

  
На правах рукописи

Мамонова Ирина Александровна

**ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ПЕРЕХОДНОЙ ГРУППЫ МЕТАЛЛОВ НА  
АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫЕ ШТАММЫ МИКРООРГАНИЗМОВ**

03.02.03 – микробиология

Автореферат  
диссертации на соискание учёной степени  
кандидата биологических наук

28 НОЯ 2013



005539631

Москва - 2013

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении «Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

**Бородулин Владимир Борисович**

доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой биохимии ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского» Минздрава России

**Научный консультант:**

**Бабушкина Ирина Владимировна**

кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник ФГБУ «СарНИИТО» Минздрава России

**Официальные оппоненты:**

**Пхакадзе Тамара Яковлевна**

доктор медицинских наук, заведующая лабораторией микробиологии ФГБУ «ЦИТО» Минздрава России

**Осипова Ирина Григорьевна**

доктор биологических наук, профессор, зам. начальника управления УЭЛС №1 ЦЭК ГЛС ФГБУ «НЦ ЭСМП» Минздрава России

**Ведущая организация:** Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Южный федеральный университет» Министерства образования и науки Российской Федерации

Защита состоится 18.12 2013 года в 18:00 часов на заседании диссертационного совета по защите докторских и кандидатских диссертаций Д 212.203.05 при ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов» Минобрнауки РФ по адресу: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.8.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов» Минобрнауки РФ по адресу: 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, д.6.

Автореферат разослан «14» 11 2013 г.

Учёный секретарь диссертационного совета  
кандидат биологических наук, доцент



Гигани О.Б.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы.

Ежегодно в странах Европейского союза около 25 тыс. человек умирают от инфекций, вызванных антибиотикорезистентными штаммами микроорганизмов (Codex Alimentarius Commission, 2010). Повсеместное применение антибактериальных препаратов для лечения заболеваний различной этиологии способствует селекции и диссеминации антибиотикорезистентных микроорганизмов, что приводит к увеличению случаев гнойно-септических заболеваний (Козлов Р.С., 2010).

В структуре общей хирургической патологии гнойно-воспалительные заболевания достигают 30 %. При этом более 20 % всех гнойных заболеваний относятся к тяжелым гнойно-септическим поражениям конечностей (Чолахян А. В., 2013). Одним из факторов, ухудшающих результаты лечения данной группы пациентов, является лекарственная резистентность возбудителей (Рахимов Б.М., Коровин О.А., 2013).

Основными возбудителями гнойно-септических процессов у пациентов травматолого-ортопедического профиля являются стафилококки, которые выделяются в 49 – 60 % случаев (Гостев В.В. и соавт., 2008; Божкова С.А. и соавт., 2009; Рахимов Б.М., Коровин О.А., 2013).

Наряду с золотистым стафилококком, важную роль отводят коагулазоотрицательным стафилококкам и, в первую очередь, *Staphylococcus epidermidis*. Частота выделения *S. epidermidis* у пациентов с осложнениями опорно-двигательного аппарата составляет 6,3 – 15,1 % (Божкова С.А., 2011).

Второе место среди возбудителей гнойно-воспалительных осложнений у пациентов травматолого-ортопедического профиля занимают грамотрицательные бактерии, которые встречаются в 11 - 33 % случаев, из них неферментирующие, в том числе *Pseudomonas aeruginosa*, составляют 54 - 63%, энтеробактерии, в том числе *Escherichia coli*, – 28 – 36 % (Гостев В.В. и соавт., 2008; Божкова С.А. и соавт., 2009; Рахимов Б.М., Коровин О.А., 2013).

Быстрое формирование устойчивости микроорганизмов к антибиотикам диктует необходимость поиска новых, альтернативных антимикробных препаратов (Najirouq M.J. et al., 2013). В этом отношении металлы в виде наночастиц являются одним из перспективных претендентов на создание нового класса антибактериальных средств, поскольку они обладают низкой токсичностью, пролонгированным действием; в биотических дозах стимулируют функциональную активность ферментных систем (Глущенко Н.Н. и соавт., 2006). Нанопорошки металлов обладают бактериостатическим и бактерицидным действием. Показана высокая антибактериальная активность наночастиц серебра в отношении антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов (Singh M. et al., 2004; Sondi I., Salopek-Sondi B., 2004; Pal S. et al., 2007). Серебро относится к переходным металлам, к группе элементов побочной подгруппы I – VIII групп Периодической системы химических элементов Д.И. Менделеева, в атомах которых появляются электроны на

d- и f-орбиталях. Незавершенность внутренних электронных оболочек предопределяет наличие у переходных металлов ряда общих специфических свойств, таких как небольшие значения электроотрицательности, переменная степень окисления и другие. Наряду с серебром к d-переходным элементам относятся 37 металлов побочной подгруппы. В настоящее время антибактериальная активность наночастиц меди, диоксида титана и никеля изучена на музейных штаммах микроорганизмов (Биркина А.И., 2006; Луцаева И.В., 2009; Cioffi N. et al., 2005; Yoon K. et al., 2007; Kumar H. et al., 2010).

