
ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ЦИНКА НА БАКТЕРИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ

И.В. Бабушкина

Отдел лабораторной диагностики
ФГУ «СарНИИТО» Минздравсоцразвития РФ
ул. Чернышевского, 148, Саратов, Россия, 410002

Е.Г. Чеботарева, М. Эльбубу

Кафедра биохимии
ГОУ ВПО «СГМУ им. В.И. Разумовского» Минздравсоцразвития РФ
ул. Астраханская, 83, Саратов, Россия, 410012

С.Б. Орлов

Кафедра общей и биоорганической химии
ГОУ ВПО «СГМУ им. В.И. Разумовского» Минздравсоцразвития РФ
ул. Астраханская, 83, Саратов, Россия, 410012

Е.В. Бородулина

Лечебный факультет
ГОУ ВПО «СГМУ им. В.И. Разумовского» Минздравсоцразвития РФ
ул. Б. Казачья, 112, Саратов, Россия, 410012

В.Б. Бородулин

Кафедра биохимии и биофизики
ГОУ ВПО «СГМУ им. В.И. Разумовского» Минздравсоцразвития РФ
ул. Астраханская, 83, Саратов, Россия, 410012

Изучено антибактериальное действие наночастиц цинка на полиантибиотикорезистентных клинических штаммах бактерий, выделенных от больных с гнойными осложнениями травматолого-ортопедического стационара, показано бактерицидное действие на штаммы стафилококка.

Ключевые слова: наночастицы, цинк, бактерии.

Проблема инфекционных осложнений в травматологии и ортопедии обусловлена увеличением количества микроорганизмов, резистентных к большому числу противомикробных лекарственных средств, появляются сообщения о выделении мультирезистентных и панрезистентных штаммов бактерий в медицинских стационарах различного профиля во всем мире [1]. Актуальным представляется дальнейшее изучение бактерицидного и бактериостатического действия наночастиц металлов для поиска новых альтернативных антимикробных препаратов. Находясь в непосредственной близости к клетке, наноматериалы, не приводя ее к гибели, могут оказывать существенное влияние на функционирование ее биохимического и генетического аппаратов [2].

Дисбаланс (Fe + Zn)/Cu является одним из ключевых механизмов запуска свободнорадикального повреждения клеток — универсального механизма преждевременного старения клеток. Н.Н. Глущенко [3] было развито представление о су-

ществовании прямой зависимости между уровнем малонового диальдегида (МДА, один из основных показателей активности ПОЛ) в тканях и отношением металлов-активаторов (железо, медь) и ингибитора (цинк) ПОЛ. Железо и медь участвуют в цикле Хабера—Вайса, инициации, разветвлении и обрыве цепей липидов, а цинк выступает в качестве их функционального антагониста.

Развитие современных технологий позволяет получать наноразмерные структуры металлов. Сравнительное изучение антимикробной активности наночастиц серебра, меди, цинка и алюминия показало, что металлы тормозят рост клеток *E. coli* и ряд токсичности убывания следующий: $Cu > Ag > Zn > Al$ [4]. Немногочисленные работы свидетельствуют о значении физико-химических характеристик наночастиц в проявлении антибактериальных свойств.

Материал и методы исследования. В исследовании использовали наночастицы, полученные Саратовским плазмохимическим комплексом ФГУП РФ ГНЦ ГНИИ.

Исследования проводились на 30 штаммах *Staphylococcus aureus* и 30 штаммах *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных от больных с гнойными осложнениями и обладающих резистентностью к пяти и более профильным антибиотикам. Для получения необходимой концентрации вещества на аналитических весах готовили навеску наночастиц никеля, соответствующую 10 мг вещества и суспендировали ее в 1 мл физиологического раствора. Затем готовили последовательные разведения препарата до 10^{-3} мг/мл.

Для инокуляции использовали стандартную микробную взвесь, эквивалентную 0,1 ЕД по стандарту Мак-Фарланда, разведенную в 100 раз в изотоническом растворе. В пробирки с разведениями нанопорошка добавляли по 100 мкл суспензии (конечная концентрация — 300 000 КОЕ/мл) микроорганизмов. В качестве контроля использовали бактериальную взвесь в изотоническом растворе NaCl. Бактериальные взвеси после воздействия каждой концентрации нанопорошков в количестве 100 мкл высевали на чашки Петри с мясо-пептонный агаром, помещали в термостат на 24 часа при 37 °С, затем производили подсчет колоний. Готовили взвесь нанопорошка в 0,9%-м растворе NaCl в концентрациях, равных 0,001; 0,01; 0,1; 1 мг/мл. Проводили статистическую обработку материала с подсчетом средних значений (M), их среднеквадратичных ошибок (m) и уровня достоверности (p).

Результаты исследования и их обсуждение. Результаты подсчета количества колоний *Pseudomonas aeruginosa*, выросших на твердых питательных средах после 24-часовой инкубации, при воздействии различных концентраций наночастиц меди в течение 30—150 мин., а также результаты подсчета в контрольной группе представлены в табл. 1.

После воздействия наночастиц цинка на клинические штаммы *Pseudomonas aeruginosa* в концентрациях 0,001—1 мг/мл при времени воздействия до 180 мин. не отмечалось достоверного изменения количества колоний на твердых питательных средах.

