

ХІТОЗАН: ПРОТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ТА ПЕРСПЕКТИВИ БІОМЕДИЧНОГО ВИКОРИСТАННЯ

Суходуб Л.Б.

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова НАМНУ»,
61057, вул. Пушкінська,14, Харків, Україна

На підставі огляду опублікованих наукових досліджень витікає можливість застосування природного нетоксичного, біодеградуючого полісахариду хітозану у якості ефективного протимікробного компонента для біомедичного використання. Хітозан проявляє протимікробну активність щодо широкого кола грамнегативних та грампозитивних патогенних мікроорганізмів, включаючи гриби. Здатність хітозану утворювати хелатні комплекси з металами та зв'язуватися з ДНК робить його перспективним в генній інженерії. Природна здатність хітозану до гелеутворення застосована при виготовленні гемостатичного препарату "Целокс", ефективного в умовах військових операцій для зупинки артеріальної кровотечі безпосередньо на полі бою при пораненнях.

Ключові слова: хітозан, грам-негативні, грам-позитивні мікроорганізми, протимікробна активність.

В останні десятиліття серйозну увагу дослідників привертає використання природних протимікробних засобів замість звичних з причини

швидкого появи резистентності ряду патогенних мікроорганізмів до антибіотиків. Хітозан (CS) є одним з природних нетоксичних, здатних до біодеградації полісахаридів, який широко застосовують в якості антимікробного компонента. CS належить до групи кополімерів глюкозаміну та його N-ацетильованого аналогу N-ацетил-D-глюкозаміну з різним співвідношенням між цими двома ланками. Його отримують шляхом деацетилювання хітину - найбільш поширеного в природі після целюлози полісахариду, який присутній в екзоскелетоні комах, ракоподібних та грибах [1]. Завдяки розвитку ферментативної технології культивування грибів забезпечує альтернативне джерело отримання хітозану. Хітин складає до 45 % вмісту клітинної стінки *A. niger* та *M. rouxii* і до 20 % вмісту клітинної стінки *P. notatum* [2]. В залежності від джерела та процесу отримання, CS має молекулярну масу від 1,0 до 5×10^5 Da, ступінь деацетилювання (DD) від 30 % до 95 % [3]. Величина заряду на поверхні макромолекули визначається кількістю протонованих аміногруп, яка, в свою чергу, залежить від DD. Саме катіонна властивість хітозану лежить в основі його специфічних протимікробних властивостей.

Історія вивчення хітозану починається з ІХХ століття, коли в 1859 році відкрили деацетильовану форму хітину. Протягом останніх 20 років багато наукових робіт присвячено хітозану та можливостям його використання в різних біомедичних сферах як природного протимікробного компонента [4, 5]. Хітозан має три типи реакційних функціональних груп: аміно групу в позиції С-2 в кожній деацетильованій структурній одиниці, а також первинну та вторинну гідроксильні групи в С-6 та С-3 позиціях відповідно (рис.) [6].

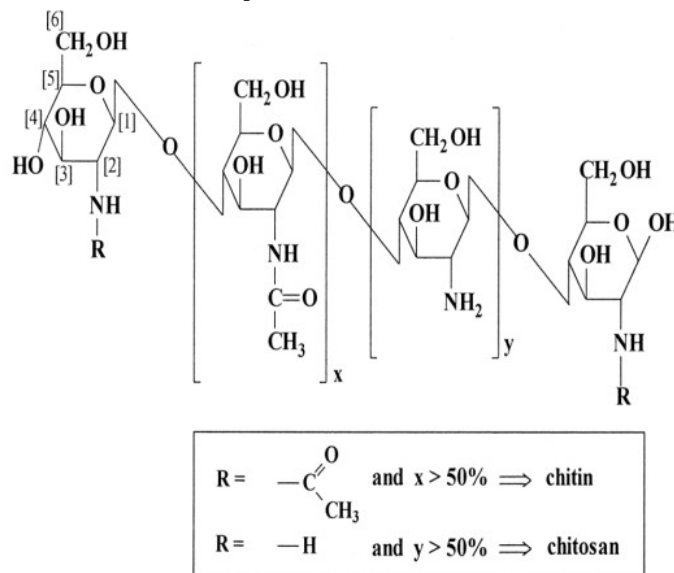


Рис. Структурна формула хітину(x) та хітозану (y)

