



УДК 615.468.7

МОДИФИЦИРОВАННЫЙ СЕРЕБРОМ МОНТМОРИЛЛОНИТ: ПОЛУЧЕНИЕ, АНТИМИКРОБНАЯ АКТИВНОСТЬ И МЕДИЦИНСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ В БИОАКТИВНЫХ РАНЕВЫХ ПОКРЫТИЯХ

**К.Н. КАСАНОВ¹, В.А. ПОПОВ¹
Р.А. ВСЕЕВ¹, В.А. АНДРЕЕВ¹
А.И. ВЕЗЕНЦЕВ², Н.Ф. ПОНОМАРЕВА²
Ю.А. ИГНАТЬЕВА³, М.В. УСПЕНСКАЯ³
А.К. ХРИПУНОВ⁴**

¹⁾ Военно-медицинская академия
им. С.М. Кирова,
г. Санкт-Петербург

²⁾ Белгородский государственный
национальный исследовательский
университет

³⁾ Национальный исследовательский
университет информационных
технологий, механики и оптики
г. Санкт-Петербург

⁴⁾ Институт высокомолекулярных
соединений, г. Санкт-Петербург

e-mail: kasanovkirill@gmail.com

Представлены результаты изучения химического состава, морфологических характеристик и антимикробной активности модифицированного серебром монтмориллонита, а так же разработки и доклинических испытаний матриц биоактивных раневых покрытий с пролонгированным антимикробным действием.

Ключевые слова: монтмориллонит, ионы серебра, наночастицы серебра, антимикробная активность, раневые покрытия, гидрогелевый нанокомпозит, дезинтегрированная целлюлоза *Glucanobacter xylinus*.

Серебро с давних времен применяется для антимикробного лечения ран различного происхождения [7, 12]. Обладая широким спектром антибактериального действия, серебро также воздействует на рост дрожжей, плесневых грибов [12, 13]. Свидетельства о выявлении резистентных к серебру микроорганизмов имеют спорадический характер, что особенно актуально на фоне возросшей устойчивости к другим традиционным антисептикам [6, 19]. Для придания антимикробных свойств возможна иммобилизация серебра на раневые покрытия в различных формах: в виде солей, коллоидных растворов, серебросодержащих белков и др. Однако указанные формы не обеспечивают достаточной продолжительности антимикробного действия активного ионизированного серебра. По данным многочисленных публикаций, наиболее перспективным для иммобилизации на раневые покрытия являются наноразмерные частицы серебра (AgNPs – ArgentumNanoParticles), обеспечивающие дозированный и пролонгированный антимикробный эффект. [5,17,20]. Разработка способов получения и введения в матрицу раневых покрытий наночастиц серебра позволит значительно улучшить их антимикробные свойства [11, 14, 16, 25].

В литературе последних лет широко представлены способы синтеза наночастиц металлов, в том числе AgNPs, в структуре природных (монтмориллонит, каолинит, смектит и др.) и синтетических (лапонит) слоистых силикатов [1-4,8-10, 15, 18,21-28]. Полученные, таким образом, наноразмерные частицы удерживаются в межслоевом пространстве и/или на внешних поверхностях силиката, что препятствует их агрегации и образованию малоактивных агломераций. Высокая сорбционная способность (набухание) слоистых силикатов, заметное влияние на исходные физико-химические свойства полимеров, а также антимикробное действие, обусловленное способностью к образованию AgNPs, определяют интерес к использованию их в качестве наполнителей матриц раневых покрытий. Так, иммобилизованный в структуру композитного покрытия модифицированный серебром монтмориллонит (Ag-ММТ) является источником дозированного выведения Ag⁺ в рану и, обеспечивая пролонгированные антимикробные свойства покрытия, препятствует цитотоксическому действию серебра.

Цель настоящего исследования. Изучение химического состава, морфологии и антимикробной активности модифицированного серебром монтмориллонита, а так же разработка

на его основе матриц биоактивных раневых покрытий с пролонгированным антимикробным действием.

Материалы и методы. Получение модифицированного серебром монтмориллонита (Ag-MMT) выполнено на базе кафедры общей химии БелГУ. В качестве исходного материала использовали обогащенную монтмориллонит содержащую глину со следующим минералогическим составом: Na-Ca-монтмориллонит, илеит, каолинит, кварц, мусковит, кальцит и полевые шпаты. Определение содержания монтмориллонита выполнено методом адсорбционного люминесцентного анализа, основанного на катионообменной адсорбции силикатом органических красителей люминофоров с образованием коагулята органосиликатного комплекса. Так, массовая доля монтмориллонита в обогащенном образце глины составляла 65-70 масс.%. Синтез Ag-MMT производили методом химической обработки нативной формы силиката (Na-Ca-MMT) модифицирующим агентом – раствором нитрата серебра (AgNO_3). Схематическое изображение процесса синтеза представлено на рисунке 1.