В связи с этим актуальным является изучение антибактериальной активности d-элементов группы переходных металлов в отношении антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов, выделенных от пациентов травматолого-ортопедического стационара с целью их дальнейшего применения в качестве антибактериальных агентов.

В ряде работ, посвященных изучению свойств наночастиц металлов, показана зависимость антибактериальной активности от физических характеристик наноматериала (Андрусишина И.Н., 2011; Рахметова А.А., 2011). Антибактериальная активность наночастиц связана с их размерами, с большой удельной площадью, которая обеспечивает высокую химическую активность и способность проникать внутрь организма. В связи с этим необходимо провести исследования физико-химических параметров наночастиц металлов для их дальнейшего применения в качестве антибактериальных агентов.

**Цель исследования** - изучение влияния наночастиц меди, никеля, титана и марганца на антибиотикорезистентные штаммы бактерий (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*), выделенные от пациентов травматолого-ортопедического стационара.

#### **Задачи исследования**

1. Исследовать физико-химические свойства нанопорошков меди, никеля, титана и марганца (химический состав поверхности наночастиц, способность к агрегации, размер наночастиц и их агрегатов).

2. Изучить и провести сравнительную оценку антибактериального действия суспензии высокодисперсных порошков меди, никеля, титана и марганца в отношении антибиотикорезистентных штаммов бактерий (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*), выделенных от пациентов травматолого-ортопедического стационара.

3. Оценить характер воздействия суспензии нанопорошков металлов на биохимические показатели жизнедеятельности клинических антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*).

4. Изучить чувствительность к антибиотикам антибиотикорезистентных штаммов грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, выделенных от пациентов травматолого-ортопедического стационара до и после воздействия наночастиц металлов.

### **Научная новизна работы**

В результате проведенных исследований показана активность наночастиц переходной группы металлов в отношении клинических антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов. Полученные данные углубляют теоретические представления о многостороннем воздействии наночастиц переходной группы металлов на бактериальную клетку, об особенностях чувствительности клинических антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов к наночастицам меди, никеля, титана с определенными физико-химическими свойствами.

Впервые в экспериментах *in vitro* доказан антибактериальный эффект наночастиц меди, никеля, титана и марганца различной степени выраженности, зависящий от их концентрации и времени воздействия, а также от вида микроорганизмов.

Впервые показано, что наночастицы марганца проявляют низкую антибактериальную активность в отношении клинических штаммов бактерий.

Показано, что после воздействия наночастиц меди на антибиотикорезистентные штаммы *E. coli* восстанавливается чувствительность бактерий к ампициллину, амоксициллину/клавуланату, гентамицину, а после воздействия на антибиотикорезистентные штаммы *P. aeruginosa* - к цефтазидиму.

Установлено влияние наночастиц меди, никеля, титана и марганца на ферментативную активность микроорганизмов.

### **Практическая значимость работы**

Доказанная *in vitro* антибактериальная активность наночастиц металлов (меди и никеля) создает основу для дальнейших исследований на лабораторных животных с целью последующего клинического использования наночастиц в качестве антимикробных агентов, препятствующих распространению антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов.

Разработан «Способ повышения чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (заявка № 2013118376 от 19.04.2013г.).

### **Основные положения, выносимые на защиту**

1. Наночастицы переходной группы металлов (меди и никеля) с изученными физико-химическими свойствами обладают высокой антибактериальной активностью в отношении клинических антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов, имеющей, как правило, время- и дозозависимый характер.

2. Наночастицы титана и марганца с изученными физико-химическими свойствами обладают слабой антибактериальной активностью в отношении клинических антибиотикорезистентных штаммов *S. epidermidis*, наночастицы титана в некоторых случаях проявляют ростстимулирующее действие.

3. Под влиянием наночастиц меди, никеля, титана и марганца происходят изменения ферментативных свойств клинических антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов, в большинстве случаев затрагивающие их сахаролитическую активность.

4. Чувствительность клинических антибиотикорезистентных штаммов *E. coli* и *P. aeruginosa* к некоторым антибактериальным препаратам восстанавливается под воздействием наночастиц меди.

#### **Личный вклад автора в результаты исследования**

Состоит в разработке и проведении экспериментальных исследований на всех этапах диссертационной работы, интерпретации полученных результатов, подготовке публикаций.

#### **Апробация работы**

Материалы диссертации доложены на заседаниях научного общества специалистов клинической лабораторной диагностики (Саратов 2011, 2013); научно-практической конференции молодых учёных «Актуальные вопросы травматологии, ортопедии, нейрохирургии и вертебрологии» (Саратов, 2012); заседании научного общества «Ассоциации травматологов и ортопедов» (Саратов, 2011, 2012); Всероссийской научно-практической конференции «Технологии оптимизации процесса репаративной регенерации в травматологии, ортопедии и нейрохирургии» (Саратов, 2013); XV Международном конгрессе МАКМАХ по антимикробной терапии (Москва, 2013).