Означене обумовлює його здатність до утворення нових гідрофільних лікарських форм на основі відомих препаратів, а також утворення систем доставки ліків з пролонгованим їх вивільненням. Хітозан є унікальним сорбентом, саме завдяки сорбційним властивостям можливе його поєднання з антибіотиками [7], протеїнами та застосування в якості стимулятора активності фібробластів [8], стимулятора остеогенезу

[9]. Особливої уваги заслуговує нетоксичний гемостатичний препарат "Целокс", виготовлений на основі хітозану. Він є ефективним при застосуванні в умовах військових операцій для зупинки артеріальної кровотечі на полі бою при пораненнях. Звертання крові при застосуванні цього препарату відбувається значно швидше порівняно з іншими препаратами завдяки природній здатності хітозану до гелеутворення та

спеціальній його обробці, яка підсилює цю властивість. "Целокс" випускається у формі пластинок з високо розвиненою пористою поверхнею, які здатні поглинати кров при контакті з нею [10, 11].

Протимікробні властивості хітозану залежать від ряду факторів. Розглядають декілька механізмів протимікробної дії хітозану [12]. Так, в основі протигрибової активності хітозану лежить ефект пригнічення процесу утворення та проростання спор [13]. Особливість антибактеріальної активності хітозану щодо грамнегативних та грампозитивних бактерій полягає в відмінностях поверхневих характеристик бактеріальних клітин [14, 15, 16].

Відомо, що зовнішня мембрана грамнегативних бактерій включає ліпополісахариди (ЛПС), завдяки чому їх поверхня є гідрофільною, а аніонні функціональні групи (карбоксильні та фосфатні), які входять до складу ліпідних компонентів, електростатично зв'язані з іонами двовалентних металів, що надає стабільності ЛПС шару зовнішньої мембрани. Зв'язування цих іонів з такими хелатоутворюючими агентами, як хітозан, призводить до дестабілізації зовнішньої мембрани в результаті вивільнення ЛПС-молекул і загибелі клітини, тому і цей процес пов'язують з протимікробною дією хітозану [17]. Клітинна стінка грампозитивних бактерій включає пептидоглікани та ліпотьохсову кислоту, фосфатні аніонні групи якої відповідають за стабільність зовнішнього шару бактеріальної клітини. При цьому ліпотьохсова кислота забезпечує молекулярний зв'язок між хітозаном та клітинною стінкою з подальшим порушенням функцій мембрани [18]. Інші автори вважають, що молекули хітозану приєднуються до ДНК мікробних клітин та пригнічують синтез їх РНК [19].

Значна роль в антибактеріальній активності належить фізико-хімічним властивостям хітозану, включаючи його катіонну структуру, молекулярну масу, ступінь деацетилювання, концентрацію, рН, хелатоутворюючі властивості [20]. Здатність хітозану утворювати хелатні комплекси з іонами металів широко наведені в науковій літературі [21, 22, 23], вони часто використовуються для очищення рідких середовищ від металів в медицині та промисловості.

В медицині застосовують комплекси хітозан-срібло, в т.ч. в складі захисних покриттів на металевих імплантатах в стоматології та ортопедії з метою зменшення ризику післяопераційних інфекційних ускладнень [24]. Протимікробна активність іонів срібла щодо грамнегативних та грампозитивних бактерій досить відома [25, 26]. Зокрема, антибактеріальна активність біокомпозитного матеріалу покриття на металевих імплантатах на основі гідроксиапатиту, срібла, та хітозану була досліджена спектрофотометричним методом шляхом визначення оптичної густини культуральної суспензії штаму *E. coli* ATCC 25922, в якому знаходилися досліджувані зразки [27]. В основі методу застосовано вимір світлопоглинаючих (абсорбційних) властивостей клітинних культур. Оптичну густину бактеріальної суспензії визначає ефект світлорозсіювання, яке є пропорційним концентрації клітин в середовищі. Вимірювання оптичної густини проводили через 2, 4, 24 та 48 годин. Було визначено, що хітозан та іони