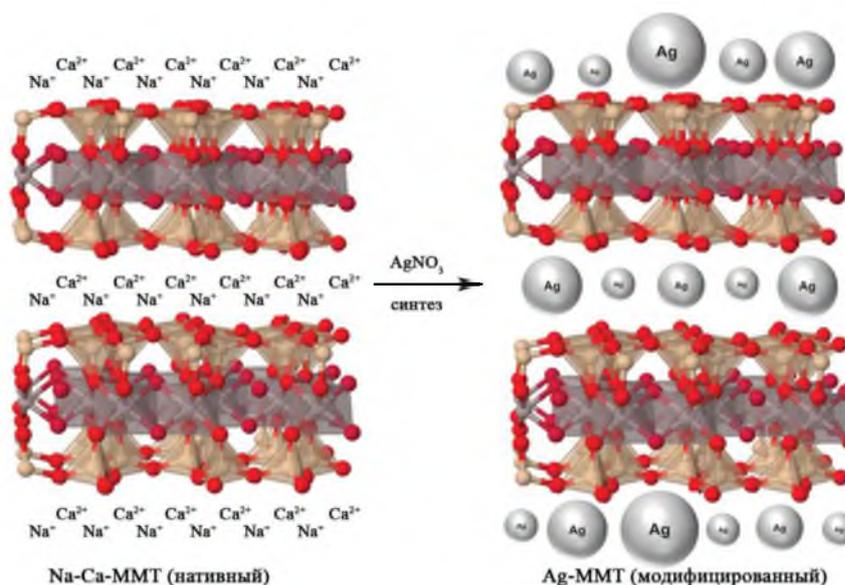


Рис. 1. Синтез модифицированного серебром монтмориллонита (Ag-MMT), содержащего в межслоевом пространстве и на поверхности наночастицы металлического серебра (AgNPs).

Химический состав Ag-MMT определяли рентгенофлуоресцентным методом на спектрометре ARL Optim'X (БелГУ). Ультратруктуру образцов изучали с помощью сканирующего электронного микроскопа SUPRA 55VP-32-49 с EDS- спектрометром (ИВС РАН).

Микробиологические и экспериментальные исследования на лабораторных животных выполнены на базе кафедры микробиологии и клиники экспериментальных животных Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова (ВМедА).

Определение минимальной бактерицидной концентрации (МБК) Ag-MMT проводили чашечно-суспензионным методом, изложенном в «Методах испытания дезинфекционных средств для оценки их безопасности и эффективности» (1999). Критерием эффективности антисептика при этом служит коэффициент снижения числа тест-микроорганизмов – $K_{ред}$ (коэффициент редукции), выраженный в десятичных логарифмах и характеризующий порядок уменьшения контаминации в результате воздействия антисептика при заданной экспозиции. Оптимальной считали эффективность антисептиков при $K_{ред} \geq 5$ и подавлении роста не менее 99,99% колониеобразующих единиц (КОЕ) соответствующих микроорганизмов. Исследование проводили на контрольных (референтных) штаммах микроорганизмов Enterobacteriaceae – E. coli ATCC 25922 и P. aeruginosa ATCC 27853, Staphylococcus spp. – S. aureus ATCC 29212 (ATCC – American Type Cultures Collection) и метициллин-резистентном стафилококке (MRSA).

Синтез Ag-MMT содержащих матриц раневых покрытий на основе гидрогелевого наноконкрета (ГНК) и дезинтегрированной бактериальной целлюлозы Glucopobacter xulinus (ДЦГХ) осуществлен в лабораторных условиях СпБИТМО и ИВС РАН соответственно.

Выход активного ионизированного серебра (Ag^+) из матриц раневых покрытий устанавливали методом ионометрии с помощью халькогенидных стеклянных ионоселективных электродов (рабочий диапазон обнаружения 1×10^{-7} – 1×10^{-1} моль/л) на приборе Эксперт-001 (СПБИТМО). Изначально определяли значение рAg раствора (по аналогии с рН), с последующим пере-



счетом концентрации Ag^+ в ммоль/мл. Для определения продолжительности выхода активных ионов погружали образцы композитных полимеров в чистую дистиллированную воду (из расчета 1г полимера на 100 мл воды) на протяжении 5 суток. Для моделирования «захвата» Ag^+ компонентами раневого экссудата и предотвращения установления равновесной концентрации серебра на границе двух сред производили ежедневную замену воды.

Бактериостатическое действие полученных матриц раневых покрытий, а также определение минимальной ингибирующей концентрации (МИК) Ag -ММТ в их составе определяли согласно методике изложенной в «Performance standards of antimicrobial disk susceptibility test. NCCLS» (2000). Использовали чистую суточную культуру, выросшую на плотной питательной среде. Отбирали несколько однотипных, четко изолированных колоний. Петлей переносили незначительное количество материала с верхушек колоний в пробирку со стерильным физиологическим раствором, доводя плотность инокулюма до 0,5 по стандарту МакФарланда, что соответствует $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл. Инокулюм наносили пипеткой на поверхность чашки Петри с питательной средой в объеме 2 мл, равномерно распределяя по поверхности покачиванием, после чего удаляли его излишки. Приоткрытые чашки подсушивали в течение 10 минут при комнатной температуре. На поверхность питательной среды с помощью стерильного пинцета наносили образцы матриц раневых покрытий диаметром 8 мм. После аппликации образцов чашки Петри помещали в термостат кверху дном и инкубировали при температуре $37^\circ C$ в течение 24 часов. По окончании инкубации на матовой поверхности производили измерение зон задержки роста с точностью до 1 мм. По результатам статистической обработки полученных данных производили оценку бактериостатического эффекта разработанных матриц. Исследование проводили на указанных выше референтных штаммах и, дополнительно, на госпитальных штаммах *P. aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* и MRSA, полученных в клинике Военно-полевой хирургии ВМедА им. С.М. Кирова.