#### **Объем и структура диссертации**

Диссертация изложена на 173 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, главы «Материал и методы исследования» и пяти глав собственных наблюдений, главы обсуждения результатов исследования, выводов и списка используемых источников литературы, включающего 173 источника, из них 71 отечественный и 102 иностранных. Работа иллюстрирована 24 таблицами и 21 рисунком.

#### **Публикации**

По теме диссертации опубликовано 15 работ, из которых 8 опубликовано в журналах, рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ; подана 1 заявка на изобретение.

#### **Внедрение в практику**

Полученные результаты внедрены в научно-исследовательскую работу отдела фундаментальных и клиничко-экспериментальных исследований ФГБУ «СарНИИТО» Минздрава России и центра коллективного пользования научным оборудованием в области физико-химической биологии и нанобиотехнологии «Симбиоз» ФГБУ ИБФРМ РАН, а также в учебный процесс (лекции и практические занятия) кафедры микробиологии и физиологии растений ГБОУ ВПО «Саратовский государственный университет им. Н.Г.Чернышевского» Минобрнауки России.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

### Материалы и методы исследования

В работе использовали наночастицы переходной группы металлов: меди, никеля, титана и марганца (ТУ 1733-056-00209013-2008), синтезированные на плазмохимическом комплексе филиала ФГУП РФ «Государственный научно-исследовательский институт химии и технологии элементоорганических соединений» (ФГУП РФ ГНЦ ГНИИХТЭОС, г. Москва).

Химический состав поверхности наночастиц металлов определяли при помощи сканирующего Оже-микронзонда SAM PHI-4300 (PC-Service, Германия). Измерения дзета-потенциала и среднего гидродинамического размера агрегатов частиц на приборе Malvern Zetasizer Nano (Malvern, Великобритания). Точные размеры наночастиц металлов определяли на сканирующем электронном микроскопе «Tescan Mira II LMU» (Tescan, Чехия) и трансмиссионном электронном микроскопе «LIBRA 120» (Carl Zeiss Jena, Германия).

В исследовании использовали антибиотикорезистентные штаммы микроорганизмов ( $n=60$ ), выделенные из раневого отделяемого пациентов с посттравматическими и послеоперационными осложнениями, находившихся на лечении в ФГБУ «Саратовский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии» Минздрава России: *E. coli* ( $n=20$ ), *S. epidermidis* ( $n=20$ ), *P. aeruginosa* ( $n=20$ ). Микроорганизмы идентифицировали на микробиологическом анализаторе BD BBL™ Crystal™ AutoReader (Becton Dickinson, США) с применением панелей Crystal™ Enteric/Nonfermenter ID Kit (Becton Dickinson, США), Crystal™ Gram-Positive ID Kit (Becton Dickinson, США).

Исучаемые штаммы микроорганизмов тестировали в отношении профильных антибиотиков в соответствии с МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам». В исследовании использовали питательную среду Mueller-Hinton-Agar (Becton Dickinson, США) и сенси-диски с антибиотиками (Becton Dickinson, США). Для подтверждения метициллинрезистентности штаммов *S. epidermidis* использовали набор «MeReSa Agar Base, MRSA Alert™» (Hi Media, Индия).

Изучение антибактериальной активности наночастиц металлов проводили в соответствии с МУ 1.2.2634-10 «Микробиологическая и молекулярно-генетическая оценка воздействия наноматериалов на представителей микробиоценоза».

Для получения исходного вещества готовили навески наночастиц металлов, соответствующие 5 и 10 мг вещества и суспензировали их в 1 мл 0,9 % раствора хлорида натрия. Проводили последовательное разведение взвесей наночастиц металлов. В результате получали следующие концентрации наночастиц: 0,01; 0,05; 0,1; 0,5; 1 мг/мл.

Для инокуляции использовали микробную взвесь, эквивалентную 0,1 ЕД по стандарту МакФарланда, разведенную в 100 раз в 0,9 % растворе хлорида

натрия. По 100 мкл взвеси вносили в каждую пробирку, содержащую по 900 мкл соответствующего разведения наночастиц, и в одну пробирку с 900 мкл 0,9 % раствора хлорида натрия без наночастиц (контроль). Конечная концентрация микроорганизмов в каждой пробирке составляла 30 000 КОЕ/мл.

Полученную взвесь инкубировали 30, 60, 90 и 120 минут в термошейкере Sky Line ST-3 (ELMI, Латвия) при температуре 28 °С и встряхивании 100 об/мин. Затем по 100 мкл каждого образца высевали на чашки Петри с питательной средой Agar nutrient (Becton Dickinson, США) и инкубировали при 37 °С в течение 24 ч. На следующий день производился подсчет выросших колоний.

