

## Перспективность новых углеродных сорбентов, обладающих антимикробными свойствами, для интенсивной терапии

В. Т. Долгих<sup>1</sup>, В. А. Лихолобов<sup>2</sup>, В. В. Мороз<sup>1</sup>, Л. Г. Пьянова<sup>2</sup>,  
Т. И. Долгих<sup>3</sup>, А. В. Ершов<sup>1,3</sup>, М. С. Дроздецкая<sup>2</sup>

<sup>1</sup> НИИ общей реаниматологии им. В. А. Неговского ФНКЦ РР,  
Россия, 107031, г. Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2

<sup>2</sup> Институт проблем переработки углеводородов СО РАН,  
Россия, 644040, г. Омск. Нефтезаводская ул., д. 54

<sup>3</sup> Омский государственный медицинский университет Минздрава России,  
Россия, 644099, г. Омск, ул. Ленина, д. 12

## Prospects of the Use of New Carbon Sorbents with Antimicrobial Properties in the Intensive Care Medicine

Vladimir T. Dolgikh<sup>1</sup>, Vladimir A. Likholobov<sup>2</sup>, Viktor V. Moroz<sup>1</sup>, Ludmila G. P'yanova<sup>2</sup>,  
Tatiana I. Dolgikh<sup>3</sup>, Anton V. Ershov<sup>1,3</sup>, Marina S. Drozdetskaya<sup>2</sup>

<sup>1</sup> V. A. Negovsky Research Institute of General Reanimatology,  
Federal Research and Clinical Center of Intensive Care Medicine and Rehabilitation,  
25 Petrovka Str., Bldg. 2, 107031 Moscow, Russia

<sup>2</sup> Hydrocarbons Processing Institute, Siberian Branch RAS,  
54 Neftezhavodskaya Str., 644040 Omsk, Russia

<sup>3</sup> Omsk State Medical University, Ministry of Health of Russia,  
12 Lenin Str., 644099 Omsk, Russia

**Цель исследования** — определить антибактериальные и антимикотические свойства полученных гранулированных углеродных сорбентов.

**Материал и методы.** В качестве исходного материала использовали углеродный сорбент ВНИИТУ-1, который модифицировали поливинилпирролидоном, олигомерами молочной и гликолевой кислот. Проведены стендовые микробиологические исследования по определению антибактериальной и антимикотической активности этих гранулированных углеродных гемосорбентов. Антибактериальные свойства сорбентов исследовали по отношению к патогенным и условно патогенным микроорганизмам: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, а также к их смесям: смесь № 1 — *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*; смесь № 2 — *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*.

**Результаты.** Показали, что модифицированные образцы ВНИИТУ-1, проявляли более выраженную по сравнению с исходным сорбентом антибактериальную и антимикотическую активность по отношению к большинству исследованных микроорганизмов.

**Заключение.** Выявленные антимикробные, детоксицирующие свойства модифицированных сорбентов являются дополнительным обоснованием для их использования в комплексной терапии акушерско-гинекологической и хирургической патологии. Разработанные углеродные сорбенты являются перспективными материалами для медицины, так как расширяют возможности сорбционной терапии в клинической практике.

**Ключевые слова:** модификация; углеродные сорбенты; антимикробная резистентность; антимикотическая резистентность

**The purpose is to study** antibacterial and antimycotic properties of produced granular carbon sorbents.

**Material and methods.** A VNIITU-1 carbon sorbent was used as a starting material, which was modified with polyvinylpyrrolidone and lactic and glycolic acids oligomers. Microbiological bench tests were carried out to determine the antibacterial and antimycotic activity of these granulated carbon hemosorbents. Antibacterial properties of sorbents were studied in relation to pathogenic and conditionally pathogenic microorganisms: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* as well as their mixtures: mixture No. 1 — *S. aureus* and *E. coli*; mixture No. 2 — *S. aureus* and *P. aeruginosa*.

**Results.** Presented data demonstrate that the modified VNIITU-1 exhibits significant antibacterial and antimycotic activity against most of the studied microorganisms compared to original sorbent.

Адрес для корреспонденции:

Владимир Терентьевич Долгих  
E-mail: prof\_dolgih@mail.ru

Correspondence to:

Vladimir T. Dolgih  
E-mail: prof\_dolgih@mail.ru

**Conclusion.** Modified sorbents as antimicrobial and detoxifying drugs may further be employed in treatment of obstetrical-gynecological and surgical diseases. The carbon sorbents are promising materials for medicine, as they expand the potential of sorption therapy in clinical practice.

**Keywords:** *modification; carbon sorbents; antimicrobial resistance; antimycotic resistance*

DOI:10.15360/1813-9779-2019-1-54-69

## Введение

В последнее десятилетие в России и за рубежом большое внимание уделяется изучению механизмов формирования критических состояний — тех состояний, при которых возникает необходимость коррекции функций или даже замены их в общей системе интенсивного лечения [1, 2]. При таких критических состояниях, как сепсис, перитонит, панкреонекроз, политравма, шок различной этиологии наблюдается обширный комплекс типовых патологических процессов: гипоксия, ишемия, гипоэргоз, эндотоксемия, ацидоз, оксидативный стресс, кальциевый и кислородный парадокс и др., которые, если их не корректировать, в конечном итоге нередко приводят к летальному исходу [3–5]. Среди этих типовых патологических процессов особого внимания заслуживает эндотоксемия и формирование резистентности возбудителей инфекционных осложнений к антибактериальным и антимикотическим соединениям [6–8].

В случае, когда традиционные методы купирования эндотоксемии и инфекции перестают быть эффективными, прибегают к экстракорпоральной гемокоррекции и эфферентной терапии. Для детоксикации организма используют различные сорбционные методы: гемосорбцию, энтеросорбцию и аппликационную сорбцию, основанные на способности пористых материалов извлекать токсические вещества из биологических жидкостей организма. В связи с этим научные поисковые исследования по разработке новых материалов и методов лечения заболеваний, вызванных патогенными микроорганизмами, представляются актуальными.

Очевидно, что перспективным методом лечения инфекционной патологии может стать сорбционная терапия с использованием материалов, которые безопасны для организма и не содержат антибиотиков или антимикотиков. Сорбенты инактивируют патогенные микроорганизмы и выводят из организма пациента продукты их жизнедеятельности, а также продукты нарушенного метаболизма и токсичные соединения, полученные из внешней среды [8]. В реанимационной практике метод гемосорбции используют с целью снижения концентрации аутоантител, аномальных белков, кровяных пигментов, нормализации реологических свойств крови и т. п. [9].

На стадии зарождения и развития гемосорбции использовали фильтры, получаемые из каменного угля и материалов органического происхождения: древесины, лигнина, фруктовых косточек,

## Introduction

In Russia and worldwide, much attention has been paid to the study of mechanisms of development of critical illness over the last decade, i. e. those conditions, which require correction of functions or even their replacement in the general intensive care system [1, 2]. Such critical illnesses as sepsis, peritonitis, pancreonectrosis, multiple trauma, shock of various etiologies, are characterized by complex pathological processes that include hypoxia, ischemia, hypothyroidism, endotoxemia, acidosis, oxidative stress, calcium and oxygen disturbances, etc., which if not corrected commonly lead to a lethal outcome [3–5]. Endotoxemia and the formation of resistance of infectious pathogens, complicated the critical illness, to antibacterial and antimycotic compounds deserve special attention [6–8].

When traditional methods of management of endotoxemia and infection are ineffective, extracorporeal hemocorrection and efferent therapy is employed. Various sorption methods are used for detoxification including hemosorption, enterosorption and application sorption based on the ability of porous materials to extract toxic substances from biological fluids of the body. In this regard, studies on the development of new materials and methods of treatment of diseases caused by pathogenic microorganisms seem urgently needed.

It is obvious that sorption therapy using materials that are safe for the body and do not contain antibiotics or antimycotics can be a promising method of treatment of infectious diseases. Sorbents inactivate pathogenic microorganisms and remove their waste products, as well as products of impaired metabolism and toxic compounds penetrated from the external environment from the patient's body [8]. In the Intensive Care Unit (ICU), the hemosorption technique is used to reduce the concentration of autoantibodies, abnormal proteins, blood pigments, and to normalize the rheological properties of blood, etc. [9].

At the early stages of hemosorption development, sorbents were obtained from coal and organic materials: wood, lignin, fruit seeds, nut shells, peat, sapropel. However, they contain a large amount of dust, have the ability to «sinter» in columns, contain a large number of minerals and organic compounds, which are often toxic, especially compounds of wood-chemical resins. The modified sorbents are characterized by high mechanical strength, chemical resistance, homogeneous granulometric composition, and do not have excessively high sorption activity, which leads to the removal of not only toxins from the blood, but also vital substances [10–12].

скорлупы орехов, торфа, сапропеля. Однако они содержат большое количество пыли, обладают способностью «спекаться» в колонках, содержат в большом количестве минеральные вещества и органические соединения, зачастую являющиеся токсичными, особенно соединения лесохимических смол. Модифицированные сорбенты отличаются высокой механической прочностью, химической стойкостью, однородным гранулометрическим составом, не обладают чрезмерно высокой сорбционной активностью, приводящей к удалению из крови не только токсинов, но и жизненно необходимых веществ [10–12].

В результате теоретических, опытных и опытно-промышленных исследований Институт проблем переработки углеводородов СО РАН в творческом содружестве с Институтом физической химии РАН и Омским государственным медицинским университетом были разработаны физико-химические основы синтеза новых углеродных сорбентов, включая технологию пиролитического уплотнения гранул технического углерода в горизонтальном вращающемся реакторе с подвижным слоем [13]. По этой новой технологии был создан целый класс пористых гранулированных углерод-углеродных материалов различного назначения, разработана уникальная, не имеющая мировых аналогов опытно-промышленная технология получения новых углерод-углеродных материалов, в том числе медицинского назначения, основанная на синтезе с использованием двух различных структурных модификаций графитоподобных материалов: нанодисперсного углерода и низко-температурного пироуглерода. Оказалось, что новые пористые материалы пиролитической природы значительно превосходят традиционные активные угли по механической, термической и химической стойкости, содержат меньше минеральных примесей, обладают преимущественно мезопористой структурой, отличаются низким содержанием золы (порядка 0,15%) и серы (0,3%), что сразу решало задачу достижения почти полного отсутствия минеральных примесей [12, 13]. В частности, стендовые испытания полученного гранулированного углеродного гемосорбента ВНИИТУ-1 позволили установить, что он обладает высокой химической чистотой (содержание углерода не менее 99,5%), практически полным отсутствием пыли на поверхности и в порах, высокой прочностью гранул сферической формы, мезопористой структурой с преобладающим размером пор 50–60 нм, высокой адсорбционной активностью по отношению к веществам различной природы, в том числе и токсинам низкой и средней молекулярной массы, обладает высокой стойкостью к стерилизации, не токсичен [13]. Медицинское изделие «Гемосорбент углеродный в физиологическом растворе стерильный ВНИИТУ-1» получил широкое распространение в Российской Федерации и странах СНГ с

As a result of theoretical, experimental and experimental-industrial research by the Institute of Hydrocarbon Processing, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences in cooperation with the Institute of Physical Chemistry and Omsk State Medical University, physical and chemical bases for the synthesis of new carbon sorbents were developed. The new technology included pyrolytic compaction of carbon granules in a horizontal rotating reactor with a movable layer [13]. According to technology, a whole class of porous granular carbon-carbon materials for various purposes was created; a unique experimental industrial technology for producing new carbon-carbon materials for medical use based on the synthesis using two different structural modifications of graphite-like materials, nanodispersed carbon and low-temperature pyrocarbon, was developed. It turned out that the new porous materials of pyrolytic nature significantly exceeded the traditional active coals in mechanical, thermal and chemical resistance, contained less mineral impurities, possessed a predominantly mesoporous structure, exhibited low ash (about 0.15%) and sulfur (0.3%) contents. New features almost solved the problem goal of achieving complete absence of mineral impurities [12, 13]. In particular, bench tests of the obtained VNIITU-1 granulated carbon hemosorbent has revealed that it has a high chemical purity (carbon content not less than 99,5%), almost complete lack of dust on the surface and in the pores, high strength of spherical granules, mesoporous structure with a predominant pore size of 50–60 nm, high adsorption activity towards substances of different nature, including toxins of low and medium molecular weight. In addition, new sorbent was highly resistant to sterilization and was non-toxic [13]. The medical product «Sterile hemosorbent carbon in the saline VNIITU-1» was widely used in the Russian Federation and CIS countries with high quality assessment and was awarded by the Gold medal of the First International Exhibition of Innovations (Moscow, All-Russian Exhibition Center, February, 2001).