срібла в складі матеріалу покриття, чинять бактеріостатичну дію в порівнянні з контрольним зразком — гідроксиапатитним покриттям без протимікробних добавок. Найбільш ефективним виявилось трьохкомпонентне покриття на основі гідроксиапатиту, срібла та хітозану за рахунок синергійної протимікробної дії комплексу хітозан-срібло. Показано, що на початку експерименту концентрація мікробних клітин (С, КУО/мл) була однаковою і її логарифм (log С) дорівнював 7, а через 48 годин log С контрольного зразка, зразка з додаванням іонів срібла, зразка з додаванням хітозану та трьохкомпонентного зразка з додаванням срібла та хітозану становили 8,2, 7,8, 7,7 та 4,8 відповідно [27]. Можливим поясненням такого ефекту є перерозподіл позитивного заряду іонів срібла між атомами-донорами функціональних груп хітозану, в результаті чого відбувається делокалізація електронної густини по хелатному кільцю, що, в свою чергу, призводить до збільшення щільності ліпідного шару бактеріальної мембрани та порушення метаболізму клітини [28].

В науковій роботі [29] досліджено вплив наноструктурованого біоматеріалу на основі гідроксиапатиту з вмістом хітозану та іонів срібла на процес адгезії мікроорганізмів *E. coli* ATCC 25922 та *S. aureus* ATCC 25923 щодо формалізованих еритроцитів крові людини. В якості контролю був обраний гідроксиапатит без додавання протимікробних засобів. За результатами експерименту виявилось, що додавання іонів срібла знижує індекс адгезивності *E. coli* ATCC 25922 на 17 %, а хітозану — на 29 % в порівнянні з контрольним зразком. Індекс адгезивності *S. aureus* ATCC 25923 під дією іонів срібла зменшується на 13 %, а під впливом хітозану — на 22 %. [29]. Потрібно звернути увагу, що протимікробна активність біокомпозитного матеріалу з вмістом хітозану є прямо пропорційною концентрації хітозану, а при незначних концентраціях (10,0 і 20,0 г/л) хітозан сприяє проліферації остеобластів [30].

Відомо, що рідке (водне) середовище є необхідним для активної дії протимікробних засобів, тому гідрофобність чи гідрофільність є мірою їх антимікробної активності. Хітозан розчиняється тільки при значенні рН нижче за 6,5, що лімітує його застосування як протимікробного засобу. Нерозчинність хітозану у воді означає, що міжмолекулярні взаємодії в макромолекулі перевищують взаємодії в системі «CS — молекули води». Тому часто застосовують хімічну модифікацію хітозанових ланцюгів. Так, в результаті хімічної взаємодії між хітозаном та гліциділамоній хлоридом утворюється N-[1-гідрокси-3-(триметиламоній) пропіл] хітозан хлорид, який має четвертинні аміногрупи, імобілізовані в хітозановий ланцюг, що значно збільшує розчинність останнього у воді. Крім того, модифікований таким чином хітозан проявляє підвищену катіонну дію, має біоадгезивні властивості, посилений проникаючий ефект, високу ефективність проти бактерій та грибів навіть в нейтральних умовах. Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) модифікованого хітозану в порівнянні з немодифікованим зменшується в 2 рази щодо *P. gingivalis* та в 10 разів щодо *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans*, *S. mutans*, які належать до

домінантних бактеріальних штамів ротової порожнини [31]. Синтезовані похідні низькомолекулярного хітозану з вмістом галактози та маннози, приєднаних до полімеру через його аміногрупи, характеризувались кращою розчинністю та підвищеною протимікробною дією щодо *B. subtilis* [32]. Реакція алкілування хітозану в позиції С-2 з дисахаридами (лактоза, мальтоза) ефективно підвищує не тільки розчинність хітозану [33], а й антибактеріальну активність таких похідних хітозану при значеннях рН від 5,0 до 7,5 [34]. Модифіковані аміноетилловими групами хітозани з різною молекулярною масою показали значно вищу протимікробну активність щодо грамнегативного штаму *E. coli* порівняно з хітозаном, при цьому значення МІК залежало як від молекулярної маси хітозану, так і значення рН розчину. Найбільшу протимікробну активність проявляли хітозани з молекулярною масою, більшою 27 kDa, залежність від рН була складною, але оптимальне значення складало 6,5 [35].