Способность разработанных антимикробных матриц подавлять рост микрофлоры в инфицированной ране определяли, придерживаясь методики полуколичественного определения микробной обсемененности жидких клинических материалов, изложенной в «Методических рекомендациях по микробиологической диагностике раневых инфекций в лечебно-диагностических учреждениях армии и флота» (1999). Модель инфицированной раны воспроизводили на 20 самцах белых крыс линии Wistar массой 180-200 г. Для воспроизведения модели инфицированной раны животным под эфирным наркозом производили разрез кожи на спине до фасции длиной 4 см, затем отслаивали кожу для получения кожно-фасциального кармана. Раны обрабатывали 3% раствором перекиси водорода, осушали. Затем раны инфицировали путем внесения в полученный кожно-фасциальный карман суспензии бактериальной ассоциации контрольных (референтных) штаммов *E. coli* ATCC 25922 и *S. aureus* ATCC 29212. Суспензию изготавливали, используя чистую суточную культуру, выросшую на плотной питательной среде. Животные были разделены на 4 группы: 1 контрольная группа (ведение раны под марлевой повязкой) и 3 опытных группы по количеству исследуемых матриц. На 3 сутки был выполнен забор материала для микробиологического исследования. Объектом микробиологического исследования являлся раневой экссудат, выделяющийся из ран, забранный в пробирку под резиновой пробкой, с последующим посевом на питательную среду. После инкубации засеянной среды при $37^\circ C$ в течение 24 часов подсчитывали количество колоний в каждом секторе, и определяли, пользуясь специальной таблицей, ориентировочные показатели обсемененности исследуемого материала (критический уровень микроорганизмов в 1 мл исследуемого материала составляет 10^5 - 10^6). Критерием эффективности матриц в подавлении роста раневой микрофлоры являлось снижение показателя ориентировочной микробной обсемененности и макроскопическая картина ран.

Скорость заживления ран оценивали планиметрическим методом по Л.Н. Поповой. При контрольных измерениях на рану накладывали стерильную пленку целлофана и на нее наносили контуры раны. Рисунок переносили на миллиметровую бумагу и подсчитывали площадь. Уменьшение площади раневой поверхности в процентном отношении к начальным размерам раны определяли по формуле:

$$S = (S_x - S_y) \times \frac{100}{S_x}$$

где S_y – величина площади раны при данном измерении, S_x – начальная площадь раны. Скорость заживления определяли по формуле:

$$V = \frac{S_1 - S_2}{T}$$

где S_1 – уменьшение площади раневой поверхности в процентах при предшествующем измерении, S_2 – уменьшение площади раневой поверхности в процентах при данном измерении, T – число дней между измерениями.

Результаты. По результатам рентгенофлуоресцентной спектроскопии, представленным на рисунке 2, установлен химический состав нативного (Na-Ca-MMT) и модифицированного монтмориллонита (Ag-MMT). Установлено, что содержание серебра в модифицированной форме достигает 20,72% массы, а натрий практически отсутствует, что объясняется происходящим в процессе синтеза катионным обменом.

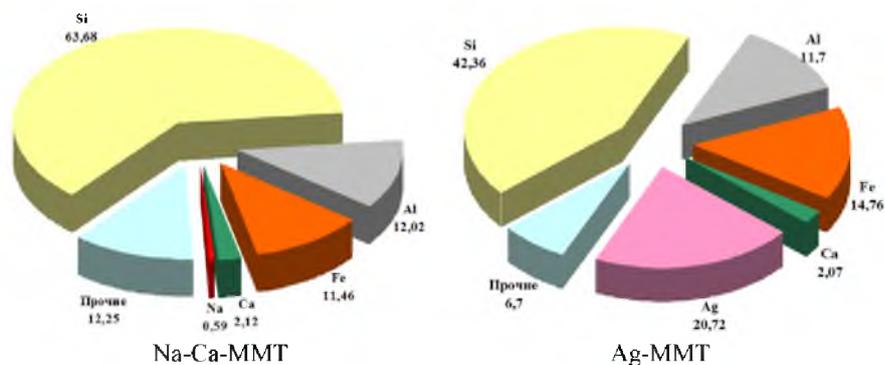


Рис. 2. Химический состав образцов нативного (Na-Ca-MMT) и модифицированного серебром монтмориллонита (Ag-MMT), %

По данным сканирующей электронной микроскопии установлены морфологические характеристики нативной и модифицированной формы монтмориллонита. На рисунке 3 (B, C, D), отчетливо визуализируется усыпанная «гранулами» наноразмерных частиц поверхность монтмориллонита модифицированного серебром.