The VNIITU-1 carbon sorbent served as a raw material for creation of carbon sorbents for medical purposes [12]. Based on the sorbent, we have created modified sorbents with specific action for various purposes of sorption therapy: selective extraction of proinflammatory cytokines from blood plasma; reduction of the viral load (in hepatitis B); antibacterial and antifungicidal action by chemical modification of their carbon surface with fixation of nitrogen- and oxygen-containing modifiers [13].

In order to arm the sorbents with specific properties and provide targeted actions against toxic substances, gram-positive and gram-negative bacteria, we used various methods of modifying the surface of the VNIITU-1 mesoporous granular carbon hemosorbent (TU 9398-002-71069834-2004, registration certificate No. FSR 2008/03492 dated 25.09.2012): oxidation, fluoridation, functionalization by polymers of

высокой оценкой качества и был удостоен Золотой медали Первого международного салона инноваций (Москва, Всероссийский выставочный центр, февраль, 2001 г.).

Исходным материалом для создания углеродных сорбентов медицинского назначения служил углеродный сорбент ВНИИТУ-1 [12]. На его основе нами созданы модифицированные сорбенты специфического действия для различных целей сорбционной терапии: избирательного извлечения провоспалительных цитокинов из плазмы крови; снижения вирусной нагрузки (при гепатите В); антибактериального и антифунгицидного действия путем химического модифицирования их углеродной поверхности с закреплением азот- и кислородсодержащих модификаторов [13].

С целью придания сорбентам специфических свойств и целенаправленного действия по отношению к токсичным веществам, грамположительным и грамотрицательным бактериям мы использовали различные способы модифицирования поверхности мезопористого гранулированного углеродного гемосорбента ВНИИТУ-1 (ТУ 9398-002-71069834-2004, регистрационное удостоверение № ФСР 2008/03492 от 25.09.2012 г.): окисление, фторирование, функционализация полимерами аминокислот и гидроксикислот, иммобилизация аминокислот и т. д. [15].

Модификацию поверхности углеродного сорбента с целью увеличения сорбционной активности и селективности мы осуществляли различными веществами: аминокaproновой кислотой, человеческим сывороточным альбумином, поливинилпирролидоном, олигомерами молочной и гликолевой кислоты. Для модификации поверхности гранулированного углеродного сорбента ВНИИТУ-1 использовали аминокaproновую кислоту производства ООО «Полисинтез» (рис. 1, *a*) Исследование текстуры образцов сорбента проводили адсорбционным методом по низкотемпературной адсорбции-десорбции азота на объемной статической вакуумной установке Sorptomatic-1900 (Carlo Erba).

На снимках, полученных методом растровой электронной микроскопии, отчетливо видна морфология исходного углеродного материала (рис. 2, *a*): сорбент отличается достаточно сложной структурой — верхние слои углеродной поверхности имеют изломы, трещины, пронизаны каналами и впадинами. Дисперсионный анализ размера углеродных гранул показал, что их средний размер составляет ~0,60 мм. Характерно, что после модифицирования углеродной поверхности форма и размеры гранул сорбента не отличаются от исходного образца и имеют почти сферическую форму (рис. 2, *b*).

Для модифицирования человеческого сывороточного альбумина в концентрации 20 мг/мл, приготовленного на ацетатном буфере, использовали 25% водный раствор глутаральдегида. Инкубацию в растворе глутарового альдегида осуществ-

amino acids and hydroxy acids, immobilization of amino acids, etc. [15].

We modified the surface of the carbon sorbent to increase their sorption activity and selectivity using different substances including aminocaproic acid, human serum albumin, polyvinylpyrrolidone, lactic and glycolic acid oligomers. To modify the surface of the VNIITU-1 granulated carbon sorbent, aminocaproic acid manufactured by LLC «Polysynthesis» (fig. 1, *a*) was used. The texture of the sorbent samples was studied by adsorption method using low-temperature adsorption-desorption of nitrogen in the volumetric static vacuum unit Sorptomatic-1900 (Carlo Erba).

The images obtained by scanning electron microscopy clearly show the morphology of the raw carbon material (fig. 2, *a, b*): the sorbent has a rather complex structure; the upper layers of the carbon surface have fractures and cracks penetrated by channels and depressions. Dispersion analysis of the size of carbon granules showed that their average size was ~0.60 mm. It is noteworthy that after the modification of the carbon surface, the shape and size of the sorbent granules do not differ from the initial sample and have an almost spherical shape (fig. 2, *b*).

A 25% aqueous solution of glutaraldehyde was used to modify human serum albumin at a concentration of 20 mg/ml prepared on an acetate buffer. Incubation in the glutaraldehyde solution was carried out for 2 hours, then a fluorocarbon hemosorbent with amino groups was kept with polyalbumin for 16–24 hours and washed with the saline. The presence of immobilized protein (polyalbumin) on the surface of carbon sorbent was confirmed by spectrophotometric analysis, high-resolution transmission electron microscopy, and atomic force spectroscopy. The synthesis scheme is shown in fig. 1, *b*.

The relief and surface morphology of the carbon hemosorbent samples were studied by scanning electron microscopy using electron microscope JSM-6460 LV (JEOL, Japan). The method of studying the relief and morphology of the surface includes application of a gold film 10–15 nm thick onto the sample.

6–10 granules of the sorbent were studied. Their microphotographs with different magnification are presented in fig. 2, *c, d*. As it can be seen, the shape and size of the granules of fluorocarbon sorbents do not differ from the initial sample and have an almost spherical shape; the relief and surface morphology before and after fluoridation almost has not changed.

N-vinylpyrrolidone («Merck», Germany) and the initiator of radical polymerization of azobisisobutyronitrile («Merck», Germany) were also used to modify the surface of the carbon sorbent. Impregnation of carbon sorbent granules was carried out with 0.2–1.0% solution of the initiator in N-vinylpyrrolidone at pH 7.0–7.5, residual pressure of 15–20 mm Hg, and the ratio of hemosorbent : initiator solution in N-vinylpyrrolidone of 1 : 1.4–2.0 for 15–30 minutes



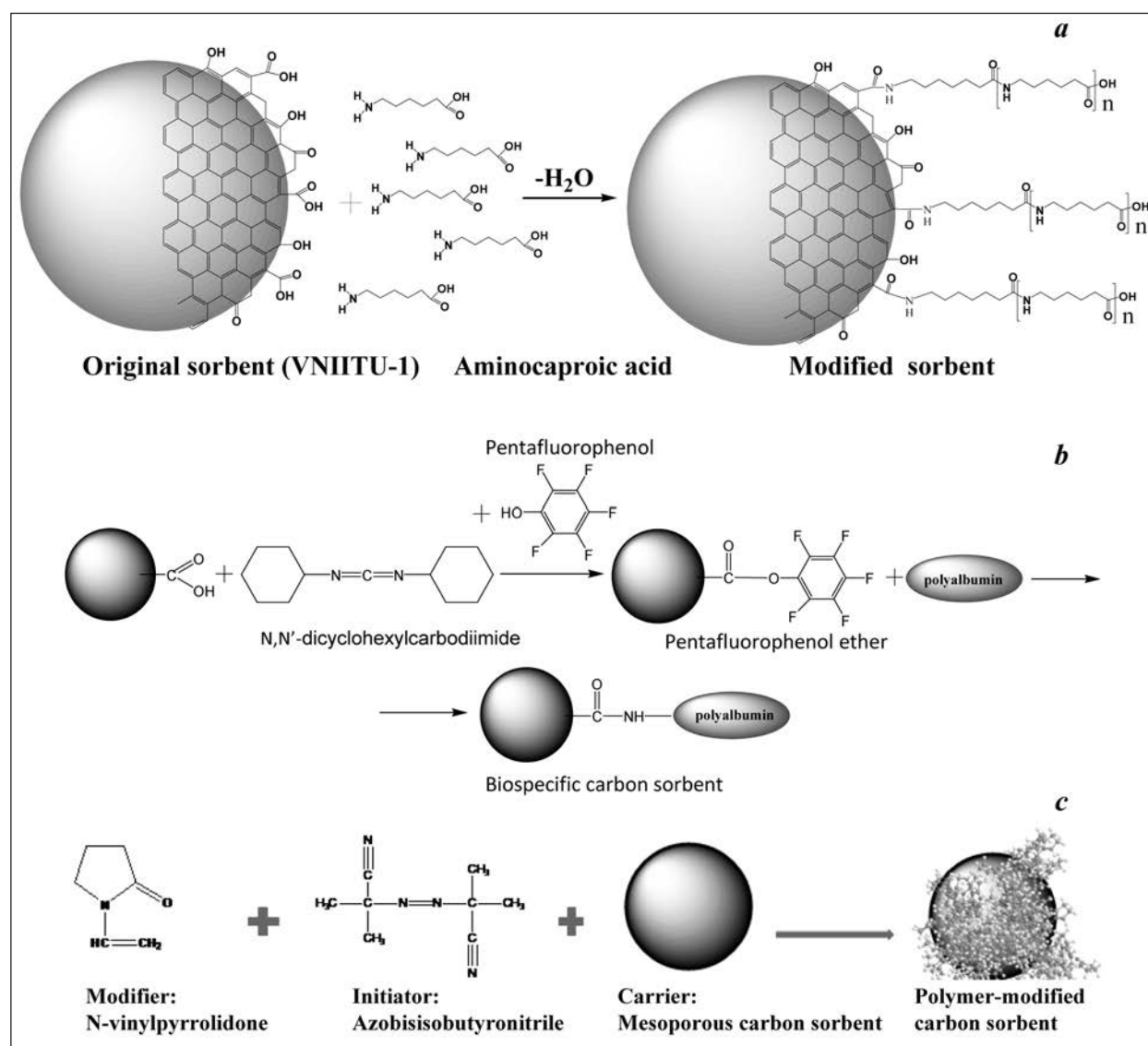


Рис. 1. Схемы модификации углеродного сорбента.