Для оценки степени антимикробной активности нанопорошков металлов рассчитывали коэффициент снижения количества изучаемых микроорганизмов (R) (Афиногенов Г.Е. и соавт., 2010), а также процент редукции микроорганизмов (% редукции) (Тапальский Д.В. и соавт., 2012):

$$R = \log NK - \log NT, \quad (1)$$

$$\% \text{ редукции} = 100 - \left( \frac{NT \cdot 100}{NK} \right), \quad (2)$$

где NK — количество микробных клеток в контроле, NT — количество микробных клеток в опыте.

Изучение изменения биохимических показателей жизнедеятельности бактерий до- и после воздействия наночастиц металлов проводили с использованием тест-систем ЭНТЕРОтест16, НЕФЕРМтест24, СТАФИтест16 (La Sema, Чехия).

Изучали изменения чувствительности бактерий к антибактериальным препаратам после воздействия наночастиц металлов. Готовили взвеси нанопорошков металлов путем их внесения в 0,9 % раствор хлорида натрия до достижения концентрации 0,01 мг/мл. Смешивали 850 мкл взвеси наночастиц металлов с 50 мкл 0,1 %-ного раствора ЭДТА (натриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты) (Панеко, Россия). В приготовленную смесь добавляли 100 мкл взвеси микроорганизмов. Конечная концентрация бактерий достигала 30 000 КОЕ/мл.

В качестве контроля использовали бактериальную взвесь в 0,9 % растворе хлорида натрия и смеси 0,9 % раствора хлорида натрия и ЭДТА. Опытные и контрольные пробирки инкубировали в термошейкере (Sky Line ST-3 (ELMI, Латвия)) при 150 об/мин и температуре 37 °С в течение 60 минут; 100 мкл полученной биомассы высевали на агаризованную питательную среду и инкубировали при температуре 37 °С в течение 18 – 24 ч. По окончании инкубации определяли чувствительность микроорганизмов к антибактериальным препаратам диско-диффузионным методом согласно МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам». В исследовании использовали питательную среду Mueller-Hinton-Agar (Becton Dickinson, США) и сенси-диски с антибиотиками (Becton Dickinson, США).

Для всех исследуемых штаммов до и после воздействия наночастиц металлов определен условный коэффициент резистентности по следующей формуле:

$$K = R/N, \quad (3)$$

где  $K$  – коэффициент резистентности,

$R$  – количество антибиотиков, к которым исследуемый штамм резистентен (в том числе с промежуточной чувствительностью),

$N$  – общее число антибактериальных препаратов, принятых в исследование (Гостев В.В. и соавт., 2010).

Статистическая обработка данных проводилась с использованием пакета программ Microsoft Excel 2010 и Statistica 6.0 (Реброва О.Ю., 2006). Проверку нормальности распределения количественных показателей выполняли с использованием критерия Колмогорова-Смирнова, коэффициентов асимметрии и эксцесса. Оценку различий между выборками проводили с использованием  $t$ -критерия Стьюдента, так как переменные соответствовали нормальному распределению.

Взаимосвязь между качественными признаками устанавливали путем выявления взаимной сопряженности. Для достижения поставленной цели рассчитан критерий  $\chi^2$  с поправкой Йетса на непрерывность. Данная поправка используется при низких абсолютных частотах в таблице (менее 10).

Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ , что соответствует требованиям, предъявляемым к медико-биологическим исследованиям.

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

### Физико-химические характеристики наночастиц металлов

Каждый образец наночастиц металлов охарактеризован по основным физико-химическим показателям (химический состав поверхности наночастиц, способность к агрегации, размер наночастиц и их агрегатов).

При помощи энерго-дисперсионного анализа определена атомная доля элементов в составе поверхности наночастиц металлов. На поверхности наночастиц меди обнаружено 55,11 % меди, 26,58 % кислорода, 8,88 % углерода, 9,44 % железа;

наночастиц никеля - 64,15% никеля, 7,72 % кислорода, 12,29 % серы, 15,84 % бериллия;

наночастиц титана - 45,49 % титана, 37,93 % кислорода, 6,12 % серы, 10,46 % углерода;

наночастиц марганца - 39,22 % марганца, 36,17% кислорода, 7,54 % серы, 17,07 % углерода.

Присутствие кислорода в составе поверхности наночастиц металла свидетельствовало о наличии оксидов, входящих в состав оксидной оболочки, которая обеспечивает постепенную диффузию ионов и пролонгированное действие наночастиц (Павлов Г.В. и соавт., 2007).

Измерение дзета-потенциала и среднего гидродинамического размера наночастиц металлов показало, что  $\zeta$ -потенциал для наночастиц меди составил 34,7 мВ, никеля – 3,51 мВ, титана - 13,9 мВ, марганца – 2,92 мВ. Известно, что величина дзета-потенциала пропорциональна заряду коллоидной частицы, т.е. с уменьшением размера наночастиц металлов агрегационная стабильность суспензии будет повышаться, а заряд поверхности увеличиваться (Юнда Е.Н., Миляева С.И., 2012). Таким образом, способность наночастиц металлов к агрегации увеличивалась в ряду медь-титан-никель-марганец.

