

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЙ ЭФФЕКТ НАНОЧАСТИЦ ОКСИДА ЦИНКА ПО ОТНОШЕНИЮ К *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Довнар Р. И.¹, Смотров С. М.¹, Ануфрик С. С.², Анучин С. Н.²

¹Гродненский государственный медицинский университет, г. Гродно, Беларусь

²Гродненский государственный университет им. Я.Купалы, г. Гродно, Беларусь

Актуальность. Достижения современной нанотехнологии открывают перед человечеством широкие новые возможности в сфере синтеза, изучения и последующего применения нового класса веществ в биомедицинской науке и практике. Многие ученые считают, что отправной точкой для построения данного класса веществ являются именно наночастицы металлов, которые предварительно следует досконально изучить. Наночастицами считаются образцы, размеры которых лежат в пределах нанометрового диапазона – от 1 до 100 нм. Именно малые размеры обуславливают большую площадь соприкосновения с окружающей средой и как результат – высокую реакционную способность и уникальные, нередко заранее непредсказуемые физические, химические, биологические и другие свойства [1].

Наночастицы оксида цинка характеризуются не только большой удельной площадью поверхности, но и высокой поверхностной энергией, что обуславливает отличающиеся от цельного металла свойства, как например, антистатические и блокирующие ультрафиолет [2]. В связи с этим представляет интерес изучить возможное наличие антимикробных свойств по отношению к полиантибиотикорезистентным штаммам грамположительных бактерий.

Цель – оценить наличие противомикробных свойств у наночастиц оксида цинка по отношению к клиническому патогенному штамму золотистого стафилококка.

Материалы и методы исследования. Используемые в работе наночастицы оксида цинка были синтезированы в УО «Гродненский государственный университет имени Я. Купалы» методом лазерной абляции в жидкости по отработанной методике [3]. Цинковой мишенью стал стержень из чистого (99,9 %) металлического цинка. Степень чистоты проверялась на рентгенофлуоресцентном анализаторе ElvaX.

В качестве экспериментального микроорганизма был взят клинический патогенный штамм *Staphylococcus aureus*, высеянный из гнойной раны хирургического пациента УЗ «Гродненская университетская клиника». Идентификация, типирование и определение антибактериальной чувствительности микроорганизма производились на микробиологическом анализаторе Vitek 2 Compact фирмы «BioMérieux».

Антибактериальную активность наночастиц оксида цинка тестировали диско-диффузионным методом, основанным на оценке диаметра зоны задержки роста вокруг бумажного диска с изучаемым веществом, наложенного на растущую на плотной питательной среде культуру исследуемого микроорганизма. Используемые бумажные диски имели диаметр 6 мм из плотной впитывающей бумаги плотностью 290 г/м².

Были приготовлены взвеси наночастиц в убывающей концентрации, в

которых пропитывались бумажные диски. Стерилизацию последних осуществляли методом автоклавирования. На агаровую пластинку чашки Петри производили засев микроорганизма. Инокулят последнего готовили из чистой 20-часовой культуры бактерий, выросшей на поверхности плотной питательной среды. Для этого производили суспендирование в физиологическом растворе. Концентрацию суспензии из агаровой культуры контролировали по стандарту мутности 0,5 по Мак Фарланду, соответствующему $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл. Затем чашки с засеянным микробом подсушивали в термостате при $37,0^\circ\text{C}$ в течение 15 минут. На одной чашке испытывали не более 6 дисков. Стерильный бумажный диск захватывали стерильным пинцетом и накладывали на поверхность питательного агара, засеянного микробом на одинаковом расстоянии один от другого и на расстоянии приблизительно 20 мм от края чашки Петри. Чашку с микроорганизмом и бумажными дисками, перевернутую кверху дном, помещали в термостат при температуре $37,0^\circ\text{C}$ на 24 часа.

Учет зон задержки роста производили в отраженном свете в чашках, размещенных кверху дном на темной матовой поверхности при падении искусственного света под углом 45 градусов. С помощью линейки измеряли диаметр зон задержки роста вокруг дисков со стороны микробного газона, включая диаметр самих дисков, с точностью до одного миллиметра.

С целью предотвращения возможной конгломерации непосредственно перед применением взвесь наночастиц оксида цинка дополнительно диспергировали в ультразвуковой ванне «Сапфир» УЗВ-2,8 ТТЦ (РМД) в течение 10 минут.

Результаты. Ключевой момент метода бумажных дисков – обнаружение вокруг последних зоны задержки роста изучаемого микроба при наличии антибактериальных свойств у тест-вещества. Образование зоны ингибирования роста происходит за счет диффузии изучаемого препарата из диска в питательную среду, при которой величина диаметра ингибирования роста жестко связана с величиной минимальной ингибирующей концентрации.

Наличие зоны ингибирования четко указывает на антибактериальный эффект наночастиц оксида цинка. Данные, представленные в таблице 1, показывают, что минимальная концентрация наночастиц ZnO, которая подавляла рост бактерий, составляет для *Staphylococcus aureus* 0,156 мг/мл. С другой стороны, как видно из таблицы 1, при увеличении концентрации наночастиц оксида цинка на дисках также усиливается ингибирование микробного роста.

Таким образом, наночастицы оксида цинка обладают выраженным антибактериальным эффектом по отношению к полиантибиотикорезистентному клиническому штамму золотистого стафилококка, при этом минимальная ингибирующая концентрация наночастиц данного металла на диске, вызывающая ингибирование роста составляет 0,156 мг/мл.

Таблица – Зоны задержки роста *Staphylococcus aureus* после 24-часовой инкубации в термостате при 37,0°C при разных концентрациях наночастиц оксида цинка

Концентрация наночастиц ZnO на диске, мг/мл	Зона ингибирования роста, мм
5	19
2,5	16
1,25	14
0,625	12
0,312	10
0,156	9
0,078	0
0,039	0
0,0195	0
0,00975	0
Контроль	0

Выводы:

1. Наночастицы оксида цинка обладают выраженным противомикробным действием по отношению к клиническим патогенным штаммам *Staphylococcus aureus*.

2. Результаты эксперимента не позволяют раскрыть механизм действия наночастиц оксида цинка, однако среди возможных его вариантов предполагается образование активных форм кислорода.

3. В случае наличия у пациента полиантибиотикорезистентной флоры наночастицы оксида цинка представляют собой достойную альтернативу применению антибиотиков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Hosseini S. F. et al. Fabrication of bio-nanocomposite films based on fish gelatin reinforced with chitosan nanoparticles // Food hydrocolloids. – 2015. – Vol. 44. – P. 172–182.

2. Rouhi J. et al. Physical properties of fish gelatin-based bio-nanocomposite films incorporated with ZnO nanorods // Nanoscale research letters. – 2013. – Vol. 8. – P. 364.

3. Довнар Р. И., Смотровин С. М., Ануфрик С. С. Гидроскрепленный нетканый серебросодержащий материал в лечении асептических ран // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. – 2018. – Т. 16, № 4. – С. 408–413.