Fig. 1. Carbon sorbent modification schemes.

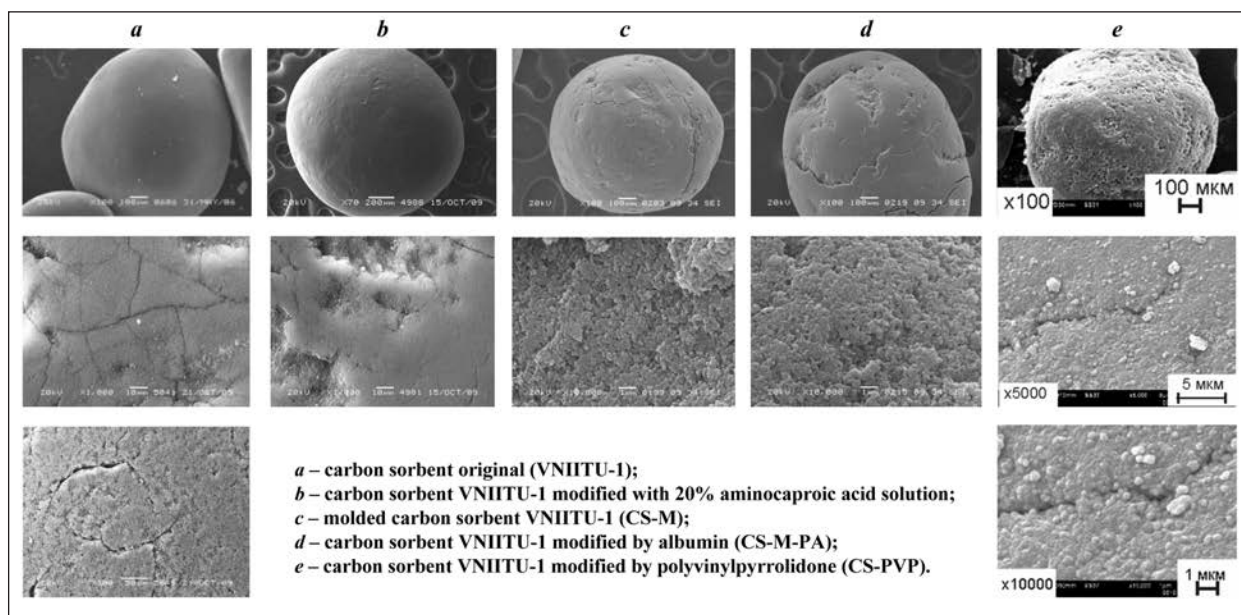
**Примечание.** *a* – Original (VNIITU-1)/Modified sorbent – исходный (ВНИИТУ-1)/модифицированный сорбент; aminocaproic acid – аминокaproиновая кислота. *b* – dicyclohexylcarbodiimide – дициклогексилкарбодимид; pentafluorophenol – пентафторфенол; pentafluorophenol ether – пентафторфеноловый эфир; polyalbumin – полиальбумин; biospecific carbon sorbent – биоспецифический углеродный сорбент. *c* – Modifier: N-vinylpyrrolidone – модификатор: N-винилпирролидон; initiator: azobisisobutyronitrile – инициатор: азобисизобутиронитрил; carrier: mesoporous carbon sorbent – носитель: мезопористый углеродный сорбент; polymer-modified carbon sorbent – полимермодифицированный углеродный сорбент.

ляли в течение 2 часов, затем фторуглеродный гемосорбент с аминогруппами выдерживали с полиальбумином в течение 16–24 часов и отмывали физиологическим раствором хлорида натрия. Наличие на поверхности углеродного сорбента иммобилизованного белка (полиальбумина) подтверждали физико-химическими методами: спектрофотометрическим анализом, просвечивающей электронной микроскопией высокого разрешения, атомно-силовой спектроскопией. Схему синтеза представили на рис. 1, *b*.

Рельеф и морфологию поверхности исследуемых образцов углеродного гемосорбента изучали методом растровой электронной микро-

(fig. 1, *b*). Then the temperature was raised to 65–75°C and kept for 0.5–8 hours in an inert atmosphere [15]. The relief and surface morphology of the carbon hemosorbent samples were studied by scanning electron microscopy using electron microscope JSM-6460 LV, JEOL (Japan).

The method of preparation of sorbents for the study included vacuum deposition of a gold film, 10–15 nm thick, onto a sample. Six-ten granules of the sorbent were studied. Fig. 2, *a, e* presents microphotographs of the raw material, a sample of granulated carbon sorbent (CS) and a modified polyvinylpyrrolidone sorbent (CS-PVP). Data on the type of the polymer film distribution on the surface of the particles of



**Рис. 2.** Электронно-микроскопические фотографии гранул и углеродной поверхности исходного (*a*) и модифицированных (*b–e*) сорбентов.

**Fig. 2.** Electron microscope images of granules and carbon surface of original (*a*) and modified (*b–e*) sorbents.

**Примечание.** Carbon sorbent (CS) — углеродный сорбент (УС); original (VNIITU-1) — исходный (ВНИИТУ-1); modified with 20% aminocaproic acid solution — модифицированный 20% раствором аминокaproновой кислоты; molded (CS-M) — формованный (УС-Ф); modified by albumin (CS-M-PA) — модифицированный альбумином (УС-Ф-ПА); modified by polyvinylpyrrolidone (CS-PVP) — модифицированный поливинилипирролидоном (УС-ПВП).

скопии с использованием электронного микроскопа JSM-6460 LV, JEOL (Япония). Методика исследования рельефа и морфологии поверхности заключается в нанесении на образец золотой пленки толщиной 10–15 нм.

Исследовали по 6–10 гранул образцов этого сорбента. Как видно на рис. 2, *c*, *d*, форма и размер гранул фторуглеродных сорбентов не отличаются от исходного образца и имеют почти сферическую форму, рельеф и морфология поверхности до и после фторирования практически не изменяются.

Для модифицирования поверхности углеродного сорбента использовали также N-винилпирролидон («Merck», Германия) и инициатор радикальной полимеризации динитрил азобисизомасляной кислоты (ДИНИЗ) («Merck», Германия). Пропитку гранул углеродного сорбента проводили 0,2–1,0% раствором инициатора в N-винилпирролидоне при pH 7,0–7,5, остаточном давлении 15–20 мм рт. ст. и соотношении гемосорбент : раствор инициатора в N-винилпирролидоне 1 : 1,4–2,0 в течение 15–30 минут (рис. 1, *b*). Затем температуру поднимали до 65–75°C и выдерживали в течение 0,5–8 часов в инертной атмосфере [15]. Морфологию и рельеф поверхности исследуемых образцов углеродного сорбента исследовали методом растровой электронной микроскопии с использованием электронного микроскопа JSM-6460LV, JEOL.

Методика подготовки к исследованию сорбентов заключалась в вакуумном напылении на образец золотой пленки толщиной 10–15 нм. Исследовали

modified carbon sorbent samples were obtained using scanning electron microscopy (microscope JSM-6460LV, JEOL) [15, 16]. «Depositions» in the form of finely dispersed polymer particles of various shapes were visible on the entire surface of the modified carbon granules. It demonstrates that the polymerization of vinylpyrrolidone (VP) mainly occurs within the surface defects, including cracks and channels, with the formation of a local polymer coating (fig. 2, *e*).

The use of infrared spectroscopy allowed to deepen the understanding of the vinylpyrrolidone (VP) polymerization process on the surface of the granular carbon sorbent when comparing the spectra of the VP monomer, a solution of commercial polyvinylpyrrolidone (PVP) and carbon granular sorbent before and after modification [15]. This study allowed to control the VP polymerization process on the carbon sorbent, whereas the study of polymer migration from the modified sample after contact with aqueous solutions allowed to assess the «prolongation» of the effect of the resulting drug.

As it is known, the concept of «prolonged-action drug» is used to develop drugs that provide a longer period of therapeutic action of the active (pharmaceutical) substance contained in them as compared to conventional drugs with the same substance. The prolonged-action drug should release the dose of the active (pharmaceutical) substance continuously for a certain period of time, thus maintaining a constant optimal level of this substance in the body and eliminating excessive increase and decrease in its concentration. In this case,

по 6-10 гранул образцов сорбента. На рисунке 2 а, е представили микрофотографии исходного материала — образца гранулированного углеродного сорбента (УС) и модифицированного поливинилпирролидоном сорбента (УС-ПВП). С помощью растровой электронной микроскопии (микроскоп JSM-6460LV, JEOL) были получены сведения о характере распределения полимерной пленки на поверхности частиц модифицированных образцов углеродного сорбента [15, 16]. В частности, на всей поверхности модифицированной углеродной гранулы видны «напыления» в виде мелко дисперсных полимерных частиц разнообразной формы. Видно, что полимеризация винилпирролидона (ВП), в основном, происходит в дефектах поверхности, в том числе щелях, каналах, с образованием локального полимерного покрытия (рис. 2, е).

Применение инфракрасной спектроскопии позволило углубить представления о процессе полимеризации винилпирролидона (ВП) на поверхности гранулированного углеродного сорбента при сопоставлении спектров мономера ВП, раствора коммерческого поливинилпирролидона (ПВП) и углеродного гранулированного сорбента до и после модифицирования [15], что позволяет контролировать процесс полимеризации ВП на углеродном сорбенте, а изучение миграции полимера с модифицированного образца при контакте с водными растворами — оценить «продолжительность» действия получаемого препарата.

Как известно, понятие «препарат пролонгированного действия» применяется для характеристики таких препаратов, которые обеспечивают более длительный период терапевтического действия заключенного в них активного (лекарственного) вещества по сравнению с обычными препаратами с тем же веществом. Препарат пролонгированного действия должен высвобождать дозу активного (лекарственного) вещества непрерывно в течение определенного периода, сохраняя, таким образом, постоянный оптимальный уровень этого вещества в организме и устраняя излишнее повышение и понижение его концентрации. В данном случае, нанесенный модификатор поли-N-винилпирролидон выступает в качестве биологически активного компонента, мигрирующего с углеродного сорбента в течение первого часа после контакта с ним.

Цель исследования — определить антибактериальные и антимикотические свойства полученных гранулированных углеродных сорбентов.

## Материал и методы

Антибактериальные свойства сорбентов исследовали по отношению к патогенным и условно патогенным микроорганизмам: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* а также к их смесям: смесь № 1 — *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*; смесь № 2 — *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa*. Культуры — это клини-

the applied poly-N-vinylpyrrolidone modifier acts as a biologically active ingredient migrating from the carbon sorbent within the first hour after contact with it.

The purpose is to study antibacterial and antimycotic properties of produced granular carbon sorbents.

## Materials and Methods

Antibacterial properties of sorbents were studied in relation to pathogenic and conditionally pathogenic microorganisms: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae* as well as their mixtures: mixture No. 1 — *S. aureus* and *E. coli*; mixture No. 2 — *S. aureus* and *P. aeruginosa*. Cultures are the clinical strains isolated from wounds of the patients who were in hospitals of Omsk. Identification of bacteria was carried out on test systems produced by PLIVA (Lachema Diagnostica, Czech Republic) using «MICROBE Automaton» software. Microorganisms were tested for sensitivity to modern antibiotics with disks with antibiotics (Becton Dickinson, USA).