Средний гидродинамический размер агрегатов наночастиц меди составил  $114,60 \pm 12,11$  нм, никеля –  $1145,00 \pm 89,60$  нм, титана –  $1025,00 \pm 64,32$  нм, марганца –  $912,10 \pm 28,15$  нм.

С помощью сканирующей и трансмиссионной электронных микроскопий были определены морфология, внешний вид и размер наночастиц металлов (рис. 1, 2).

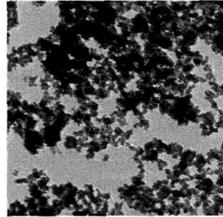


Рисунок 1. ТЭМ-изображение наночастиц меди

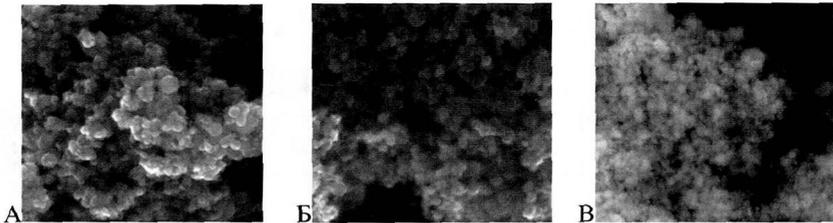


Рисунок 2. СЭМ-изображение наночастиц: А – никеля, Б – титана, В – марганца

При проведении электронно-микроскопических исследований выявлено наличие зернистой неоднородности, отдельные зёрна являются наночастицами. Размер наночастиц меди составил  $75,71 \pm 3,11$  нм, никеля –  $80,51 \pm 2,21$  нм, титана –  $42,86 \pm 2,21$  нм, марганца -  $68,71 \pm 4,12$  нм.

### Влияние наночастиц металлов на антибиотикорезистентные штаммы *E. coli*

Определяли чувствительность штаммов *E. coli* к 13 антибактериальным препаратам 3 классов:  $\beta$ -лактамным антибиотикам (ампициллин, амоксициллин/клавуланат, цефазолин, цефотаксим, цефтриаксон, цефтазидим, цефоперазон, цефепим, имипенем, меропенем); аминогликозидам (гентамицин, амикацин); хинолонам (ципрофлоксацин). Установлен высокий уровень резистентности штаммов микроорганизмов к профильным антибиотикам, 19 из 20 исследуемых штаммов оказались устойчивыми к 5 и более антибактериальным препаратам.

Установлена зависимость антибактериальной активности наночастиц меди, никеля, титана и марганца от концентрации и времени воздействия ( $p < 0,05$ ).

Концентрация наночастиц меди 0,01 мг/мл способствовала снижению количества жизнеспособных клеток *E. coli* до  $27,27 \pm 2,33$  % ( $p < 0,001$ ) (рис. 3), что свидетельствовало об олигодинамическом действии наночастиц меди. Увеличение концентрации наночастиц меди или/и времени воздействия приводило к 100 % элиминации бактерий. Полученные данные определяют время- и дозозависимый характер действия нанопорошка меди на бактериальные клетки.

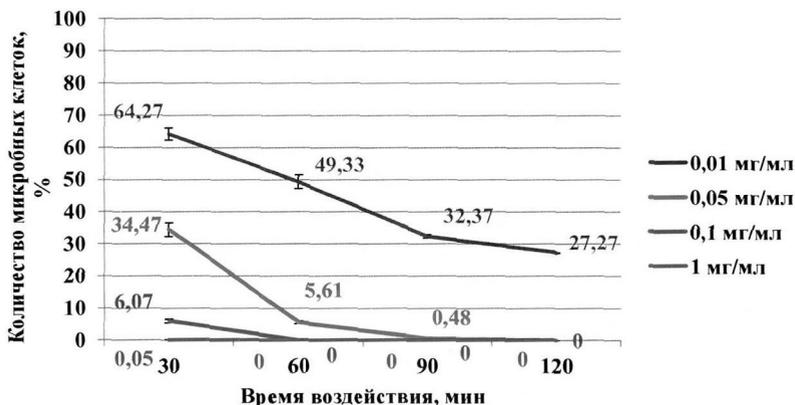


Рисунок 3. Антибактериальная активность наночастиц меди по отношению к штаммам *E. coli*

Установлена выраженная антибактериальная активность наночастиц никеля в отношении клинических штаммов *E. coli*. Максимальная концентрация наночастиц никеля 1 мг/мл при продолжительности воздействия 120 минут способствовала снижению количества жизнеспособных микроорганизмов до  $7,77 \pm 1,27$  % ( $p < 0,001$ ). Антимикробная активность

наночастиц никеля зависела от концентрации и времени воздействия, что свидетельствует о время- и дозозависимом характере их действия (рис. 4).