Таким чином, із наведених відомостей щодо протимікробних властивостей хітозану можливо стверджувати про перспективність застосування даного полісахариду у якості ефективного протимікробного засобу. Заслугує також на увагу застосування хітозану в комбінації з гідроксиапатит-срібло антибактеріальними покриттями, утвореними на поверхні медичних імплантатів з використанням біоміметичних технологій [36]. Хітозан має значний потенціал для використання його в складі композиційних біоматеріалів з необхідними властивостями (пористістю, ступенем біодеградації) в практичній медицині, зокрема, для кісткової регенерації. Заслугує на увагу ще один перспективний напрямок, пов'язаний із здатністю CS зв'язуватися з молекулами ДНК [37, 38], що дає змогу отримувати біоматеріали, придатні для застосування в генній інженерії. Для повного і більш ефективного використання унікальних властивостей хітозану та його похідних в наномедицині необхідні подальші глибокі його дослідження.

References

- Hirano, S. Chitosan: a biocompatible material for oral and intravenous administration / S. Hirano, H. Seino, Y. Akiyama, I. Nonaka // Progress in biomedical polymers. – 1990. – New York: Plenum Press. – P. 283-290.
- Arcidiacono, S. Molecular weight distribution of chitosan isolated from *Mucor rouxii* under different culture and processing conditions / S. Arcidiacono, D.L. Kaplan // Biotechnology and Bioengineering. – 1992. – V. 39. – P. 281-286.
- Ravikumar, M. N. V. A review of chitin and chitosan application / M.N.V. Ravikumar // Reactive Functional Polymer. – 2000. – V. 46. – P. 1-27.
- Nejati Hafdani, F.A. Review on Application of Chitosan as Natural Antimicrobial / F. Nejati Hafdani, N. Sadeghinia // World Academy of Science. Engineering and Technology. – 2011. – V. 74. – P. 257-261.
- Mellegard, H. Antibacterial activity of chemically defined chitosans: Influence of molecular weight, degree of acetylation and test organism / H. Mellegard., S. P. Strand,