Dilutions and the number of seeded material were selected empirically so that colonies that grew on the Petri dish could be counted. Inoculations of working dilutions of cultures under test served as reference samples. The concentration of microbial cells was determined using device for studying the turbidity of suspensions Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema, Italy). The studied mixtures of cultures under test were prepared by mixing equal volumes of prepared working concentrations of microbial cells with stirring on a vortex shaker. The bacteria were sorbed from the saline solution with a concentration of microbial cells of  $3 \times 10^3$  colony-forming units per 1 ml of the test sample (CFU/ml). 0.5 ml of the sorbent was introduced into an Eppendorf tube; 1 ml of microbial suspension was added; the mixture was shaken to remove air bubbles and kept in a thermostat for 1, 3, 6 and 24 hours. All work was carried out in laminar box BOV-001-AMS.

After the specified contact time of the sorbent with the pathogenic microflora, 100 µl of the supernatant liquid was taken; it was inoculated on sterile agar plates in Petri dishes with the GMF-agar nutrient medium (JSC NITSE, St. Petersburg), placed in CO<sub>2</sub> incubator 15AS (Japan) for 24±2 hours, and incubated at 37±1°C. When counting the colonies that grew on a Petri dish, only those dishes, where more than 300 isolated colonies had grown were taken into account. If more than 300 colonies grew, the following was written in the protocol: «>3×10<sup>2</sup> CFU/ml». If colonies on the dish could not be counted, the following was written in the protocol: «confluent growth». If the number of colonies was comparable and greater than the reference one, then the following was written in the protocol: «comparable to the reference sample» or «higher than that in the reference sample».

## Results and Discussion

The results of the study of antibacterial properties of carbon sorbents against Gram-positive test microorganisms are presented in table 1 and fig. 3. In the images, Petri dishes are arranged according to the ascending time of contact of the sorbent with pathogenic microflora after control inoculation (marked as «reference sample»).



ческие штаммы, выделенные из ран больных, находившихся в клиниках г. Омска. Идентификацию бактерий проводили на тест-системах производства PLIVA (Lachema Diagnostica, Чехия) в компьютерной программе «МИКРОБ Автомат». Предварительно тест-микроорганизмы были исследованы на чувствительность к современным антибиотикам (диски с антибиотиками компании Becton Dickinson and Company USA, производство Ireland, Benex, Limited).

Опытным путем подбирали такие разведения и количество засеваемого материала, чтобы выросшие на чашке Петри колонии можно было сосчитать. Контролем служили посевы рабочих разведений испытуемых культур. Концентрацию микробных клеток определяли на приборе для исследования мутности суспензий DensiLa-Meter (PLIVA-Lachema, Италия). Исследуемые смеси испытуемых культур готовили смешением равных объемов приготовленных рабочих концентраций микробных клеток с перемешиванием на вортекс-встряхивателе. Бактерии сорбировали из физиологического раствора с концентрацией микробных клеток  $3 \times 10^3$  колониеобразующих единиц в 1 мл исследуемой пробы (КОЕ/мл). В пробирку типа Эппендорф вносили сорбент в количестве 0,5 мл, добавляли 1 мл микробной взвеси, встряхивали для удаления пузырьков воздуха и выдерживали в термостате в течение 1, 3, 6 и 24 час. Все работы проводили в ламинарном боксе БОВ-001-АМС.

По истечении заданного времени контакта сорбента с патогенной микрофлорой отбирали надосадочную жидкость в объеме 100 мкл, засекали на стерильные агаровые пластины чашек Петри с питательной средой — ГМФ-агар (ЗАО НИЦФ, Санкт-Петербург) и помещали их в  $\text{CO}_2$ -инкубатор 15АС (Япония) на  $24 \pm 2$  час. и инкубировали при температуре  $37 \pm 1^\circ\text{C}$ . При подсчете колоний, выросших на чашке Петри, учитывали только те чашки, на которых выросло более 300 изолированных колоний. Если выросло более 300 колоний, то в протоколе отмечали « $>3 \times 10^2$  КОЕ/мл». Если подсчет колоний на чашках оказывался невозможным, то в протоколе отмечали «сливной рост». Если количество колоний было сопоставимо и больше по сравнению с контролем, то в протоколе отмечали «сопоставим с контролем» или «выше, чем в контроле».

## Результаты и обсуждение

Результаты исследования антибактериальных свойств углеродных сорбентов по отношению к грамположительным тест-микроорганизмам представлены в табл. 1 и на рис. 3.

It has been found that both samples of carbon granular sorbent CS (VNIITU-1) and CS-PVP (VNIITU-1 modified by polyvinylpyrrolidone) demonstrate the antibacterial activity against Gram-positive bacteria, but they differ depending on the time of contact. In particular, the CS sample exhibited an antibacterial effect against *S. aureus* within 3 hours after contact, and the CS-PVP sample demonstrated it within 6 hours. Growth of *S. aureus* test microorganisms is completely suppressed 24 hours after their contact with the CS-PVP sample. Carbon sorbents demonstrated sufficiently high antibacterial activity against *S. agalactiae*: the CS sample suppressed the growth of test microorganisms within 3 hours after the contact, and the CS-PVP sample did the same within 1 hour (fig. 3).

Thus, microbiological bench studies found that granular carbon sorbent VNIITU-1 exhibited antibacterial activity against Gram-positive microorganisms. The presence of poly-N-vinylpyrrolidone in the structure of the modifier increased the antibacterial properties. Poly-N-vinylpyrrolidone solutions reduced the toxicity of *E. coli* and *Proteus*, and also induced agglutination of microbial cells [17, 18]. The CS sample demonstrates antibacterial properties against Gram-negative bacteria *P. aeruginosa*, *K. pneumonia*, *E. coli* (fig. 4) within 24 hours.

The study of antibacterial properties of the CS sample against the mixture of test microorganisms demonstrated the following:

- after the contact of CS with a mixture of cultures (*E. coli* and *S. aureus*), there was a gradual decrease in the growth of colonies of Gram-positive bacteria *S. aureus* (in 6 hours after the contact);
- after the contact of CS-PVP with a mixture of cultures (*P. aeruginosa* and *S. aureus*), there was a slight decrease in the growth of colonies of *P. aeruginosa* (in 6 hours after the contact);
- poor growth of pathogenic microflora for mixtures of cultures No. 1 and No. 2 in 24 hours after the contact was noticed.

At the same time, the sample of granulated sorbent CS-PVP showed a pronounced antibacterial activity against Gram-negative microflora: there was no growth of colonies of the test organisms *E. coli* 6 hours after contact, and the growth of *K. pneumonia* and

**Таблица 1. Антибактериальные свойства углеродных сорбентов по отношению к грамположительным тест-микроорганизмам.**

**Table 1. Antibacterial properties of the carbon sorbents against gram-positive test microorganisms.**

Samples	<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Streptococcus agalactiae</i>			
	Contact time, hours							
	1 h	3 h	6 h	24 h	1 h	3 h	6 h	24 h
Reference				$10^3$				$10^3$
CS	$10^3$	$3 \times 10^2$	$3 \times 10^2$	$2 \times 10^2$	$10^3$	20	20	20
CS-PVP	$10^3$	$10^3$	$3 \times 10^2$	0	10	0	0	0

**Note.** For tabl. 1, fig. 3, 4: CS — carbon sorbent VNIITU-1; CS-PVP — VNIITU-1 modified by polyvinylpyrrolidone.

**Примечание.** Sorbent samples — образцы сорбента; contact time — время контакта. Для табл. 1, рис. 3, 4: CS — УС, углеродный сорбент ВНИИТУ-1; CS-PVP — УС-ПВП, ВНИИТУ-1, модифицированный поливинилпирролидоном. Для табл. 1, рис. 3, 4, 7, 8: reference — контроль; samples — образцы; hours (h) — часов.



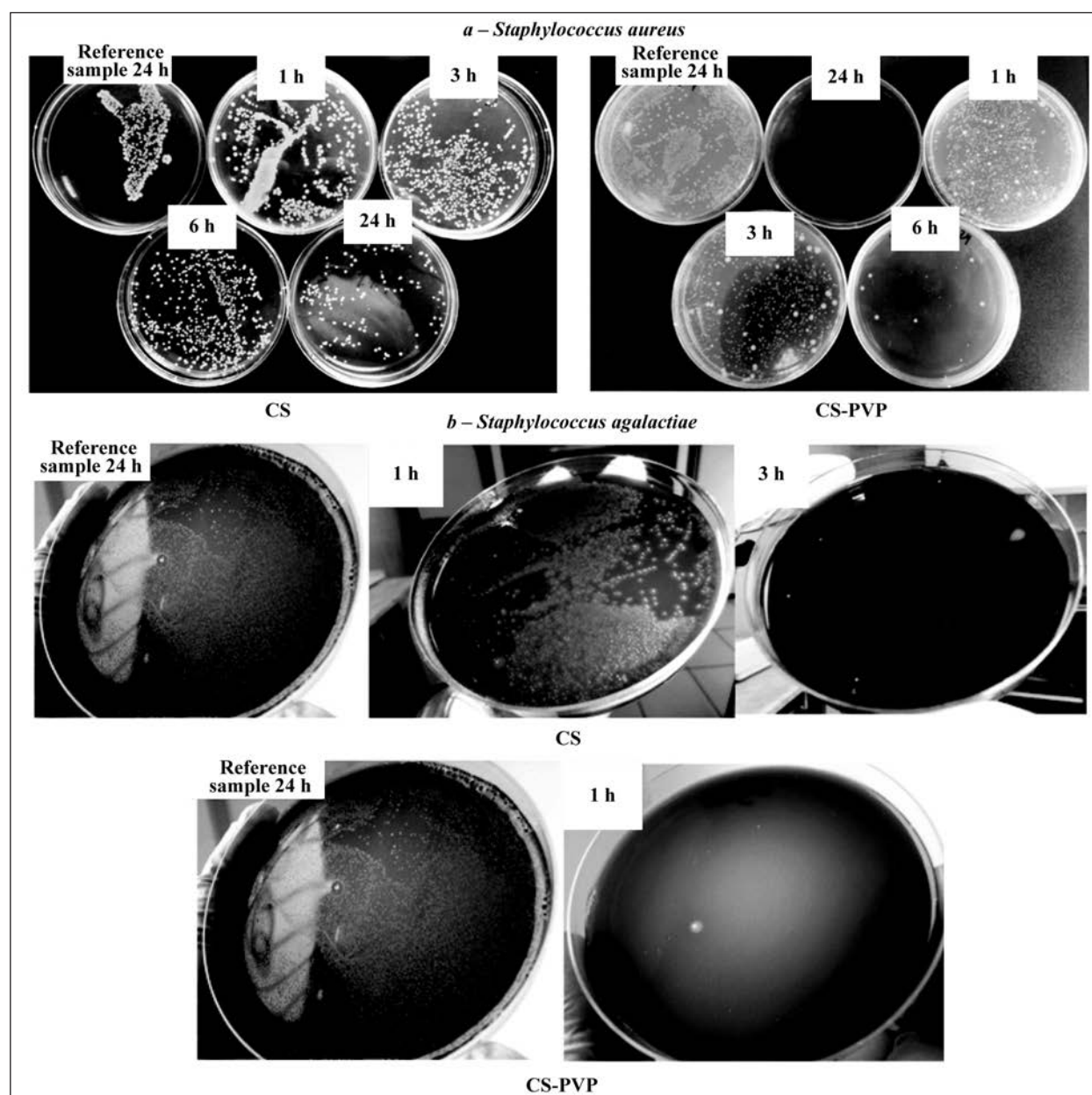


Рис. 3. Результаты исследования антибактериальных свойств углеродных сорбентов по отношению к грамположительным тест-микроорганизмам.