Наночастицы титана и марганца проявляли слабую антибактериальную активность в отношении штаммов *E. coli*. Статистически достоверной зависимости антибактериального действия наночастиц титана и марганца от их концентрации и времени воздействия выявлено не было.

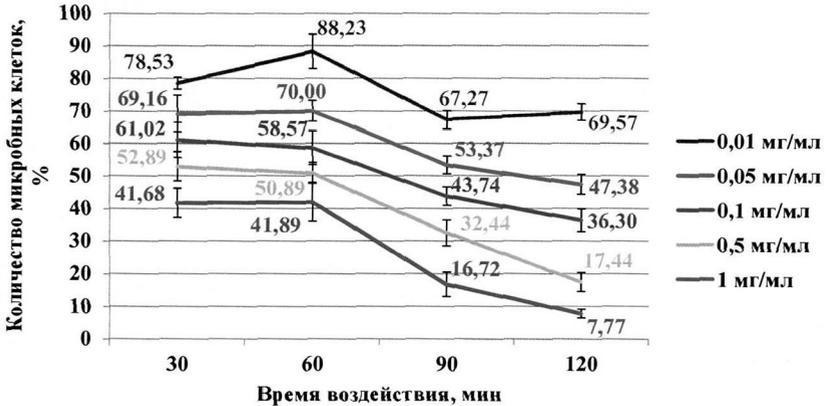


Рисунок 4. Антибактериальная активность наночастиц никеля по отношению к штаммам *E. coli*

Проведен сравнительный анализ эффективности антибактериального действия наночастиц металлов в отношении штаммов *E. coli*. Для оценки эффективности влияния нанопорошков металлов на бактериальную клетку рассчитан коэффициент снижения количества бактериальных клеток ( $R$ ), а также процент редукции бактерий (% редукции).

Количество бактериальных клеток под влиянием наночастиц меди в концентрации 0,05 мг/мл уменьшилось более чем на 1 логарифмический порядок уже через 60 минут; процент редуцированных бактерий составил  $94,39 \pm 0,40$ .

Антибактериальная активность наночастиц никеля была статистически достоверно ( $p < 0,05$ ) ниже, чем у наночастиц меди. Показатель  $R$  при воздействии наночастиц никеля в концентрациях 0,05 и экспозиции 60 минут составил  $0,16 \pm 0,02$  при  $30,00 \pm 3,20$  % редукции бактериальных клеток.

Антибактериальная активность наночастиц марганца и титана оказалась статистически достоверно ( $p < 0,01$ ) ниже наночастиц меди и никеля.

Действие наночастиц марганца и титана в отношении штаммов *E. coli* практически не отличалось по эффективности. Статистически достоверно отмечено, что воздействие наночастиц марганца в концентрации 0,01 мг/мл при

времени воздействия 90 ( $p < 0,01$ ) и 120 минут ( $p < 0,01$ ), а также 0,05 ( $p < 0,001$ ) и 0,1 мг/мл ( $p < 0,001$ ) при времени воздействия 30 минут более эффективно, чем наночастиц титана. При концентрациях 0,05 и 0,1 мг/мл и экспозиции 90 минут ( $p < 0,001$ ), 0,5 мг/мл и времени воздействия 120 минут ( $p < 0,01$ ), а также 1 мг/мл при инкубации 90 и 120 минут ( $p < 0,001$ ) статистически достоверно показано более эффективное действие наночастиц титана.

### Влияние наночастиц металлов на антибиотикорезистентные штаммы *P. aeruginosa*

Изучена чувствительность штаммов *P. aeruginosa* к 10 антимикробным препаратам 3 групп:  $\beta$ -лактамам (пиперациллин/тазобактам, цефтазидим, цефоперазон, цефепим, имипенем, меропенем), аминогликозидам (гентамицин, амикацин), хинолонам (ципрофлоксацин и левофлоксацин). Установлен высокий уровень резистентности клинических штаммов к профильным антибиотикам; из 20 штаммов *P. aeruginosa* 14 штаммов оказались устойчивыми к 5 и более антибиотикам.

Установлена высокая антибактериальная активность наночастиц меди в отношении штаммов *P. aeruginosa* (рис. 5). Использование низкой концентрации наночастиц меди (0,01 мг/мл) приводило к снижению количества жизнеспособных микроорганизмов до  $10,66 \pm 0,36$  % ( $p < 0,001$ ), что характеризует действие меди как олигодинамическое.

