

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ С СОЕДИНЕНИЯМИ МЕТАЛЛОВ НА ПРИМЕРЕ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА АЛЮМИНИЯ

М.В. Фомина*, Е.А. Михайлова, С.Б. Кургизова,
Л.М. Азнабаева, О.О. Жеребятьева

Оренбургский государственный медицинский университет

РЕЗЮМЕ. Открытие факта образования микробных биоплёнок является одним из наиболее важных достижений медицинской и клинической микробиологии последних лет. По некоторым данным более чем в 80% случаев инфекционных заболеваний возбудитель образует биопленки, нахождение в которых обеспечивает значительные преимущества по сравнению с изолированными клетками, способствует появлению в популяции так называемых «персистеров». Исследованию проблемы влияния различных факторов на биоплёнкообразование как патогенных, так и условно-патогенных микроорганизмов посвящено значительное количество работ. Наряду с этим в литературе активно обсуждаются биологические свойства наночастиц, размеры которых в 10–30 раз меньше *Escherichia coli*. Особое внимание исследователей привлекает оксид алюминия, применение которого связано с косметологической и медицинской сферами. Пролонгированное действие биологически активных частиц металлов связывают с наличием на их поверхности защитной оксидной плёнки, предотвращающей быстрое растворение металла-основы. Однако влияние наноразмерных частиц на процессы формирования микробных биоплёнок недостаточно изучено. В данной работе исследовано влияние наночастиц оксида алюминия на процесс образования микробных биоплёнок *Escherichia coli*, выделенных от больных с хроническим пиелонефритом. Показано, что при воздействии наноразмерного оксида алюминия (30 и 70 нм) на клоны *E. coli* происходит снижение микробной обсеменённости независимо от концентрации частиц. Установлено, что при воздействии наночастиц окиси алюминия, в первую очередь размером 30 нм, на штаммы *E. coli* происходит подавление способности последних к образованию микробных биоплёнок. Полученные результаты исследования показали перспективность дальнейшего изучения воздействия металлических наноструктур на микробиологические объекты.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: наночастицы, окись алюминия, микробные биоплёнки.

ВВЕДЕНИЕ

Открытие факта образования микробных биоплёнок является одним из наиболее важных достижений медицинской и клинической микробиологии последних лет. По некоторым данным более чем в 80% случаев инфекционных заболеваний возбудитель образует биопленки (Пронина др., 2010), нахождение в которых обеспечивает последним значительные преимущества по сравнению с изолированными клетками, и способствует появлению в популяции так называемых «персистеров». Исследованию проблемы влияния различных факторов на биоплёнкообразование как патогенных, так и условно-патогенных микроорганизмов посвящено значительное количество работ (Голуб, 2012). Наряду с этим в литературе активно обсуждаются биологические

свойства наночастиц, размеры которых в 10–30 раз меньше *Escherichia coli* (Фомина, 2011).

Особое внимание исследователей привлекает оксид алюминия, применение которого связано с косметологической и медицинской сферами. Оксид алюминия нередко добавляют в пасту для чистки зубов, шампуни, мыло, примешивают к солнцезащитным средствам, питательным и увлажняющим кремам и пр. (Напольский, 2008). Окись алюминия используют в производстве вакцинальных препаратов, адсорбентов, металлокерамических изделий. Пролонгированное действие биологически активных частиц металлов связывают с наличием на их поверхности защитной оксидной плёнки, предотвращающий быстрое растворение металла-основы (Бабушкина и др., 2011). Однако влияние наноразмерных

* Адрес для переписки:

Фомина Марина Викторовна
E-mail: fomina_m.v@mail.ru

частиц на процессы формирования микробных биоплёнок недостаточно изучено и может представлять значительный интерес как для теоретической, так и для практической медицины.