Fig. 3. Results of investigation of antibacterial properties of the carbon sorbents against to Gram-positive test microorganisms.

На снимках чашки Петри расположены по времени контакта сорбента с патогенной микрофлорой после контрольного посева (обозначен как «контроль»).

Выявили, что оба образца углеродного гранулированного сорбента УС (ВНИИТУ-1) и УС-ПВП (ВНИИТУ-1, модифицированный поли-N-винилпирролидоном) проявляют антибактериальную активность в отношении грамположительных бактерий, но в зависимости от времени контакта она различается. В частности, образец УС оказывал антибактериальное действие по отношению к *S. aureus* уже через 3 часа после контакта, а образец УС-ПВП — спустя 6 часов. Через 24 часа после кон-

*P. aeruginosa* stopped as early as 3 hours after the contact (fig. 4).

Therefore, the efficacy of the modified CS-PVP sample against Gram-negative microorganisms can be presented as follows: *K. pneumonia* > *S. aeruginosa* > *E. coli*. The enhancement of antibacterial properties of the modified sorbent CS-PVP can be explained by introduction of polyvinylpyrrolidone into its composition, which increases its antibacterial properties by 5–15% [17, 18]. The antibacterial properties of the modified sorbent CS-PVP against Gram-positive and Gram-negative bacteria can be explained by their interaction with polymerized N-vinylpyrrolidone. Antibacterial properties of PVP depend on its structure

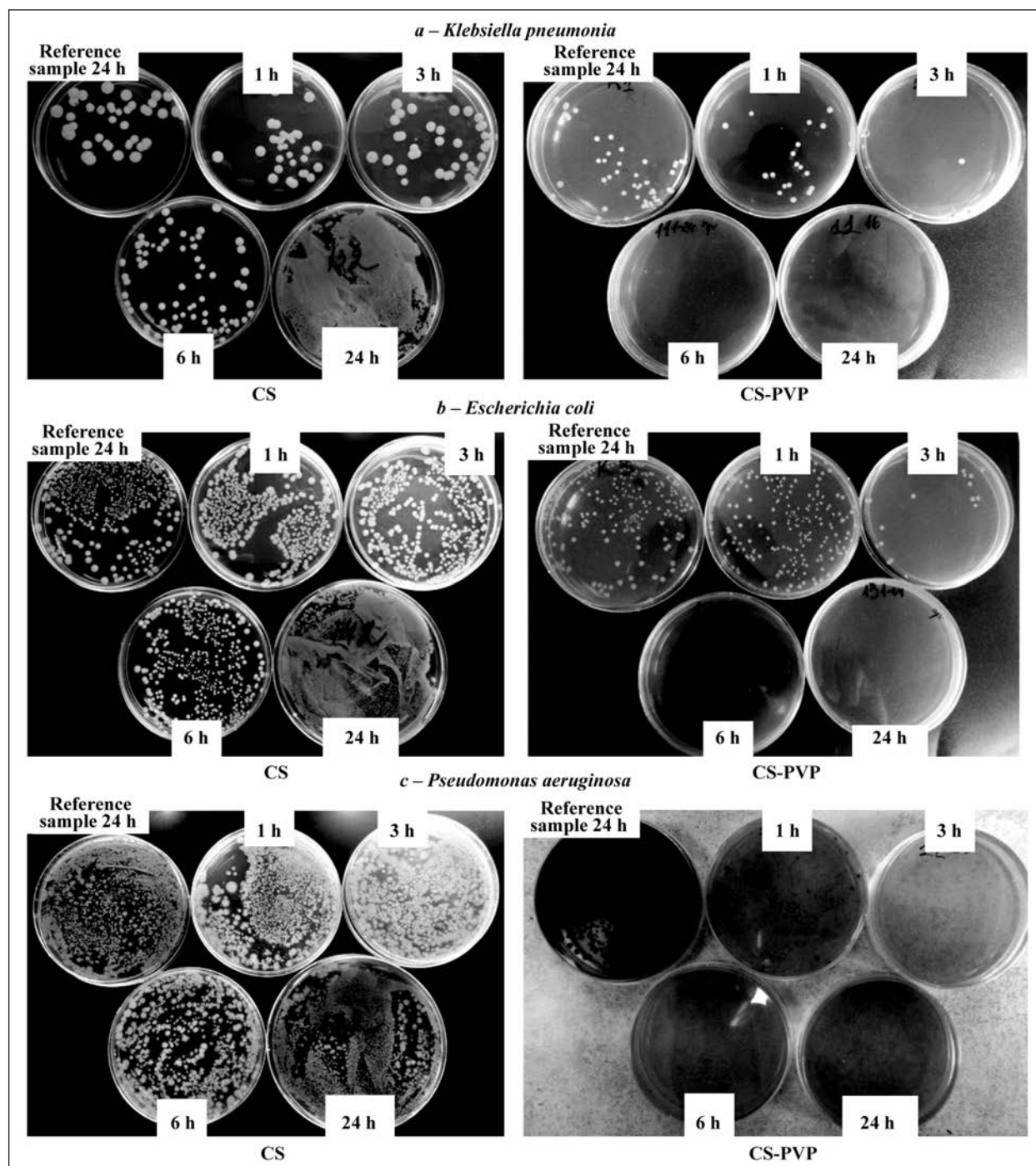


Рис. 4. Результаты исследования антибактериальных свойств углеродных сорбентов по отношению к грамотрицательным тест-микроорганизмам.

Fig. 4. Results of the study of antibacterial properties of the carbon sorbents against Gram-negative test microorganisms.

такта образца УС-ПВП с тест-микроорганизмами *S. aureus* полностью подавлялся их рост. В отношении *S. agalactiae* углеродные сорбенты проявляли достаточно высокую антибактериальную активность: образец УС подавлял рост тест-микроорганизмов по истечении 3-х часов после контакта, а образец УС-ПВП — по истечении 1 часа (рис. 3).

Таким образом, стендовыми микробиологическими исследованиями установили, что гранулированный углеродный сорбент ВНИИТУ-1 обла-

да и presence of the lactam ring in the structure: the main interaction of bacterial cells occurs with the nitrogen atom of pyrrolidone PVP cycles (fig. 5). Due to the presence of a hydrophobic polymer chain and hydrophilic carbonyl groups in the PVP structure, it is possible to bind physically bacterial cells to the polymer matrix (adhesion). The binding may also be due to the Coulomb interaction of a negatively charged cell membrane and a positively charged protonated nitrogen atom in the polymer macromolecule.

дает антибактериальную активность в отношении грамположительных микроорганизмов. Присутствие в структуре модификатора поли-N-винилпирролдона повышает антибактериальные свойства. Растворы поли-N-винилпирролдона снижают токсичность кишечной палочки и протей, а также оказывают агглютинирующее действие на микробные клетки [17, 18]. В отношении грамотрицательных бактерий *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli* образец УС проявлял антибактериальные свойства через 24 часа (рис. 4).

При исследовании антибактериальных свойств образцов сорбентов по отношению к смеси тест-микроорганизмов установили следующее:

- при контакте со смесью культур УС (*Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*) наблюдается постепенное снижение роста колоний грамположительных бактерий *Staphylococcus aureus* (по истечении 6 часов после контакта);

- при контакте со смесью культур УС-ПВП (*Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus aureus*) отмечается небольшое снижение роста колоний для *P. aeruginosa* (по истечении 6 часов после контакта);

- «скудный рост» патогенной микрофлоры для смесей культур №1 и №2 по истечении 24 часов после контакта.

Вместе с тем, образец гранулированного сорбента УС-ПВП проявлял выраженную антибактериальную активность по отношению к грамотрицательной микрофлоре: рост колоний *E. coli* отсутствовал по истечении 6 часов после контакта, а рост *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* прекращался уже по истечении 3-х часов после контакта (рис. 4).

Эффективность модифицированного образца УС-ПВП по отношению к грамотрицательным микроорганизмам можно распределить в следующем ряду: *K. pneumoniae* > *S. aeruginosa* > *E. coli*. Повышение антибактериальных свойств модифицированного сорбента УС-ПВП можно объяснить введением в его состав поливинилпирролдона, который на 5–15% усиливает его антибактериальные свойства [17, 18]. Антибактериальные свойства модифицированного сорбента УС-ПВП по отношению к грамположительным и грамотрицательным бактериям можно объяснить их взаимодействием с полимеризованным N-винилпирроldоном. Антибактериальные свойства ПВП обусловлены его строением и наличием в структуре лактамного кольца: основное взаимодействие бактериальных клеток происходит с атомом азота пирроldоновых циклов ПВП (рис. 5). Благодаря наличию гидрофобной полимерной цепи и гидрофильных карбоксильных групп в структуре ПВП возможно физическое связывание бактериальных клеток с полимерной матрицей (адгезия). Связывание, возможно, обусловлено также кулоновским взаимодействием отрицательно заряженной мембраны клетки и положительно заряженным протонированным атомом азота в макромолекуле полимера.

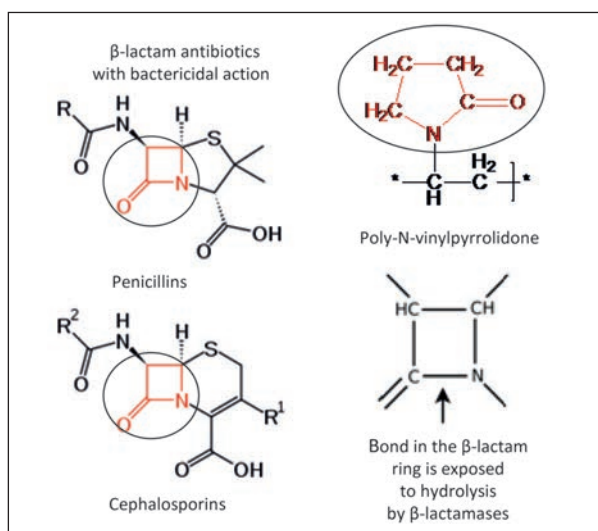


Рис. 5. Молекулы антибиотиков и поли-N-винилпирролдона.

Fig. 5. Molecules of antibiotics and poly-N-vinylpyrrolidone.

Note. Lactam rings are highlighted.

Примечание. Лактамные кольца выделены.  $\beta$ -lactam antibiotics with bactericidal action —  $\beta$ -лактамы антибиотиков бактерицидного действия; penicillins — пенициллины; cephalosporins — цефалоспорины; poly-N-vinylpyrrolidone — поли-N-винилпирроldон; bond in the  $\beta$ -lactam ring is exposed to hydrolysis by  $\beta$ -lactamases — связь в  $\beta$ -лактамном кольце, подверженная гидролизу  $\beta$ -лактамазами.