- B. E. Christensen, P. E. Granum, S. P. Hardy // International Journal of Food Microbiology. – 2011. – V.148. – P. 48-54.
- Pogorielov, M. V Trace elements sorption by the chitosan-based materials / Pogorielov M. V., Gusak Ye. V., Babich I. M., Kalinkevich O. V., Kalinkevich A. N., Somokhvalov I. I., Danilchenko S. N., Skliar A. M. // J. Clin. Exp. Med. Res. – 2014. – V. 2(1). – P. 88-99.
- Aimin, C. Antibiotic loaded chitosan bar. An in vitro and in vivo study of a possible treatment for osteomyelitis / C. Aimin, H. Chunlin, B. Juliang, Z. Tinyin, D. Zhichao // Clin. Orthop. – 1999. – V.366. – P. 239-247.
- Hu, S.G. Protein adsorption, fibroblast activity and antibacterial properties of poly(3-hydroxybutyric acid-co-hydroxyvaleric acid) grafted with chitosan and chitoooligosaccharide after immobilized with hyaluronic acid / S. G. Hu, C. H. Jou, M. C. Yang // Biomaterials. – 2003. – V. 24. – P. 2685-2693.
- Qiu, Yongzhi Chemically modified light-curable chitosans with enhanced potential for bone tissue repair / Qiu Yongzhi // J. Biomed. Mater. Res. A. – 2009. – V. 89(3). – P. 772-779.
- Duncanson, Erica Celox – A Hemostatic Agent. Biomedical Engineering [Електронний ресурс] Режим доступу : http://www.ele.uri.edu/courses/bme281/F09/EricaD_1.pdf
- Medtrade products ltd. [Електронний ресурс] Режим доступу: <http://www.celoxmedical.com/>
- Kong, M. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: A state of the art review / Ming Kong, Xi Guang Chen, Ke Xing, Hyun Jin Park // International Journal of Food Microbiology. – 2010. – V. 144. – P.51-63.
- Hernandez-Lauzardo, A. N. Antifungal effects of chitosan with different molecular weights on in vitro development of *Rhizopus stolonifer* / A. N. Hernandez-Lauzardo, S. Bautista-Banos, M. G. Velazquez-del Valle, M. G. Mendez-Montealvo, M. M. Sanchez-Rivera, L. A. Bello-Perez // Carbohydrate Polymers. – 2008. – V.73. – P.541-547.
- Chung, Ying-chien Relationship between antibacterial activity of chitosan and surface characteristics of cell wall / Ying-chien Chung, Ya-ping Su, Chiing-chang Chen, Guang Jia, Huey-lan Wang, J C Gaston Wu, Jaung-geng Lin // Acta Pharmacol Sin. – 2004. – V.25 (7). – P. 932-936.
- Ploux, L. Bacteria/material interfaces: role of the material and cell wall properties / L. Ploux, A. Ponche, K. Anselme // Journal of Adhesion Science and Technology. – 2010. – V.24, No 13-14. – P. 2165-2201.
- Liu, H. Chitosan kills bacteria through cell membrane damage / H. Liu, Y. Du, X. Wang, L. Sun // Int. J. Food Microbiol. – 2004. – V. 95. – P. 147-155.
- Kong, M. Antibacterial mechanism of chitosan microspheres in a solid dispersing system against *E. coli* / Kong M., Chen X. G., Liu C. S., Liu C. G., Meng X. H., Yu L. J // Colloids and Surfaces. B. Biointerfaces – 2008. – V.65. – P. 197-202.
- Raafat, D. Insights into the mode of action of chitosan as an antibacterial compound / D. Raafat, K. V. Bargaen, A. Haas, H. G. Sahl // Applied and Environmental Microbiology. – 2008. – V.74 – P. 3764-3773.
- Chung, Y. C. Antibacterial characteristics and activity of acid-soluble chitosan / Y. C. Chung, C. Y. Chen // J. Bioresour. Technol. – 2008 – V.99. – P.2806-2814.