Цель исследования – изучение влияния наночастиц оксида алюминия на процесс образования микробных биоплёнок *E. coli* в условиях *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве объектов исследования были использованы клинические штаммы *E. coli*, выделенные от больных с хроническим пиелонефритом. Анализ показателя микробной обсеменённости (ПМО) выполнен по методу секторных посевов (Фельдман, 1984). Суспензия бактерий приготовлена по стандарту мутности (Леонов, 2012). Использована взвесь наночастиц металла размером 30 и 70 нм в концентрации: 5, 10 и 15 мкг/мл. Учёт плотности биоплёнокообразования после культивирования *E. coli* с нанопорошком оксида алюминия, имеющего размер 30 и 70 нм, выполнен с помощью универсального анализатора «Multiscan Ascent» (Финляндия). Наночастицы, представляющие смесь *дельта*- и *тетра*-фаз оксида алюминия, преимущественно сферической формы, были предоставлены фирмой «Плазмотерм» (Москва).

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием программы «StatPlus v5», EXCEL 2007 общепринятыми методами вариационной статистики (нахождение выборочных средних и ошибок средних значений ($M \pm m$), стандартного отклонения ($M \pm \sigma$)). Проверка законов нормального распределения выполнена с помощью критерия Колмогорова–Смирнова. Оценку статистической значимости различий между группами проводили с помощью *t*-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ микробной обсеменённости после культивирования *E. coli* с наночастицами окиси алюминия размером 30 и 70 нм выявил тенденцию к снижению бактериальной обсеменённости независимо от концентрации частиц в эксперименте по сравнению с контрольной группой с $5 \cdot 10^6$ КОЕ/мл до 10^3 КОЕ/мл и $5 \cdot 10^5$ КОЕ/мл соответственно.

Исследование влияния наночастиц окиси алюминия на *E. coli* выявило прямую зависимость между процессом плёнкообразования, размером и концентрацией наночастиц. Так, в эксперименте с наночастицами размером 30 нм и концентрацией 5 и 10 мкг/мл оптическая плотность была на $22,7\% \downarrow$ ($0,34 \pm 0,06$ ед. оп) и $29,5\% \downarrow$ ($0,31 \pm 0,05$ ед.

оп) соответственно ($p < 0,05$). Оптическая плотность проб с концентрацией 15 мкг/мл была на $50\% \downarrow$ ($0,22 \pm 0,04$ ед. ОП) по сравнению с контролем ($0,44 \pm 0,09$ ед. оп) ($p < 0,05$). Подобная тенденция имела место и в исследовании с наночастицами оксида алюминия размером 70 нм. Так, в эксперименте наночастицы в концентрации 0,01 и 0,005 мкг/мл снижали плотность плёнкообразования на $15,9\%$ ($0,37 \pm 0,01$ ед. оп). В пробах с концентрацией частиц 0,015 мкг/мл способность к биоплёнокообразованию снижалась на $18,2\%$ ($0,36 \pm 0,03$ ед. оп) ($p < 0,05$).

Таким образом, наночастицы оксида алюминия размерностью 30 нм показали более высокую способность к подавлению образования микробных биоплёнок *E. coli*.

ВЫВОДЫ

Воздействие наноразмерного оксида алюминия (30 и 70 нм) после культивирования с *E. coli*, привело к снижению микробной обсеменённости независимо от концентрации частиц. Наряду с этим отмечено снижение способности к образованию микробных биоплёнок *E. coli* под воздействием наночастиц, в первую очередь размером 30 нм, что делает перспективным дальнейшее изучение воздействия металлических наноструктур на биологические объекты микроорганизмов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

Бабушкина И.В., Боровский А.Л., Мареев А.В. Влияние наночастиц металлов на плазмидную ДНК энтеробактерий. Вестник новых медицинских технологий. 2011. Т. XVIII. №2. С.511-512.

(Babushkina I.V., Borovskii, A.L., Mareev, A.V. Influence of metal nanoparticles on plasmid DNA enterobacteria. Bulletin of new medical technologies. 2011, 18(2): 511-512 [In Russ.].)

Голуб А.В. Бактериальные биопленки – новая цель терапии? Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2012. Т. 14. № 1. С. 23–29.

(Golub V.A. Bacterial biofilms – a new target of therapy? Clinical Microbiology and antimicrobial chemotherapy. 2012, 4(1): 23-29 [In Russ.].)