The therapeutic effect of poly-N-vinylpyrrolidone is based on its antibacterial properties: the ability to bind toxins entering or produced in the body and to remove them from the body. A similar structure of PVP and  $\beta$ -lactam antibiotics is an interesting fact (fig. 5).

According to the corresponding classification, polyvinylpyrrolidone belongs to  $\gamma$ -lactams. It can be assumed that the polymer-modified carbon sorbent CS-PVP acts like  $\beta$ -lactam antibiotics against pathogenic microflora and demonstrates bactericidal properties.

It is now known that bacteria gradually develop resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics due to the synthesis and action of lactamases. Unlike  $\beta$ -lactam antibiotics,  $\gamma$ -lactam ring in PVP is less accessible for «attacks» of lactamases, and the number of such centers in the polymer is much higher than the concentration of enzymes produced by bacteria. The selected synthesis conditions allowed to obtain a sorbent of prolonged action. Over time, the polymer migrates (desorbs) from the sorbent in the form of polymer chains after the contact with the biological environment and becomes capable to interact with bacterial cells (fig. 6).

The antibacterial properties of the modified CS-PVP sample are compared with the effect of modern antibiotics: according to its action, the polymer-modified sample CS-PVP serves not only as a good alternative to antibiotics, but also has a noticeable advantage over them.



Терапевтический эффект поли-N-винилпирролидона основан на его антибактериальных свойствах: способность связывать токсины, поступающие или образующиеся в организме, и выводить их из организма. Интересным фактом является схожее строение ПВП и  $\beta$ -лактамовых антибиотиков (рис. 5).

По соответствующей классификации поливинилпирролидон относится к  $\gamma$ -лактамам. Можно предположить, что полимермодифицированный углеродный сорбент УС-ПВП в отношении патогенной микрофлоры действует подобно  $\beta$ -лактамовым антибиотикам и проявляет бактерицидные свойства.

В настоящее время известно, что к  $\beta$ -лактамовым антибиотикам бактерии постепенно вырабатывают устойчивость за счет синтеза и действия лактамаз. В отличие от  $\beta$ -лактамовых антибиотиков,  $\gamma$ -лактамовое кольцо в ПВП менее доступно для «атак» лактамаз, и количество таких центров в полимере значительно превышает концентрацию ферментов, вырабатываемых бактериями. Подобраные условия синтеза позволили получить сорбент пролонгированного действия. С течением времени полимер при контакте с биологической средой мигрирует (десорбируется) с сорбента в виде полимерных цепей и способен в данной форме к взаимодействию с бактериальными клетками (рис. 6).

Антибактериальные свойства модифицированного образца УС-ПВП сопоставлены с действием современных антибиотиков: по своему действию полимермодифицированный образец УС-ПВП служит не только хорошей альтернативой антибиотикам, но и обладает заметным преимуществом перед ними.

На основании результатов проведенных исследований показана возможность повышения антибактериальных свойств гранулированных углеродных сорбентов по отношению к патогенной и условно патогенной микрофлоре. Модификация углеродного сорбента ПВП позволяет получить полимермодифицированный образец, обладающий антибактериальными свойствами пролонгированного действия по отношению к широкому спектру микроорганизмов (*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*) и к смеси культур. Особенно показательным является действие модифицированного образца УС-ПВП в отношении бактерий *P. aeruginosa*, для подавления роста которых

Based on the results of the research, the possibility of enhancement of the antibacterial properties of granular carbon sorbents against pathogenic and conditionally pathogenic microflora has been demonstrated. The modification of the carbon sorbent with PVP resulted in a polymer-modified sample with prolonged antibacterial properties against a wide range of microorganisms (*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*) and against a mixture of cultures. The effect of the modified sample CS-PVP against bacteria *P. aeruginosa* is especially significant, because studied antibiotics proved to be ineffective against their growth. The obtained test results has shown that the modified sorbents possess significant biospecific properties and belong to promising materials for sorption therapy. Data show that the sorbent modified by glycolic acid oligomer (CS-GA sample) has an antibacterial effect against Gram-positive and Gram-negative monocultures and their mixtures at a contact time of at least 3 hours.

In addition, the granulated carbon sorbent modified with glycolic acid also demonstrates antimycotic properties against pathogenic yeast-like fungi *Candida albicans* and *Candida krusei* at a contact time of at least 1 and 3 hours, respectively (fig. 7).

Samples of the carbon sorbent modified by lactic acid oligomer (sample CS-LA), exhibit moderate antibacterial activity against the following microorganisms: *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus pyogenes*, *S. agalactiae*, *Escherichia faecalis*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*. They possess a potent antimycotic effect on the cultures of yeast-like fungi *C. albicans* (sensitive at a contact time of at least 1 hour). It has been found that the studied samples of the modified sorbent exhibit significant an-

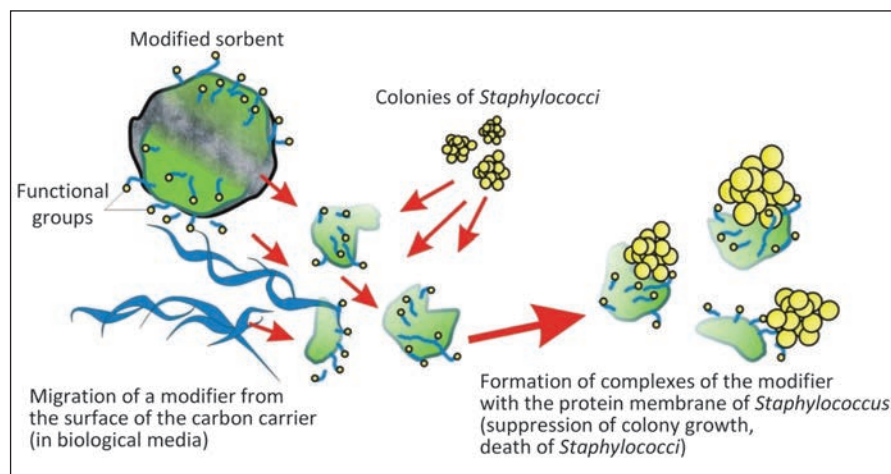


Рис. 6. Схема взаимодействия модифицированного сорбента с патогенными микроорганизмами.

Fig 6. Scheme of interaction between the modified sorbent and pathogenic microorganisms.

Примечание. Modified sorbent — модифицированный сорбент; colonies of *Staphylococci* — колонии стафилококка; functional groups — функциональные группы; migration of a modifier from the surface of the carbon carrier (in biological media) — миграция модификатора с поверхности углеродного носителя (в биологических средах); formation of complexes of the modifier with the protein membrane of *Staphylococcus* (suppression of colony growth, death of *Staphylococci*) — образование комплексов модификатора с белковой оболочкой стафилококка (подавление размножения колоний, гибель стафилококков).

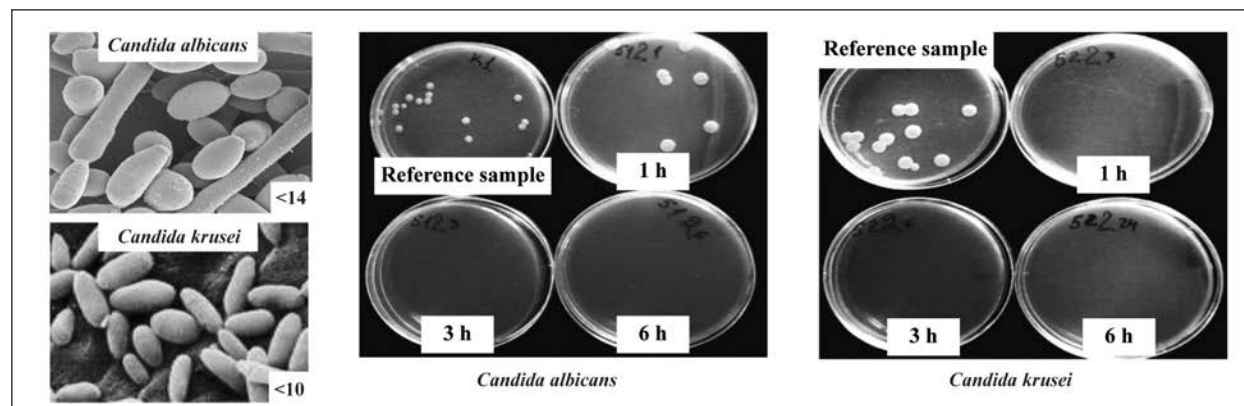


Рис. 7. Результаты оценки антимикотических свойств углеродного сорбента, модифицированного олигомером гликолевой кислоты (образец УС-ГК).

Fig. 7. Results of evaluation of the antimycotic properties of a carbon sorbent modified by glycolic acid oligomer (CS-GA sample).

все исследуемые антибиотики оказались не эффективны. Полученные результаты испытаний показали, что модифицированные сорбенты обладают выраженными биоспецифическими свойствами и являются перспективными материалами для сорбционной терапии. Результаты исследований позволяют утверждать, что сорбент, модифицированный олигомером гликолевой кислоты (образец УС-ГК), обладает антибактериальным действием по отношению к грамположительным и грамотрицательным монокультурам и их смесям при времени контакта не менее 3 часов.

Кроме того, гранулированный углеродный сорбент, модифицированный гликолевой кислотой, проявляет также и антимикотические свойства по отношению к патогенным дрожжеподобным грибам *Candida albicans* и *Candida krusei* при времени контакта не менее 1-го и 3-х часов соответственно (рис. 7).

Образцы углеродного сорбента, модифицированного олигомером молочной кислоты (образец УС-МК), проявляют умеренно выраженную антибактериальную активность по отношению к микроорганизмам *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus pyogenes*, *S. agalactiae*, *Escherichia faecalis*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *E. coli*. Они обладают сильно выраженным антимикотическим действием по отношению к культурам дрожжеподобных грибов *C. albicans* (чувствительны при времени контакта не менее 1 часа). Установили, что исследуемые образцы модифицированного сорбента обладают выраженными антимикробными свойствами по отношению к бактериально-грибковой ассоциации культур *S. aureus* + *C. albicans* (при времени контакта не менее 1 ч.).

Выявили также, что образец, модифицированный сополимером гликолевой и молочной кислот (образец УС-ГК-МК), проявляет антибактериальную активность по отношению к патогенным монокультурам *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* и их смесям. Кроме того, установили, что модифицированный сорбент активен по

тимicrobial properties against bacterial-fungal association of *S. aureus* + *C. albicans* cultures (at the contact time of at least 1 hour).

It has been also found that the sample modified by a glycolic and lactic acid copolymer (CS-GA-LA sample) demonstrates antibacterial activity against pathogenic monocultures of *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *K. pneumoniae* and their mixtures. In addition, it was found that the modified sorbent retained activity against antibiotic-resistant Gram-negative bacteria *Acinetobacter calcoaceticus* and against yeast-like *C. krusei* fungi. The antibacterial and antimycotic effect of this sample was observed after the first hour of contact with microorganisms (fig. 8).