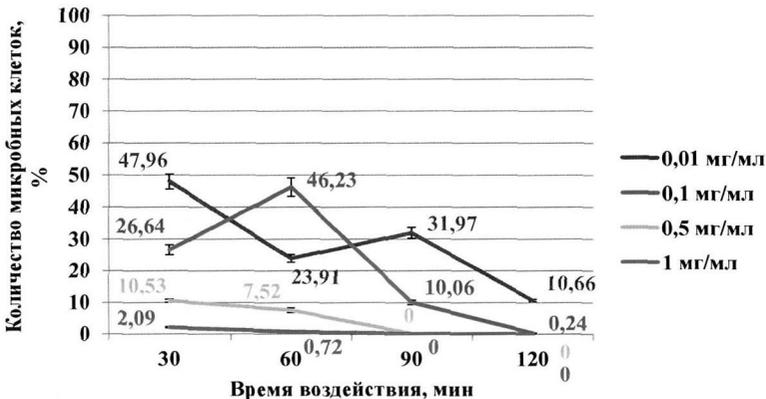


Рисунок 5. Антибактериальная активность наночастиц меди по отношению к штаммам *P. aeruginosa*

Установлена высокая антибактериальная активность наночастиц никеля в отношении штаммов *P. aeruginosa* (рис. 6). Использование низких концентраций наночастиц никеля (0,01 мг/мл) способствовало уменьшению количества жизнеспособных микроорганизмов до  $65,32 \pm 3,05$  % ( $p < 0,001$ ).

Антимикробное действие наночастиц никеля носило время- и дозозависимый характер. Характерно снижение антибактериальной активности наночастиц никеля в концентрации 0,1 мг/мл по сравнению с концентрацией 0,05 мг/мл на 20,36±2,31 % при экспозиции 30 минут и на 28,17±5,19 % в течение 60 минут.

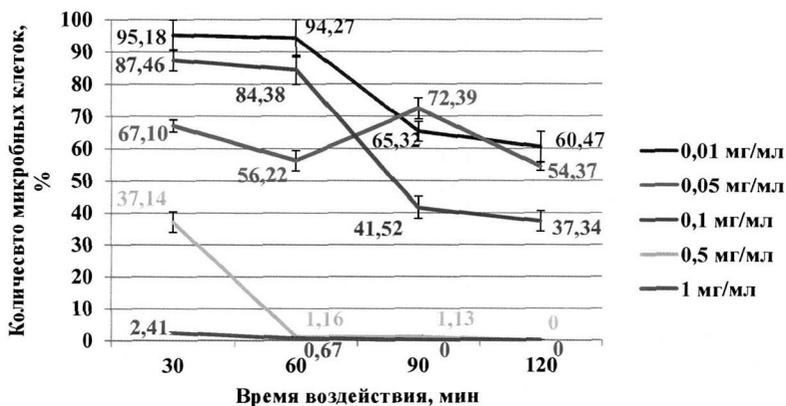


Рисунок 6. Антибактериальная активность наночастиц никеля по отношению к штаммам *P. aeruginosa*

Установлен умеренно выраженный антибактериальный эффект наночастиц марганца и титана в отношении штаммов *P. aeruginosa*. Зависимости бактерицидной активности наночастиц марганца и титана от концентрации и времени воздействия не выявлено. Отмечена тенденция к снижению противомикробного действия наночастиц марганца при увеличении времени инкубации до 120 минут при применении концентраций 0,1; 0,5; 1 мг/мл.

Проведен сравнительный анализ антибактериальной активности наночастиц металлов. Наибольшей активностью в отношении штаммов *P. aeruginosa* обладали наночастицы меди. Концентрация наночастиц меди 0,05 мг/мл при времени воздействия 120 минут приводила к 100 %-ной редукции микроорганизмов; значение R составило 2,92±0,01. Статистически достоверно ( $p < 0,05$ ) установлено, что наночастицы никеля были менее эффективны, чем наночастицы меди; их воздействие на бактериальные клетки в той же концентрации при аналогичной экспозиции приводило к 52,62±3,07 % редукции микроорганизмов; значение R составило 0,34±0,03.

Антибактериальная активность наночастиц титана и марганца уступала по эффективности наночастицам меди ( $p < 0,05$ ). После воздействия наночастиц марганца в концентрации 0,05 мг/мл при экспозиции 120 минут коэффициент редукции составил 0,15±0,01, процент редукции микроорганизмов – 28,39±1,75; наночастиц титана - коэффициент редукции составил 0,07±0,01, при проценте

редуцированных микроорганизмов -  $13,27 \pm 2,70$ . Статистически достоверно отмечено ( $p < 0,05$ ), что наночастицы титана и марганца в концентрации от 0,01 до 0,1 мг/мл при кратковременном воздействии (30 и 60 минут) обладали более выраженной активностью в отношении штаммов *P. aeruginosa*, чем наночастицы никеля (исключение - воздействие наночастиц марганца в концентрации 0,05 мг/мл при 30-минутной экспозиции оказалось более эффективным, чем у наночастиц никеля). При повышении концентрации и времени воздействия активность наночастиц никеля статистически достоверно превышала ( $p < 0,05$ ) активность наночастиц титана и марганца.

Выявлены статистически достоверные отличия ( $p < 0,05$ ) антибактериальной активности наночастиц марганца от наночастиц титана в отношении штаммов *P. aeruginosa*. В концентрации 0,01 мг/мл при времени воздействия 30 минут, а также в концентрациях 0,05 и 0,5 мг/мл при экспозиции 60 минут; в концентрации 1 мг/мл при продолжительности воздействия от 30 до 120 минут антибактериальная активность наночастиц марганца превышала антибактериальную активность наночастиц титана. В концентрации 0,05 мг/мл при времени воздействия 30 минут, 0,5 мг/мл – при экспозициях 30, 90, 120 минут активность наночастиц марганца уступала наночастицам титана.