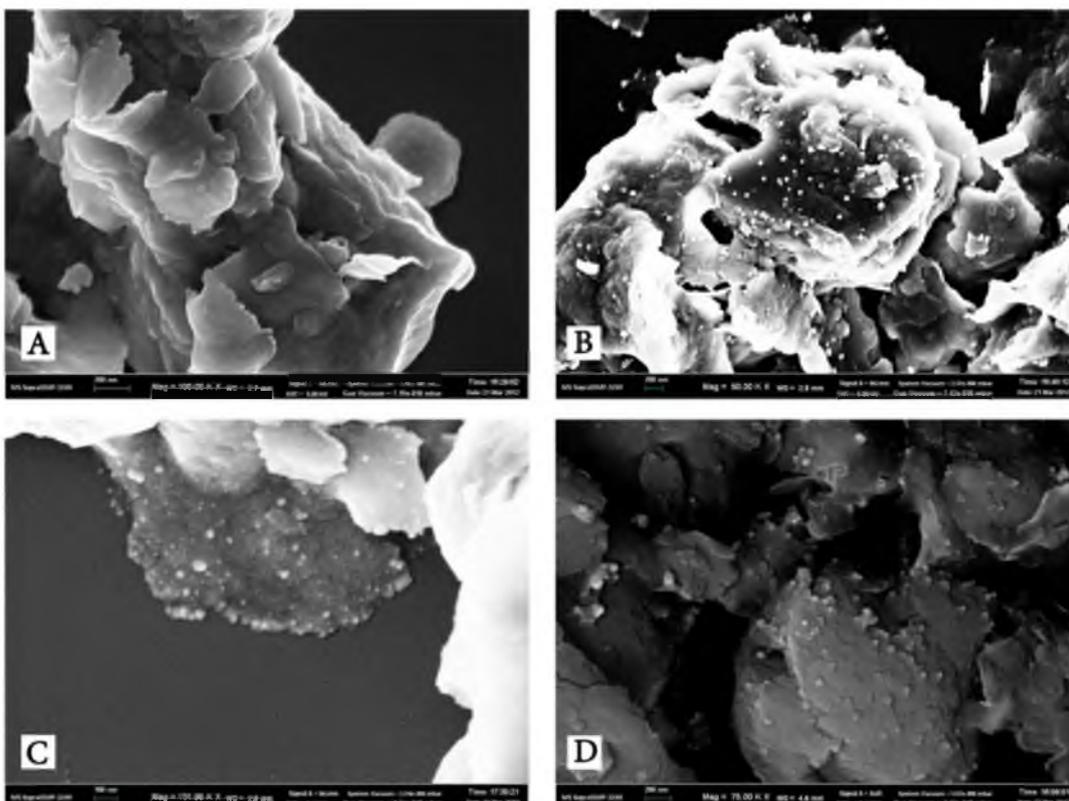


Рис. 3. Электронные микрофотографии нативной (A) и модифицированной серебром (B, C, D) форм монтмориллонита

При выполнении EDS-спектрометрии характерных участков поверхности модифицированного серебром монтмориллонита установлено, что наноразмерные «гранулы» образованы серебром.

ром (рис.4). При изучении размера визуализирующихся наночастиц серебра определено, что их диаметр колеблется в пределах от 20 до 70 нм.

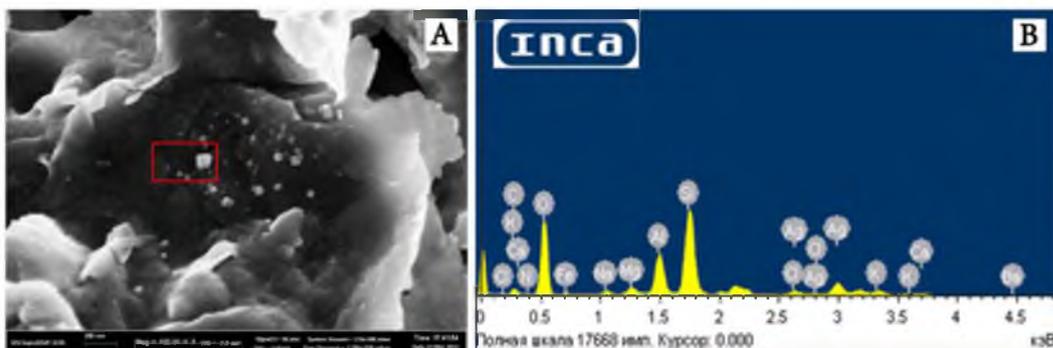


Рис. 4. Электронная микрофотография (А) и EDS-спектрограмма (В) характерного участка (отмечен прямоугольником) поверхности модифицированного серебром монтмориллонита

Результаты оценки антимикробной активности полученных материалов представлены на рисунке 5. Так, определены минимальные бактерицидные концентрации (МБК) водных взвесей частиц Ag-ММТ различной дисперсности. Критерием эффективности бактерицидного действия считали Кред ≥ 5 и подавление роста колониеобразующих единиц более 99,99%.

Установлено, что частицы модифицированного серебром монтмориллонита с высокой дисперсностью ($D < 0,25$ мкм) проявляют оптимальную бактерицидную активность при концентрациях от 0,025 г/мл. Для частиц дисперсностью $D 0,5-0,25$ мкм бактерицидный эффект обнаруживался при концентрациях более 0,05 г/мл. Выявленную закономерность можно объяснить более эффективным выщелачиванием активного ионизированного серебра из частиц монтмориллонита более высокой дисперсности.