The high antibacterial and antimycotic properties of the modified carbon sorbent samples are explained by the acid-base properties of the applied hydroxy acid oligomer: after the contact of the oligomer with the biological medium, pH decreases. Data indicate that a gradual migration of deposited GA, LA, and GLA oligomers in the form of mono-, di- and trimers (hydrolysis of hydroxy acid esters) occurs during the interaction of modified sorbents with the saline. Local «acidification» of the medium is a detrimental factor for the life of pathogenic microorganisms [18]. Features of the applied modifiers and polymer compounds formed by them represent the hypothetical mechanisms of biospecific action of the developed materials.

It is known that glycolic and lactic acids are capable to penetrate through the cell membrane of the bacterial cell and change its acid-base balance due to their hydrophilic properties and small size [9, 10, 18]. The thinner the membrane of the bacterial cell, the more sensitive it is to the pH changes. Published data consider several possible processes that occur in a bacterial cell when acid molecules penetrate it, which can lead to destruction and death of a cell of pathogenic microorganisms. Impairment of the acid-base balance of the cell internal environment due to a pH drop leads to «acid stress» or «oxidative stress». The vital activity of a cell is reduced due to the energy loss, which is

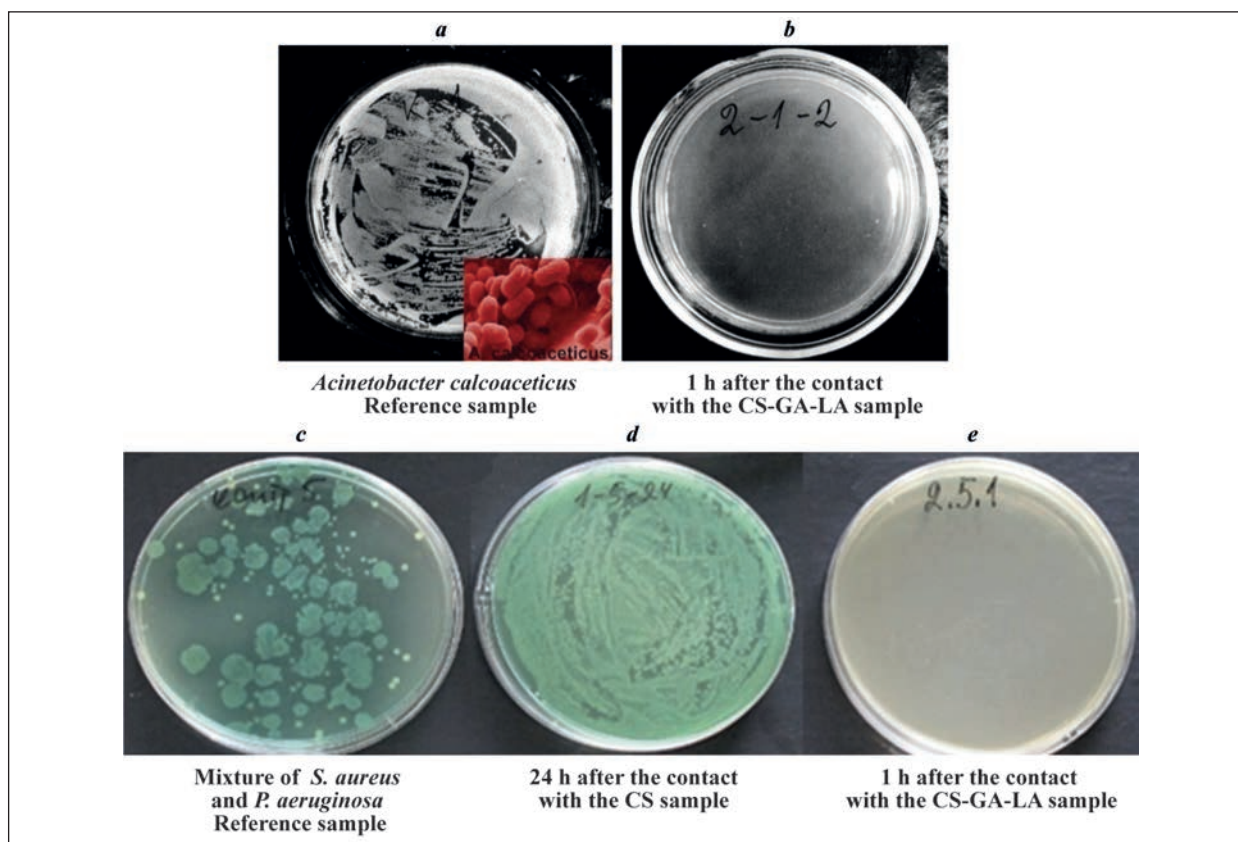


Рис. 8. Результаты оценки антибактериальных свойств углеродного сорбента, модифицированного сополимером гидроксикислот (образец УС-ГК-МК), по отношению к грамотрицательной бактерии *Acinetobacter calcoaceticus* (a, b), и к смеси бактериальных культур *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* (c–e).

Fig. 8. Results of evaluation of antibacterial properties of carbon sorbent modified by hydroxy acids copolymer (CS-GA-LA sample) against Gram-negative bacterium *Acinetobacter calcoaceticus* (a, b), as well as against the mixture of bacterial cultures *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* (c–e).

Примечание. Mixture of – смесь; ... h after the contact with the CS/CS-GA-LA sample – после ... часов контакта с образцом УС/УС-ГМТ.

отношению к антибиотикорезистентной грамотрицательной бактерии *Acinetobacter calcoaceticus* и в отношении дрожжеподобных грибов рода *C. krusei*. Антибактериальное и антимикотическое действие данного образца отмечали уже после 1-го часа контакта с микроорганизмами (рис. 8).

Высокие антибактериальные и антимикотические свойства модифицированных образцов углеродного сорбента объясняются кислотно-основными свойствами нанесенного олигомера гидроксикислоты: при контакте олигомера с биологической средой снижается pH, это свидетельствует о том, что при взаимодействии модифицированных сорбентов с физиологическим раствором происходит постепенная миграция нанесенных олигомеров ГК, МК и ГМК в виде моно-, ди- и тримеров (гидролиз сложных эфиров гидроксикислот). Происходит локальное «закисление» среды, что является губительным фактором для жизнедеятельности патогенных микроорганизмов [18]. Предполагаемые механизмы биоспецифического действия разработанных материалов заключаются в особенностях нанесенных модификаторов и образуемых ими полимерных соединений.

spent on restoration of the pH of its internal environment or normalization of the functioning of the internal electronic transport chain. In the first case, the energy of the cell is expended for (a) removal of their own acids produced as a result of its vital activity to the environment and (b) synthesis of metabolites with the basic groups. In the case of the «oxidative stress», cell energy is spent on the formation of free radicals to restore cellular mechanisms (metabolism of oxidative reactions, electronic transport system).

Data on the sensitivity of pathogenic and conditionally pathogenic microflora and fungi *C. albicans* to sorbents using the agar-diffusion test are shown in table 2. From table 2 it is evident that the granulated VNIITU-1 demonstrates lower antibacterial and antifungal properties compared to modified sorbents.

## Conclusion

Modified sorbents as antimicrobial and detoxifying drugs may further be employed in treatment of obstetrical-gynecological and surgical diseases. The carbon sorbents are promising materials for medicine, as they expand the potential of sorption therapy in clinical practice.



Таблица 2. Антибактериальные и антимикотические свойства гранулированных сорбентов.

Table 2. Antibacterial and antimycotic properties of granulated sorbents.

Culture under test	Granulated sorbents			
	VNIITU-1	VNIITU-1-LA	VNIITU-1-GA	VNIITU-1-LGA
<i>S. aureus</i>	*	**	***	***
<i>S. epidermidis</i>	*	**	***	***
<i>S. pyogenes</i>	*	**	***	***
<i>S. agalactiae</i>	*	**	***	***
<i>E. faecalis</i>	*	**	***	***
<i>Ps. aeruginosa</i>	*	**	**	**
<i>K. pneumoniae</i>	*	**	**	**
<i>E. coli</i>	*	**	**	**
<i>C. albicans</i>	*	***	****	****

**Note.** Diameter of the zone of microbe growth inhibition of (area of the sorbent's action): \* — <10 mm; \*\* — 10 to 15 mm; \*\*\* — 15 to 20 mm; \*\*\*\* — >20 mm.

**Примечание.** Culture under test — исследуемая культура; granulated — гранулированные; VNIITU-1 — ВНИИТУ-1; VNIITU-1-LA — ВНИИТУ-1-МК; VNIITU-1-GA — ВНИИТУ-1-ГК; VNIITU-1-LGA — ВНИИТУ-1-МГК. Диаметр зоны подавления роста микробов (зона действия сорбента): \* — менее 10 мм; \*\* — от 10 до 15 мм; \*\*\* — от 15 до 20 мм; \*\*\*\* — более 20 мм.

Известно, что гликолевая и молочная кислоты, благодаря гидрофильным свойствам и небольшому размеру, способны проникать через клеточную мембрану бактериальной клетки и изменять ее кислотно-основной баланс [9, 10, 18]. Чем тоньше мембрана бактериальной клетки, тем она чувствительнее к изменениям pH. В литературе рассматриваются несколько возможных процессов, протекающих в бактериальной клетке при проникновении в нее молекул кислот, которые могут привести к разрушению и гибели клетки патогенных микроорганизмов. Нарушение кислотно-основного баланса внутренней среды клетки за счет резкого снижения pH приводит к возникновению «кислотного стресса» или «оксидативного стресса». Жизнедеятельность клетки снижается за счет потери энергии, которая затрачивается на восстановление pH ее внутренней среды или нормализацию функционирования внутренней электронной транспортной цепи. В первом случае, энергия клетки затрачивается: на процесс удаления во внешнюю среду собственных кислот, продуцируемых в результате жизнедеятельности; на синтез метаболитов с основными группами. В случае «оксидативного стресса» энергия клетки

расходуется на синтез свободных радикалов для восстановления клеточных механизмов (метаболизма окислительных реакций, электронно-транспортной системы).

Чувствительность патогенной и условно-патогенной микрофлоры, грибов *C. albicans* по отношению к сорбентам, определенную агар-диффузным методом, представили в табл. 2. Как видно из табл. 2, модификации гранулированного ВНИИТУ-1 проявляют значительно более выраженную по сравнению с исходным сорбентом антибактериальную активность.

## Заключение

Выявленные антимикробные, детоксицирующие свойства модифицированных сорбентов являются дополнительным обоснованием их использования в комплексной терапии акушерско-гинекологической и хирургической патологии.

Разработанные углеродные сорбенты, обладающие выраженным антимикробным и антифунгицидным действием, являются перспективными материалами для медицины, так как расширяют возможности сорбционной терапии в клинической практике.