20. Helander, I. M. Chitosan disrupts the barrier properties of the outer membrane of gram-negative bacteria / I. M. Helander, E. L. Nurmiäho-Lassila, R. Ahvenainen J. Rhoades, S. Roller // *Int. J. Food Microbiol.* – 2001. – V. 71. – P. 235-244.
21. Chen, Arh-Hwang The chemically crosslinked metal-complexed chitosans for comparative adsorptions of Cu(II), Zn(II), Ni(II) and Pb(II) ions in aqueous medium / Arh-Hwang Chen, Cheng-Yu Yang, Chia-Yun Chen, Chia-Yuan Chen, Chia-Wen Chen // *Journal of Hazardous Materials.* – 2009. – V.163. – P.1068-1075.
22. Wang, Xiaohui Preparation, characterization and antimicrobial activity of chitosan–Zn complex / Xiaohui Wang, Yumin Du, Hui Liu // *Carbohydrate Polymers.* – 2004. – V. 56. – P.21-26.
23. Higazy, Asha Development of antimicrobial jute packaging using chitosan and chitosan–metal complex / Asha Higazy, Mohamed Hashem, Ali El Shafei, Nihal Shaker, Marwa Abdel Hady // *Carbohydrate Polymers.* – 2010. – V.79. – P. 867-874.
24. Yanovska, A.A Silver doped hydroxyapatite coatings formed on Ti-6Al-4V substrates and their characterization / A. A. Yanovska, A. S. Stanislavov, L. B. Sukhodub, et al. // *Materials Science and Engineering C.* – 2014. – V. 36. – P. 215-220.
25. Noda, I. Next Generation Antibacterial Hydroxyapatite Coating: Antibacterial Activity of Ag Ions in Serum / I. Noda, F. Miyaji, Y. Ando, H. Miyamoto, et al. // *Bioceramics Development and Applications.* – 2011. – Vol. 1. – P. 1-3.
26. Diaz, M. Syntethis and Antimicrobial Activity of a Silver-Hydroxyapatite nanocomposite / M. Diaz, F. Barba, M. Miranda, M. Guitian // *J. Nanomater.* – 2009. – V. 11(55). – P. 498-505.
27. Sukhodub, L. B. Antimicrobial properties of hydroxyapatite coatings containing of chitosan and silver on titanium substrates in relation to microorganisms *E. coli ATCC 25922* / Sukhodub L. B. , Osolodchenko T. P., Yanovska A. A., et.al. // *Annals of Mechnikov Institute.* www.imiamn.org.ua /journal.htm – 2013. – N 1 – P. 66-73.
28. Warra, A. A. Transition metal complexes and their application in drags and cosmetics –A Review / A.A.Warra // *J.Chem. Pharm. Res.* – 2011. –V. 3(4). – P. 951-958.
29. Sukhodub, L. B. Investigation of the influence of antimicrobial components of the hydroxyapatite based biocomposites on microorganisms adhesive properties / L. B. Sukhodub, T. P. Osolodchenko, G. E. Khristyan, L. G. Schtiker, et al. // *Zaporozhye Medical Journal.* – 2014. – №2 (83). – P.112-114.
30. Song, Lei Antibacterial hydroxyapatite / chitosan complex coatings with superior osteoblastic cell response / Lei Song, Lu Gan, Yan-Feng Xiao, Yao Wu, Fang Wu , Zhong-Wei Gu // *Materials Letters.* – 2011. – V. 65. – P. 974 - 977.
31. Qiu Xia Ji In vitro evaluation of the biomedical properties of chitosan and quaternized chitosan for dental applications / Qiu Xia Ji, De Yu Zhong , Rui Lü , Wen Qing Zhang , Jing Deng , Xi Guang Chen // *Carbohydrate Research.* – 2009. – V.344 . – P.1297-1302.
32. Ilyina, A.V. Obtaining and study on monosaccharide derivatives of low molecular weight Chitosan / Ilyina A.V., Kulikov S.N., Chalenko G.I., Gerasimova N.G., Varlamov V.P. // *Journal of applied Biochemistry and Microbiology.* – 2008. – V. 44, N 5. – P.606-614.
33. Yang, T. C. Preparation, water solubility and rheological property of the N-alkylated mono and disaccharide chitosan derivatives / T. C. Yang, C. C. Chou, C. F. Li // *Food Research International.* – 2002. V. 35. – P.707-713.
34. Yang, T.C. Antibacterial activity of N-alkylated disaccharide chitosan derivatives / T. C. Yang, C. C. Chou, C. F. Li // *International Journal of Food Microbiology.* – 2005. – V. 97. – P. 237-245.
35. Xiangtao Menga Molecular weight and pH effects of aminoethyl modified chitosan on antibacterial activity in vitro / Xiangtao Menga, Rong Xing, Song Liua, Huahua Yua, et al. // *International Journal of Biological Macromolecules.* – 2012. – V. 50. – P. 918-924.
36. Volianskiy, Yu. L., Hydroxyapatite deposition from aqueous solution onto TiAlV and TiAlV covered with collagen by the thermal substrate method / Yu. L. Volianskiy. B. Sulkio-Cleff, V. V. Pilipenko, L. B. Sukhodub, L. F. Sukhodub // *Анали Мечниковського Інституту.* – 2006. – N 3. – P. 35-39.
37. Moran , M.C. Chitosan-DNA Particles for DNA Delivery: Effect of Chitosan Molecular Weight on Formation and Release Characteristics / M. C. Moran, T. Laranjeira, A. Ribeiro, M. G. Miguel, B. Lindman // *Journal of Dispersion Science and Technology.* – 2009. – V. 30. – P. 1494-1499
38. Moussa, S. N. Evaluation of fungal chitosans a biocontrol and antibacterial agent using fluorescence-labeling / S. H. Moussa, A. A. Tayel, A. I. Al-Turki // *Int.J.Biol.Macromol.* – 2013 – V. 54 – P. 204-208.

UDC 579.61:616.34-002

CHITOSAN: ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND PERSPECTIVES OF THE BIOMEDICAL APPLICATION

Sukhodub L.B.