Таблица 1

Антибактериальное действие различных концентраций наночастиц цинка на клинические штаммы *Pseudomonas aeruginosa*

Время воздейств., мин.	Количество колоний на твердых питательных средах ($M \pm m$)			
	контр. группа ($n = 30$)	опытные группы		
		1	2	3
		0,01 мг/мл ($n = 30$)	0,1 мг/мл ($n = 30$)	1 мг/мл ($n = 30$)
30	856,7 ± 31,0	920,1 ± 63,0	728,0 ± 83,7	876,4 ± 96,7
60	971,4 ± 75,1	771,9 ± 102,8	894,6 ± 23,5	908,3 ± 123,8
120	674,1 ± 44,9	874,7 ± 68,5	682,7 ± 81,5	795,5 ± 24,7
180	705,8 ± 50,1	958,8 ± 98,1	860,4 ± 50,5	678,3 ± 93,0

Также изучено действие различных концентраций наночастиц цинка на клинические штаммы *Staphylococcus aureus* в течение 30—180 мин.

Результаты подсчета колоний на плотных питательных средах (простом агаре) после высева 100 мкл суспензии бактерий, подвергавшихся действию наночастиц цинка и 24-часовой инкубации на плотной питательной среде, представлены в табл. 2.

Таблица 2

Антибактериальное действие различных концентраций наночастиц цинка на клинические штаммы *Staphylococcus aureus*

Время воздейств., мин.	Количество колоний на твердых питательных средах ($M \pm m$)			
	контр. группа ($n = 30$)	опытные группы		
		1	2	3
		0,01 мг/мл ($n = 30$)	0,1 мг/мл ($n = 30$)	1 мг/мл ($n = 30$)
30	789,7 ± 12,1	795,3 ± 51,9	895,9 ± 73,8	561,3 ± 37,5*
60	984,0 ± 18,5	993,1 ± 87,8	1016,7 ± 78,3	756,1 ± 81,2**
120	678,1 ± 17,8	784,2 ± 76,3	608,4 ± 58,4	387,8 ± 24,0***
180	981,5 ± 30,1	897,4 ± 105,7	1045,1 ± 95,5	437,3 ± 20,9***

Примечание: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

После воздействия наночастиц цинка на клинические штаммы золотистого стафилококка в концентрациях 0,01—0,1 мг/мл при времени воздействия до 180 мин. не отмечалось статистически достоверного изменения количества колоний на твердых питательных средах.

При увеличении концентрации наночастиц цинка до 1 мг/мл даже при инкубации в течение 30 мин. наблюдалось статистически достоверное уменьшение количества колоний на твердых питательных средах от 29 до 60% ($p < 0,05—0,001$).

Таким образом, наночастицы цинка в концентрациях 0,001—0,1 мг/мл не оказывают влияния на рост клинических штаммов, а в более высоких концентрациях 1—10 мг/мл обладают антимикробным действием в отношении клинических штаммов золотистого стафилококка.

Учитывая высокую активность наночастиц металлов, можно предположить, что железо, медь и цинк в ультрадисперсной форме при накожном применении

будут оказывать определенный биологический эффект на живой организм. В связи с наличием антибактериального действия перспективным представляется исследование особенностей ранозаживляющих свойств наночастиц металлов.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Белобородов В.Б. Актуальные аспекты антимикробной терапии хирургических инфекций // Инфекции в хирургии. — 2003. — № 1. — С. 28—30.
- [2] Арсентьева И.П., Зотова Е. С, Фолманис Г.Э. и др. Аттестация и применение наночастиц металлов в качестве биологически активных препаратов // Нанотехника. Спец. выпуск «Нанотехнологии-медицине». — 2007. — № 2 (10). — С. 72—77.
- [3] Глуценко Н.Н., Богословская О.А., Ольховская И.П. Физико-химические закономерности биологического действия высокодисперсных порошков металлов // Химическая физика. — 2002. — Т. 21(4). — С. 79—85.
- [4] Van Sprang P.A., Janssen C.R. Toxicity identification of metals: development of toxicity identification fingerprints // Environmental Toxicology and Chemistry. — 2001. — Vol. 20. — Iss. 11. — P. 2604—2610.

EFFECT OF ZINC NANOPARTICLES ON BACTERIAL CELLS

I.V. Babushkina

Laboratory and Functional Diagnostics Department
FGU “SarNIITO Rosmedtechnology”
Chernyishevskogo str., 148, Saratov, Russia, 410002

E.G. Chebotareva, M. Elbudu

Biological Chemistry Department
GOU VPO “SGMU Roszdrava”
Bolshaya Kazachya str., 112, Saratov, Russia, 410012

S.B. Orlova

Laboratory and Functional Diagnostics Department
FGU “SarNIITO Rosmedtechnology”
Chernyishevskogo str., 148, Saratov, Russia, 410002

E.V. Borodulina

Medical Department
GOU VPO “SGMU Roszdrava”
Bolshaya Kazachya str., 112, Saratov, Russia, 410012

V.B. Borodulin

Biological Chemistry Department
GOU VPO “SGMU Roszdrava”
Bolshaya Kazachya str., 112, Saratov, Russia, 410012

Antibacterial activity of nanoparticles of zinc on the clinical strains poliantibiotic resistant bacteria isolated from trauma- and orthopedic patients with purulent complications was studied. Bactericidal activity against strains of *Staphylococcus aureus* is shown.

Key words: nanoparticles, zinc, bacteria.