## Литература

- Хорошилов С.Е., Карпун Н.А., Половников С.Г., Никулин А.В., Кузовлев А.Н. Селективная гемосорбция эндотоксина в лечении абдоминального сепсиса. *Общая реаниматология*. 2009; 5 (6): 83-87. DOI: 10.15360/1813-9779-2009-6-83
- Маткевич В.А., Поцхверия М.М., Гольдфарб Ю.С., Симонова А.Ю. Нарушения параметров гемостаза при острых отравлениях и пути их коррекции. *Токсикологический вестник*. 2018; 3: 18-26.
- Александрович Ю.С., Пшениснов К.В. Инфузионные антигипоксанта при критических состояниях у детей. *Общая реаниматология*. 2014; 10 (3): 59-73. DOI: 10.15360/1813-9779-2014-3-59-74
- Гаврилин С.В., Петров А.Н., Мешаков Д.П., Недомолкин С.В., Суворов В.В., Смирнов С.А., Самохвалов И.М. Оптимизация инфузионно-трансфузионной терапии в остром периоде травматической болезни. *Скорая мед. помощь*. 2016; 17 (3): 15-19.
- Neal M.D., Hoffman M.K., Cuschieri J., Minei J.P., Maier R.V., Harbrecht B.G., Billiar T.R., Peitzman A.B., Moore E.E., Cohen M.J., Sperry J.L. Cryotallloid to packed red blood cell transfusion ratio in the massively transfused patient: when a little goes a longway. *J. Trauma Acute Care Surg*. 2012; 72 (4): 892-898. DOI: 10.1097/TA.0b013e31823d84a7. PMID: 22491601
- Терехова Р.П., Митиш В.А., Пасхалова Ю.С., Складан Г.Е., Прудникова С.А., Блатун Л.А. Возбудители остеомиелита длинных костей и их

## References

- Khoroshilov S.Y., Karpun N.A., Polovnikov S.G., Nikulin A.V., Kuzovlev A.N. Selective hemosorption of endotoxin in the treatment of abdominal sepsis. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2009; 5 (6): 83-87. DOI: 10.15360/1813-9779-2009-6-83. [In Russ., In Engl.]
- Matkevich V.A., Potkhveriya M.M., Goldfarb Yu.S., Simonova A.Yu. Violations of homeostasis parameters in acute poisonings and ways of their correction. *Toksikologichesky Vestnik*. 2018; 3: 18-26. [In Russ.]
- Aleksandrovich Yu.S., Pshenishnov K.V. Infusion antihypoxants in children with critical conditions. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2014; 10 (3): 59-73. DOI: 10.15360/1813-9779-2014-3-59-74. [In Russ., In Engl.]
- Gavrilin S.V., Petrov A.N., Meshakov D.P., Nedomolkin S.V., Suvorov V.V., Smirnov S.A., Samokhvalov I.M. Optimization of infusion and blood transfusion therapy in acute period of traumatic disease. *Skoraya Meditsinskaya Pomoshch*. 2016; 17 (3): 15-19. [In Russ.]
- Neal M.D., Hoffman M.K., Cuschieri J., Minei J.P., Maier R.V., Harbrecht B.G., Billiar T.R., Peitzman A.B., Moore E.E., Cohen M.J., Sperry J.L. Cryotallloid to packed red blood cell transfusion ratio in the massively transfused patient: when a little goes a longway. *J. Trauma Acute Care Surg*. 2012; 72 (4): 892-898. DOI: 10.1097/TA.0b013e31823d84a7. PMID: 22491601
- Terekhova R.P., Mitish V.A., Paskhalova Yu. S., Skladan G.E., Prudnikova S.A., Blatun L.A. Osteomyelitis agents of the long bones and their resis-

- резистентность. *Раны и раневые инфекции*. 2016; 3 (2): 24-30. DOI: 10.17650/2408-9613-2016-3-2-24-30.
7. Moultrie D., Hawker J., Cole S. Factors associated with multidrug-resistant Acinetobacter transmission: an integrative review of the literature. *AORN J.* 2011; 94 (1): 27-36. DOI: 10.1016/j.aorn.2010.12.026. PMID: 21722769
  8. Сергиенко В.К., Якубцевич Р.Э. Применение гемосорбции при перитоните у детей: коррекция газового состава и кислотно-щелочного равновесия крови. *Экстренная медицина*. 2018; 1: 78-85.
  9. Павлова Л.А., Пастухов А.В., Копицына М.Н., Морозов А.С., Бессонов И.В., Смирнова С.Е., Багнюкова Д.А., Даванков В.А. Повышение селективности извлечения билирубина сверхшшитыми полистирольными гемосорбентами. *Изв. АН. Сер. хим.* 2017; 10: 1891-1896.
  10. Долгих В.Т., Долгих Т.И., Пьянова Л.Г., Лихолобов В.А., Баринов С.В., Бараккина О.В., Гриценко Н.С., Толкач А.Б. Антимикробная активность гранулированных углеродных сорбентов. *Рос. иммунол. журнал*. 2014; 8 (3): 788-791.
  11. Долгих В.Т., Пьянова Л.Г., Баринов С.В., Лихолобов В.А., Долгих Т.И., Рябчикова Е.И., Корнеев Д.В. Эффективность использования углеродного формованного сорбента ВНИИТУ-1 в акушерской практике. *Общая реаниматология*. 2015; 11 (4): 60-71. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-4-60-71
  12. Суrowикин В.Ф., Полуэктов Л.В., Червяков П.И. Способ получения углеродного гемосорбента. Патент РФ на изобретение № 1319475.
  13. Суrowикин В.Ф., Цеханович М.С., Суrowикин Ю.В., Пучков С.С. Способ получения гранулированного углеродного материала и реактор для его осуществления. Патент РФ на изобретение № 2106375.
  14. Долгих Т.И., Пьянова Л.Г., Бакланова О.Н., Долгих В.Т., Лузянина Л.С., Филиппов С.И., Соколова Т.Ф., Саланов А.Н., Глуценко А.В., Ершов А.В., Рейс Б.А., Лихолобов В.А. Адсорбция цитокинов на поверхности модифицированного углеродного сорбента *in vitro* при перитоните. *Общая реаниматология*. 2009; 5 (6): 66-70. DOI: 10.15360/1813-9779-2009-6-66
  15. Бакланова О.Н., Пьянова Л.Г., Талзи В.П., Князева О.А., Седанова А.В., Долгих Т.И., Лихолобов В.А. Модифицирование поверхности углеродного сорбента поли-N-винилпирролидоном для аппликационной медицины. *Физикохимия поверхности и защита материалов*. 2012; 48 (4): 363-369.
  16. Суrowикин В.Ф., Пьянова Л.Г., Лузянина Л.С., Суrowикин Ю.В. Способ модифицирования углеродного сорбента. Патент РФ на изобретение № 2211727.
  17. Суrowикин В.Ф., Пьянова Л.Г., Лузянина Л.С., Долгих В.Т. Углеродные гемо- и энтеросорбенты на основе нанодисперсных углерод-углеродных материалов и использование их в медицине при критических состояниях. *Эфферентная терапия*. 2008; 14 (1-2): 4-8.
  18. Пьянова Л.Г., Бакланова О.Н., Лихолобов В.А., Дроздов В.А., Саланов А.Н., Талзи В.П., Седанова А.В., Князева О.А. Исследование эффекта модифицирования поверхности углеродных сорбентов поли-N-винилпирролидоном комплексом физико-химических и микробиологических методов. *Физикохимия поверхности и защита материалов*. 2013; 49 (4): 408-417. DOI: 10.7868/S0044185613040116
  - tance. *Rany i Ranevye Infektsii*. 2016; 3 (2): 24-30. DOI: 10.17650/2408-9613-2016-3-2-24-30. [In Russ.]
  7. Moultrie D., Hawker J., Cole S. Factors associated with multidrug-resistant Acinetobacter transmission: an integrative review of the literature. *AORN J.* 2011; 94 (1): 27-36. DOI: 10.1016/j.aorn.2010.12.026. PMID: 21722769
  8. Sergienko V.K., Yakubtsevich R.E. Use of hemosorption in peritonitis in children: correction of gas composition and acid-base balance of the blood. *Ekstrennaya Meditsina*. 2018; 1: 78-85. [In Russ.]
  9. Pavlova L.A., Pastukhov A.V., Kopitsyna M.N., Morozov A.S., Bessonov I.V., Smirnova S.E., Bagnyukova D.A., Davankov V.A. Increasing the selectivity of bilirubin extraction by super-crosslinked polystyrene hemosorbents. *Izvestiya Akademii Nauk. Seriya Khimicheskaya*. 2017; 10: 1891-1896. [In Russ.]
  10. Dolgikh V.T., Dolgikh T.I., Pyanova L.G., Likholobov V.A., Barinov S.V., Barakina O.V., Gritsenko N.S., Tolkach A.B. Antimicrobial activity of granular carbon sorbents. *Rossiiskiy Immunologicheskyy Zhurnal*. 2014; 8 (3): 788-791. [In Russ.]
  11. Dolgikh V.T., Pyanova L.G., Barinov S.V., Likholobov V.A., Dolgikh T.I., Ryabchikova E.I., Korneyev D.V. Efficacy of the molded carbon sorbent VNIITU-1 used in obstetric practice. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2015; 11 (4): 60-71. DOI: 10.15360/1813-9779-2015-4-60-71. [In Russ., In Engl.]
  12. Surowikin V.F., Poluektov L.V., Chervyakov P.I. The method of obtaining carbon hemosorbent. RF Patent for invention № 1319475. [In Russ.]
  13. Surowikin V.F., Tsekhanovich M.S., Surowikin Yu.V., Puchkov S.S. A method for producing a granular carbon material and a reactor for its implementation. RF Patent for invention № 2106375. [In Russ.]
  14. Dolgikh T.I., Pyanova L.G., Baklanova O.N., Dolgikh V.T., Luzyanova L.S., Filippov S.I., Sokolova T.F., Salanov A.N., Glushchenko A.V., Yershov A.V., Reis B.A., Likholobov V.A. Cytokine adsorption onto the modified carbon sorbent surface *in vitro* in peritonitis. *Obshchaya Reanimatologiya = General Reanimatology*. 2009; 5 (6): 66-70. DOI: 10.15360/1813-9779-2009-6-66 [In Russ., In Engl.]
  15. Baklanova O.N., Pyanova L.G., Talzi V.P., Knyazheva O.A., Sedanova A.V., Likholobov V.A., Dolgikh T.I. Modification of carbon sorbent surface by poly-N-vinylpyrrolidone in application medicine. *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces*. 2012; 48 (4): 427-433. DOI: 10.1134/S2070205112040041. [In Russ., In Engl.]
  16. Surowikin V.F., Pyanova L.G., Luzyanina L.S., Surowikin Yu.V. Method for modifying carbon sorbent. RF Patent for invention № 2211727. [In Russ.]
  17. Surowikin V.F., Pyanova L.G., Luzyanina L.S., Dolgikh V.T. Carbonic hemo- and enterosorbents based on nanodispersible carbon-carbonic materials: medical application in critical states. *Efferentnaya Terapiya*. 2008; 14 (1-2): 4-8. [In Russ.]
  18. Pyanova L.G., Baklanova O.N., Likholobov V.A., Drozdov V.A., Talzi V.P., Sedanova A.V., Knyazheva O.A., Salanov A.N. Studies of the effect of surface modification of carbon sorbents by poly-N-vinylpyrrolidone using a complex of physicochemical and microbiological methods. *Protection of Metals and Physical Chemistry of Surfaces*. 2013; 49 (4): 430-439. DOI: 10.1134/S2070205113040114. [In Russ., In Engl.]

Поступила 03.11.18

Received 03.11.18