In the last decades, serious attention is attracted by the use of natural antimicrobial drugs instead of the usual ones because of pathogens resistance to antibiotics. Chitosan (CS) is widely used as an antimicrobial agent owing to its high biodegradability, nontoxicity and antimicrobial properties. CS is a cationic polysaccharide obtained by partial deacetylation of chitin, the major component of crustacean shells. In last time cultivation of fungi provides an alternative source of the CS obtaining: Chitin makes up 45 % of the *A. niger* and *M. rouxii* cell wall content and up to 20 % of the *P. notatum* cell wall content. In contrast to other polymers, chitosan is a hydrophilic polymer with positive charge and has three types of functional groups: amino group at position C-2 in each deacetylated structural unit, as well as primary and secondary hydroxyl groups at C-6 and C-3 positions respectively. This causes its ability to form new hydrophilic medicals on the basis of known drugs, as well as the formation of drug release systems. CS is unique adsorbent and it is possible to combine it with another drugs. The natural ability of CS for gelation is used in the preparation of the hemostatic agent "Celox", that is effective for preventing fatalities when arterial bleeding occurs on the battlefield. The clotting of "Celox" occurs much faster than other hemostatic agents. Antimicrobial

activity of chitosan against many Gram-positive and Gram-negative bacteria, filamentous fungi and yeasts has been widely demonstrated in the scientific literature. There are some reported mechanisms for antibacterial activity: positively charged due to NH_3^+ groups Chitosan interact with negatively charged functional groups at the cell surface and compromise the cell wall or outer membrane. In the case of Gram-positive bacteria, lipoteichoic acid could provide a molecular linkage for chitosan at the cell surface, allowing it to disturb membrane functions. Lipopolysaccharides in the Gram-negative bacteria outer membrane are held together by electrostatic interactions with divalent metals. These cations may compete with CS, that also disturb the cell functions. Some authors reported that CS binds to DNA and inhibits RNA synthesis. Significant role in antibacterial activity belongs to the physical and chemical properties of Chitosan, including its cationic structure, molecular weight, degree of the deacetylation, concentration. Owing to the high content of amino and carboxyl groups, Chitosan can form chelate complexes with metals. Silver (Ag) ion antimicrobial activity against Gram-negative and Gram-positive bacteria is well known. Complexes Chitosan-Silver are used in medicine for example as part of the protective coatings on metal implants in dentistry and orthopedics in order to reduce the risk of postoperative infection. The antibacterial activity of the Silver-Chitosan-doped hydroxyapatite (HA) coating was examined using spectrophotometry by measuring the optical density of the culture medium *E.coli* ATCC 25922 containing the experimental samples. After 48

hours immersion of the substrate in medium, concentration of microbial cells (C, CFU/ml) was decreased from log 7 to log 4,8, what is evidence of the coating antibacterial activity. It was studied the ability of the biomaterials based on HA with Chitosan and Silver content to influence the adhesive properties of *E. coli* ATCC 25922 and *S. aureus* ATCC 25923. It was proved that under Ag^+ ions action, added to the coating material, the adhesive index for *E.coli* decreases in relation to formalinized ram erythrocytes on 17 % as compared to control sample (pure HA) and the adhesive index for *S. aureus* – on 13 %. Also was found that chitosan as a component of bioactive coating decreases the adhesive index *E. coli* on 29 %, and those for *S. aureus* on 22 %. Thus, from this short overview follows the conclusion that CS can be used in medicine as a very perspective antimicrobial agent. Also, application CS in combination with HA-Ag coatings on medical metal implants, using biomimetic technology should be taken to the attention. CS has a great potential for its using as a component of the composite biomaterial with all necessary properties (porosity, biodegradation, nontoxicity) in nanomedicine, particular for bone regeneration and stomatology. Once more direction is connected with a property of CS to bind with DNA, RNA and that open the possibility to create novel materials for gene therapy. But for more effective using all CS and its derivatives properties in practical medicine it's necessary to perform further deeper investigations.

Keywords: Chitosan, Gram-negative, Gram-positive microorganisms, antimicrobial activity.