.

#### Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Олтаржевская Н.Д., Бойко А.В., Корытова Л.И. Направленная доставка лекарственных препаратов при лечении онкологических больных. – М.: МК, 2013.

2. Ефименкова М.Г. Разработка технологии получения аппликационных текстильных материалов для лечения заболеваний кожи: Дис. ... канд. техн. наук. – М., 2010.

3. Штильман М.И. Полимеры медико-биологического назначения. – М.: ИКЦ "Академкнига", 2006. С.254.

4. Крутиков Ю.А., Кудринский А.А., Олейник А.Ю., Лисичкин Г.В. Синтез и свойства наночастиц серебра: достижения и перспективы // Успехи химии. – 2008. Т. 77. № 3. С. 242...269.

5. Егорова Е.М., Кубатиев А.А., Швец В.И. Биологические эффекты наночастиц металлов. – М.: Наука, 2014.

6. Беликов О.Е., Пучкова Т.В. Консерванты в косметике и средствах гигиены. – М.: "Кафедра", 2003.

#### R E F E R E N C E S

1. Oltarzhevskaja N.D., Bojko A.V., Korytova L.I. Napravlenaja dostavka lekarstvennyh preparatov pri lechenii onkologicheskikh bol'nyh. – М.: МК, 2013.

2. Efimenkova M.G. Razrabotka tehnologii poluchenija aplikacionnyh tekstil'nyh materialov dlja lechenija zabolevanij kozhi: Dis. ... kand. tehn. nauk. – М., 2010.

3. Shtil'man M.I. Polimery mediko-biologicheskogo naznachenija. – М.: ИКЦ "Академкнига", 2006. S.254.

4. Krutikov Ju.A., Kudrinskij A.A., Olejnik A.Ju., Lisichkin G.V. Sintez i svojstva nanochastich serebra: dostizhenija i perspektivy // Uspехи химии. – 2008. Т. 77. № 3. S. 242...269.

5. Egorova E.M., Kubatiev A.A., Shvec V.I. Biologicheskie jeffekty nanochastich metallov. – М.: Nauka, 2014.

6. Belikov O.E., Puchkova T.V. Konservanty v kosmetike i sredstvah gigeny. – М.: "Kafedra", 2003.

Рекомендована кафедрой химических, нано- и биотехнологий МГУТиУ имени К.Г. Разумовского. Поступила 31.08.16.