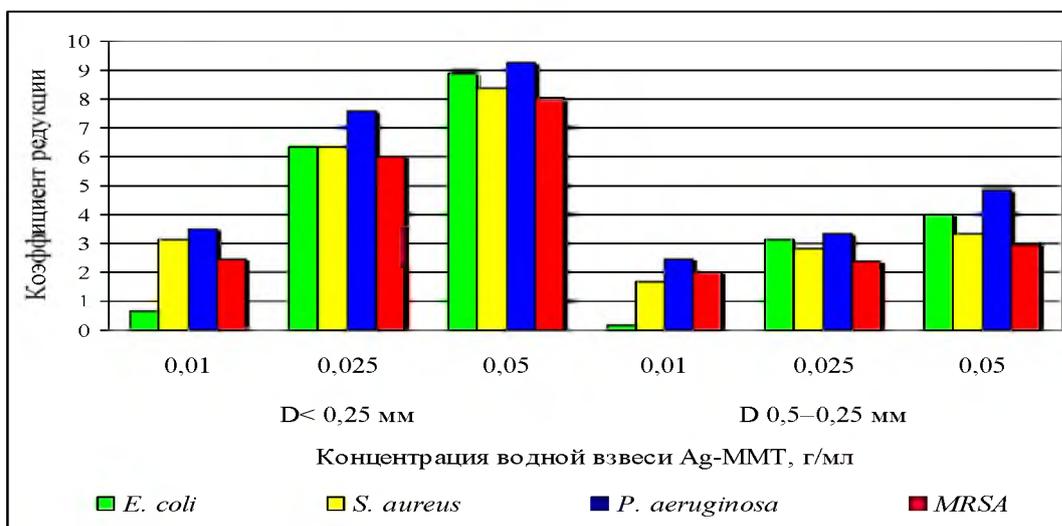


Рис. 5. Бактерицидное действие водных взвесей Ag-ММТ с различной концентрацией и дисперсностью частиц

Сравнительная оценка биоцидной активности ряда традиционных антисептиков и водных взвесей высокодисперсного ($D < 0,25$ мкм) модифицированного монтмориллонита различной концентрации выявила значимую эффективность последнего. По результатам, представленным в таблице установлено, что модифицированный монтмориллонит обладал наиболее высокой антимикробной активностью по отношению к исследованным штаммам в концентрации 0,05 г/мл. Значения коэффициента редукции ($K_{ред}$) по отношению к штаммам *E. coli*, *P. aeruginosa* практически равнялись $\lg N_0$.



Таблица

Сравнительная оценка биоцидной активности водных взвесей Ag-ММТ (D < 0,25 мкм) и ряда традиционных антисептиков

| Препарат | Коэффициент редукции (K _{ред}) в отношении соответствующего тест-штамма | | | |
|--------------------|---|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | E. coli ATCC 25922 | S. aureus ATCC 29212 | P. aeruginosa ATCC 27853 | MRSA 474 ВПХ |
| | Контроль lgN ₀ =8,87 | Контроль lgN ₀ =9,38 | Контроль lgN ₀ =9,24 | Контроль lgN ₀ =9,17 |
| Диоксидин 1 масс.% | 5,83 | 9,18 | 9,24 | 2,91 |
| Катапол 0,5 масс.% | 5,77 | 6,62 | 6,61 | 3,50 |
| Повиаргол 5 масс.% | 4,98 | 4,88 | 4,89 | 4,50 |
| Ag-ММТ 0,025 г/мл | 6,32 | 7,34 | 7,58 | 6,98 |
| Ag-ММТ 0,05 г/мл | 8,87 | 9,38 | 9,24 | 9,17 |

Аналогичные результаты бактерицидной активности получены для 1% раствора диоксида, однако выявлено снижение эффективности в отношении E. coli и значимо низкое подавление роста метициллин-резистентного штамма золотистого стафилококка (MRSA). Наименее эффективным оказался 5% раствор повииаргола, что, по-видимому, связано с отсутствием оптимального выхода активных ионов серебра в раствор вследствие образования оксидных пленок на поверхности, составляющей основу препарата диспергированного металлического серебра.

Таким образом, полученная форма модифицированного серебром монтмориллонита является источником AgNPs и обладает антимикробной активностью. Для иммобилизации на раневые покрытия в качестве антимикробного компонента наиболее эффективным является использование Ag-ММТ с дисперсностью частиц не более 0,25 мкм и концентрации не менее 0,025 г/мл с пересчетом на массу матрицы-носителя и учетом ее сорбционной способности (набуханию) в водной среде.

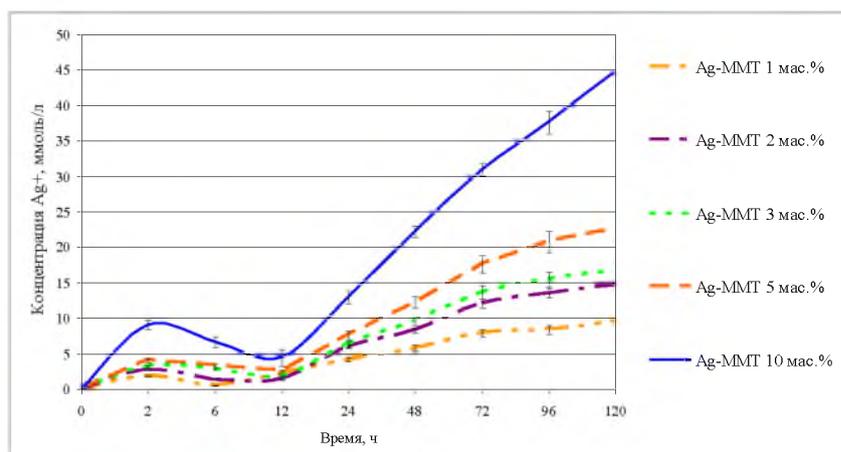


Рис. 6. Кинетика диффузии Ag⁺ при погружении матриц раневых покрытий на основе гидрогелевого нанокompозита в дистиллированную воду

При анализе кинетики выхода Ag⁺ установлено, что при погружении монтмориллонит содержащих матриц раневых покрытий в раствор дистиллированной воды происходит экстрагирование активных ионов серебра в минимальных количествах (от 7 до 54 ммоль/л). Концентрация экстрагированного ионизированного серебра напрямую зависит от исходного содержания монтмориллонита в матрице, а также от ее сорбционной способности. Так, для гидрогелевого нанокompозита через 6 часов от начала эксперимента наблюдали снижение исходной кон-



центрации Ag^+ , что, по-видимому, связано с обратным поглощением ионов в процессе набухания матрицы. Возобновление поступления серебряных ионов в раствор и, соответственно, нарастание их концентрации зафиксировано только при установлении равновесной степени набухания полимера (рис. 6).