Леонов В.В. Количественная оценка способности условно-патогенных микроорганизмов к образованию биопленки в эксперименте. Клиническая лабораторная диагностика. 2012. №10. С.57-59.

(Leonov V.V. The quantitative evaluation of the ability of pathogenic microorganisms to the biofilm formation in the experiment. Clinical laboratory diagnostics. 2012, 10: 57-59 [In Russ.].)

Напольский К.С. Синтез пространственно упорядоченных металл-оксидных нанокмозитов на основе пористого Al_2O_3 : монография под ред. А.Р. Кауля. М.: Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова. 2008. 211 с.

(Napolskii K.S. Synthesis of spatially ordered metal-oxide for decomposition based on porous Al_2O_3 : monograph ed. by

A.R. Kaul. M.: Moscow state University. M. V. Lomonosov, 2008 [In Russ.].

Пронина Е.А., Швиденко И.Г., Шуб Г.М. Формирование бактериальных биоплёнок под воздействием электромагнитного излучения. Фундаментальные исследования. 2010. №10. С.40-44.

(Pronina E.A., Shvidenko I.G., Shub G.M. Formation of bacterial biofilms under the influence of electromagnetic radiation. Basic research. 2010, 10: 40-44 [In Russ.].)

Фельдман Ю.М. Количественное определение бактерий в клинических материалах. Лабораторное дело. 1984. №10. С.616-619.

(Feldman, J.M. Quantitative determination of bacteria in clinical materials. Laboratory work. 1984, 10: 616-619 [In Russ.].)

Фомина М.В., Кван О.В., Сизенцов А.Н. Анализ совместного использования пробиотических препаратов и железа с различными физико-химическими свойствами в эксперименте. Вестник Оренбургского государственного университета. 2011. №12(131). С.442-444.

(Fomina M.V., Kvan O.V., Sizintsev A.N. The analysis of joint usage of probiotic preparations and iron with various physical and chemical properties in experiment. Vestnik Orenburg State University. 2011, 12(131): 442-444 [In Russ.].)

THE INTERACTION OF ENTEROBACTERIA WITH METAL COMPOUNDS, FOR EXAMPLE NANOPARTICLES OF ALUMINUM OXIDE

M.V. Fomina, E.A. Mikhailova, S.B. Kirgizova, L.M. Aznabaeva, O.O. Zherebyatyeva

Orenburg State Medical University, Sovetskaya St., 6, Orenburg, 460000, Russia

ABSTRACT. The discovery of the fact of microbial biofilm formation is one of the most important achievements of medical and clinical microbiology in recent years. According to some reports, in more than 80% cases of infectious diseases the pathogen forms a biofilm that provide it substantial advantages compared with isolated cells, contribute to emergence of populations of so-called «persisters». A significant amount of work has been devoted to studying the problem of the influence of various factors on the biofilm formation by pathogenic and opportunistic microorganisms. Along with this, the biological properties of nanoparticles, whose sizes are 10-30 times smaller than *Escherichia coli*, are actively discussed in the literature. Special attention of researchers is attracted by aluminium oxide, the use of which is associated with cosmetic and medical fields. The prolonged action of biologically active particles of metals is associated with the presence on their surface of a protective oxide film, preventing rapid dissolution of the base metal. However, the influence of nanoscale particles on the processes of microbial biofilms formation is not well known and can be of great interest for both theoretical and practical medicine. This work studied the influence of nanoparticles of aluminum oxide on the bioincubation of *E. coli* isolated from patients with chronic pyelonephritis. It was shown that nanosized aluminum oxide (30 and 70 nm particles) reduced microbial content of *E. coli* clones regardless of the particles concentration. It was found that influence of aluminium oxide nanoparticles, first the 30 nm ones, suppressed the ability of *E. coli* strains to form microbial biofilms. The obtained results showed the promise of further investigations of the influence of metal nanostructures on microbiological objects.

KEYWORDS: nanoparticles, aluminum oxide, microbial biofilm.