Важно отметить, что построение экспериментальной модели, учитывающей все пути «сорбции» активных ионов серебра акцепторами различных биологических субстратов, обуславливающих активный характер диффузии, не представляется возможным. Следовательно, оценка кинетики диффузии Ag^+ в дистиллированную воду позволяет лишь качественно оценить один из возможных механизмов антимикробного действия разработанных матриц. Минимальная диффузия активных ионов серебра с одной стороны способствует пролонгации антимикробного действия раневого покрытия, с другой исключает возможность цитотоксического воздействия на ткани макроорганизма.

Для определения способности покрытий на основе гидрогелевого нанокompозита (ГНК) и дезинтегрированной бактериальной целлюлозы *Glucanobacter xylinus* (ДЦГХ) подавлять рост бактериальной флоры на границе контакта с раневой поверхностью установлены показатели их бактериостатического действия, а также минимальная ингибирующая концентрация (МИК) Ag-ММТ в составе матриц.

Значения МИК Ag-ММТ в составе матриц на основе ГНК и ДЦГХ, воздействующей на референтные штаммы микроорганизмов установили на уровне 1 масс.5 и 0,1 масс.% соответственно. Подавление роста госпитальных штаммов отмечено при минимальном содержании Ag-ММТ в ГНК 2 масс.%, в ДЦГХ 0,2 масс.%. Полученные данные учтены при определении концентраций модифицированного монтмориллонита в структуре биоактивных раневых покрытий.

Наиболее эффективное бактериостатическое действие Ag-ММТ содержащих образцов установлено по отношению к культурам *E.coli* и *P. aeruginosa*, причем отмечено равнозначное действие на референтные и госпитальные штаммы указанных микроорганизмов. На рис. 7 представлены результаты определения бактериостатического действия разработанных образцов и коммерческих раневых покрытий в отношении госпитального штамма синегнойной палочки. Так, видно, что ни одно из коммерческих покрытий не образует зоны задержки роста бактерий (рис. 8-А), т.е. их применение для профилактики и борьбы с раневой инфекцией не имеет практического значения. Важно отметить, что разработанные монтмориллонит содержащие матрицы значимо подавляли рост метициллин-резистентного стафилококка (MRSA). Данное наблюдение особенно актуально в условиях возросшей резистентности микроорганизмов, в т.ч. основных возбудителей раневой инфекции, по отношению к традиционным антисептикам.

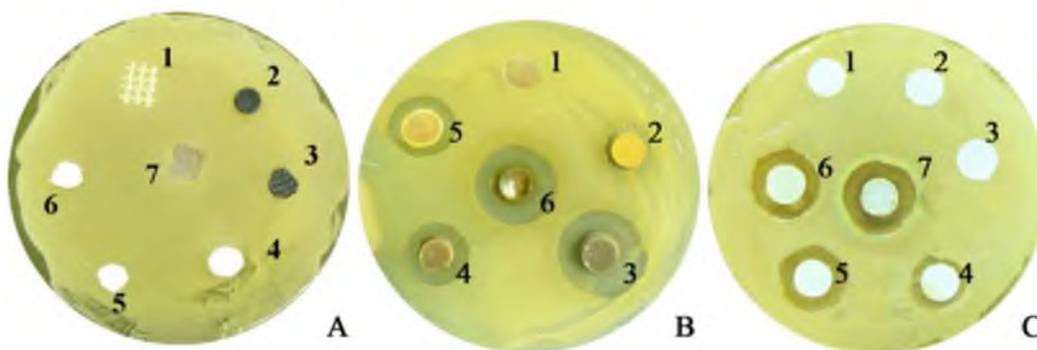


Рис. 7. Бактериостатическое действие раневых покрытий в отношении госпитального штамма *P. aeruginosa*:

- А – коммерческих (1 – «Бранолинд Н», 2 – «АМН», 3 – «АУТ-М», 4 – «Меропе®», 5 – «Апполо», 6 – «Cosmopor®», 7 – «Atrauman® Ag»),
 В – на основе гидрогелевого нанокompозита (кон-ция Ag-ММТ в полимере, масс.%,: 1 – 0%, 2 – 1%, 3 – 10%, 4 – 3%, 5 – 2%, 6 – 5%),
 С – на основе дезинтегрированной целлюлозы *Glucanobacter xylinus* (кон-ция Ag-ММТ в полимере, масс.% 1 – 0%, 2 – 0,05%, 3 – 0,1%, 4 – 0,2%, 5 – 0,3%, 6 – 0,5%, 7 – 1%).

Таким образом, антимикробный эффект разработанных матриц реализуется преимущественно на границе их контакта с раневой поверхностью (2), благодаря бактериостатическому действию, а также непосредственного в их структуре, за счет подавления микрофлоры адсорбированного раневого экссудата (3), а также вследствие незначительной диффузии активных



ионов Ag^+ непосредственно в раневом ложе (1). Схематическое изображение зон антимикробного действия разработанных матриц раневых покрытий представлено на рисунке 8.

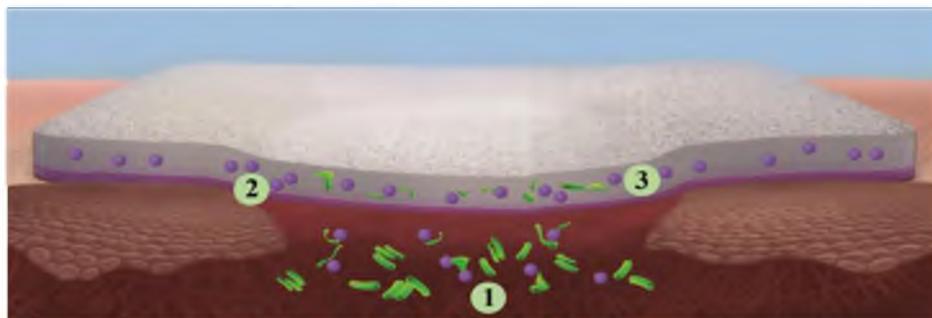


Рис.8. Зоны антимикробного действия матрицы раневого покрытия (описание в тексте)

По результатам оценки способности разработанных матриц подавлять рост раневой микрофлоры установлено значимое снижение уровня бактериальной обсемененности инфицированных ран, а также возможность сравнительно длительного его поддержания ниже критического уровня (10^3 КОЕ) за счет пролонгированного антимикробного действия. Эффективное подавление раневой инфекции, являющейся ведущим патогенетическим звеном осложненного течения раневого процесса, объясняет значимое сокращение сроков заживления ран. На рис.9 представлена макроскопическая картина гранулирующих ожоговых ран на 20 сутки после некрэктомии с использованием различных способов ведения. Можно отметить выраженность процессов репарации, отсутствие перифокального воспаления, гнойного отделяемого при ведении ран с использованием разработанных антимикробных матриц.

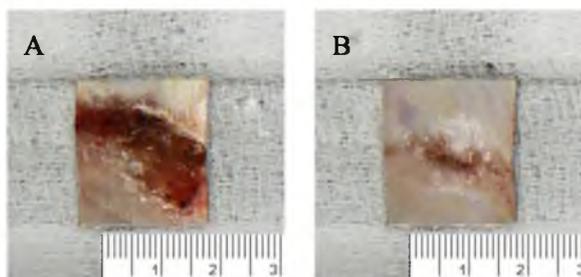


Рис.9.Общий вид гранулирующих ожоговых ран на 20 сутки после некрэктомии: А – ведение раны под асептической повязкой, В – применение антимикробного покрытия на основе гидрогелевого нанокompозита с AgNPs.

Выводы. Модифицированный монтмориллонит, за счет образования в межслоевом пространстве наночастиц серебра, обладает биоцидной активностью в отношении референтных и госпитальных штаммов микроорганизмов, основных возбудителей раневой инфекции, при минимальной концентрации 0,025 г/мл водной взвеси. Введение модифицированного монтмориллонита в качестве антимикробного наполнителя матриц раневых покрытий на основе гидрогелевого нанокompозита (2 мас.%) и дезинтегрированной целлюлозы *Gluconobacter xylinus* (0,2 мас.%) позволяет получать значимый бактериостатический эффект *in vitro*, и поддерживать уровень бактериального обсеменения раны ниже 10^3 (КОЕ) на протяжении 5-7 суток *in vivo*.

Биоактивные раневые покрытия на основе гидрогелевого нанокompозита (ГНК) и дезинтегрированной целлюлозы *Gluconobacter xylinum* (ДЦGX) с иммобилизованным на них модифицированного серебром монтмориллонитом (Ag-MMT) являются эффективным средством местного лечения инфицированных кожно-плоскостных ран. Их применение предупреждает осложнённое течение раневого процесса и сокращает сроки заживления ран на 10-15%.



Литература

1. Ahmad MB, Shameli K, Yunus WMZW, et al. Synthesis and antibacterial activity of silver/montmorillonite nanocomposites. *Res J Biol Sci.* 2009;4(9):1032–1036.
2. Ahmad, M.B., K. Shameli, M. Darroudi, W.M.Z.W. Yunus and N.A. Ibrahim, 2009. Synthesis and Characterization of Silver/Clay Nanocomposites by Chemical Reduction Method. *Am. J. Applied Sci.*, 6: 1909-1914.
3. Aihara N, Torigoe K, Esumi K. Preparation and characterization of gold and silver nanoparticles in layered laponite suspensions. *Langmuir.* 1998;14:4945–4949.
4. Ayyappan S, Subbanna GN, Goplan RS, Rao CNR (1996) Nanoparticles of Nickel and Silver Produced by the Polyol Reduction of the Metal Salts Intercalated in Montmorillonite. *Solid state ion.* 84: 271–281.
5. Baker C, Pradhan A, Pakstis L, et al. Synthesis and antibacterial properties of silver nanoparticles. *Nanosci Nanotechnol.* 2005;5:244–249.
6. Belly RT, Kydd GC: Silver resistance in microorganisms. *Dev Ind Microbiol* 1982, 23:567-577.
7. Clement JL, Jarrett PS: Antibacterial silver. *Met Based Drugs* 1994, 1(5-6):467-482.
8. Darroudi M, Ahmad MB, Shameli K, et al. Synthesis and characterization of UV-irradiated silver/montmorillonite nanocomposites. *Solid State Sci.* 2009;11:1621–1624.
9. Gao Y, Yunzhao Y. Deposition of silver nanoparticles on montmorillonite platelets by chemical plating. *J Mater Sci.* 2002;37:5083–5087.
10. Gurin VS, Petranovskii VP, Hernandez MA, et al. Silver and copper clusters and small particles stabilized within nanoporous silicate-based materials. *Mater Sci Eng A.* 2005;391(1–2):71–76.
11. Jung R, Kim Y, Kim HS, Jin HJ: Antimicrobial properties of hydrated cellulose membranes with silver nanoparticles. *J Biomater Sci Polym Ed* 2009, 20(3):311-324.
12. Klasen HJ: A historical review of the use of silver in the treatment of burns. II. Renewed interest for silver. *Burns* 2000, 26(2):131-138.
13. Lansdown AB: Silver. I: Its antibacterial properties and mechanism of action. *J Wound Care* 2002, 11(4):125-130.
14. Madhumathi K, Sudheesh Kumar PT, Abhilash S, Sreeja V, Tamura H, Manzoor K, Nair SV, Jayakumar R: Development of novel chitin/nanosilver composite scaffolds for wound dressing applications. *J Mater Sci Mater Med* 2009, in press.
15. Magana SM, Quintana P, Aguilar DH, Toledo JA, Angeles-Chavez C, et al. (2008) Antibacterial activity of montmorillonites modified with silver. *J Mol Catal A-Chem* 281: 192–199.
16. Matsuura T, Abe Y, Sato Y, Okamoto K, Ueshige M, Akagawa Y. Prolonged antimicrobial effect of tissue conditioners containing silver-zeolite. *J Dent* 1997;25:373–7.
17. Morones JR, Elechiguerra JL, Camacho A, et al. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology.* 2005;16:2346–2353.
18. Patakfalvi RA, Oszka A, Dekany I. Synthesis and characterization of silver nanoparticles/kaolinite composites. *Colloids Surf A Physicochem Eng Asp.* 2003;220:45–54.
19. Percival, S L, Bowler, P G, Russell, D (2005). Bacterial resistance to silver in wound care. *Journal of Hospital Infection*, 60, 1-7
20. Rai M, Yadav A, Gade A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. *Biotechnol Adv.* 2009;27:76–83.
21. Shameli K, Ahmad MB, Yunus WMZW, et al. Synthesis of silver/montmorillonite nanocomposites using γ -irradiation. *Int J Nanomedicine.* 2010;5:1067–1077.
22. Shameli K, Ahmad MB, Yunus WMZW, et al. Green synthesis of silver/montmorillonite/chitosan bionanocomposites using the UV irradiation method and evaluation of antibacterial activity. *Int J Nanomedicine.* 2010;5:875–887
23. Shameli K, Ahmad MB, Yunus WM, Rustaiyan A, Ibrahim NA, Zargar M, Abdollahi Y. Fabrication of silver nanoparticles doped in the zeolite framework and antibacterial activity. *Int J Nanomedicine.* 2011;6:331-41.
24. Shameli K, Ahmad MB, Yunus WMZW, et al. Synthesis and characterization of silver/talc nanocomposites using the wet chemical reduction method. *Int J Nanomedicine.* 2010;5:743–751.
25. Son WK, Youk JH, Park WH: Antimicrobial cellulose acetate nanofibers containing silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymers* 2006, 65:430-434
26. Talebi J, Halladj R, Askari S. Sonochemical synthesis of silver nanoparticles in Y-zeolite substrate. *J Mater Sci.* 2010;45:3318–3324.
27. Valášková M, Simha Martynková G, Lešková J, Čapková P, Klemm V, Rafaja D. Silver nanoparticles/montmorillonite composites prepared using nitrating reagent at water and glycerol. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 8 (2007) 1-9.
28. Wang H, Qiao X, Chen J, et al. Preparation of silver nanoparticles by chemical reduction method. *Colloid Surface A.* 2005;256(2–3):111–115.



SILVER-MODIFIED MONTMORILLONITE: PREPARATION, ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND MEDICAL APPLICATION IN BIOACTIVE WOUND DRESSINGS

**K.N. KASANOV¹, V.A. POPOV¹,
R.A. EVSEEV¹, V.A. ANDREEV¹,
A.I. VESENTSEV², N.F. PONOMAREVA²,
U.A. IGNAT'eva³, M.V. USPENSKAYA³,
A.K. KHRIPUNOV⁴**

¹⁾ Russian Military Medical Academy, St. Petersburg

²⁾ Belgorod National Research University

³⁾ National Research University, St. Petersburg

⁴⁾ Institute of macromolecular Compounds, St. Petersburg

e-mail: kasanovkirill@gmail.com

The research results of the chemical composition, ultrastructure and antimicrobial activity of silver-modified montmorillonite, as well as the synthesis and preclinical testing composite matrices of bioactive wound dressings with prolonged antimicrobial action

Keywords: montmorillonite, silver ions, ArgentumNanoParticles, antimicrobial activity, wound dressings, hydrogel nanocomposite, disintegrated cellulose *Gluconobacter xylinus*