#### **Антибактериальное действие наночастиц металлов в отношении антибиотикорезистентных штаммов *S. epidermidis***

Изучена чувствительность клинических штаммов *S. epidermidis* к 8 классам антибактериальных препаратов:  $\beta$ -лактамы (оксациллин), аминогликозиды (гентамицин), хинолоны (левофлоксацин, ципрофлоксацин, моксифлоксацин), макролиды (эритромицин), линкозамиды (линкомицин, клиндамицин), гликопептиды (ванкомицин), оксазолидины (линезолид), липопептиды (даптомицин), глицилциклины (тигекциклин); из 20 изученных штаммов 19 оказались устойчивыми к 5 и более антибиотикам. Установлена устойчивость к оксациллину всех исследуемых штаммов. Для подтверждения метициллинрезистентности штаммов *S. epidermidis* использовали набор «MeReSa Agar Base, MRSA Alert™» (Hi Media, Индия).

Оценено антибактериальное действие суспензии наночастиц меди, никеля, титана и марганца в концентрациях от 0,01 до 1 мг/мл на 20 штаммах *S. epidermidis* при различном времени воздействия. В результате проведенных исследований выявлен выраженный антибактериальный эффект наночастиц меди в отношении антибиотикорезистентных штаммов *S. epidermidis* (рис. 7).

Концентрация наночастиц меди 0,01 мг/мл при времени воздействия 30 минут способствовала снижению количества выживших бактериальных клеток до  $41,35 \pm 2,73$  % ( $p < 0,001$ ), что подтверждает олигодинамическое действие нанопорошка меди. Кроме того, установлены время- и дозозависимый характер действия наночастиц металла.

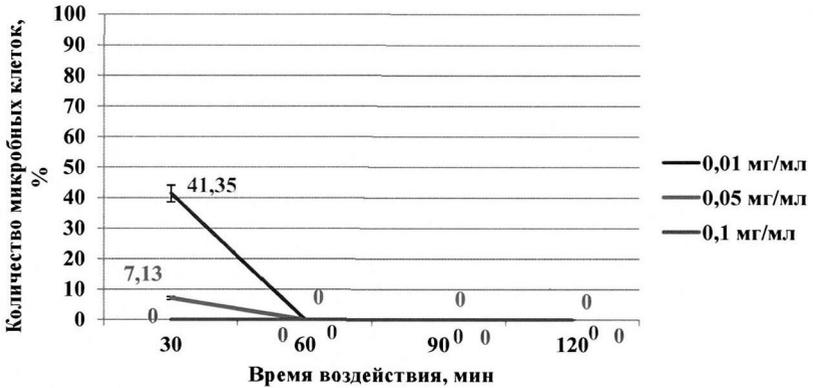


Рисунок 7. Антибактериальная активность наночастиц меди по отношению к штаммам *S. epidermidis*

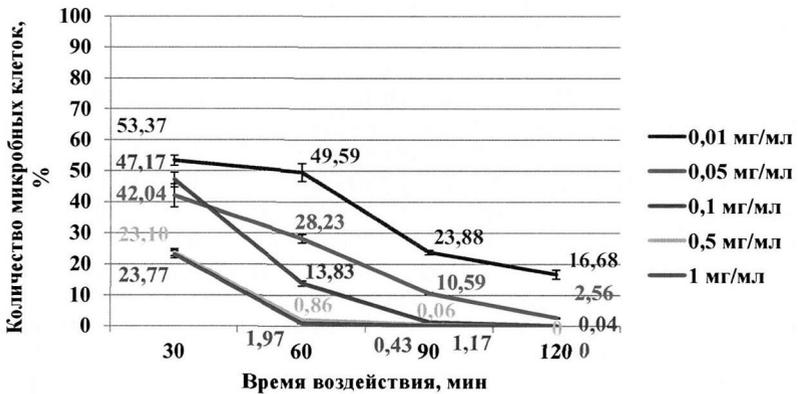


Рисунок 8. Антибактериальная активность наночастиц никеля по отношению к штаммам *S. epidermidis*

Определена высокая антибактериальная активность наночастиц никеля в отношении штаммов *S. epidermidis*. Как видно из рисунка 8, воздействие наночастиц никеля на изучаемые штаммы в низких концентрациях (от 0,01 мг/мл) приводит к снижению количества жизнеспособных микроорганизмов до  $16,68 \pm 1,43$  % ( $p < 0,001$ ) по сравнению с контролем. Установлена прямо пропорциональная зависимость антибактериальной активности наночастиц никеля от концентрации и времени воздействия.

Наночастицы титана в концентрациях от 0,01 до 1 мг/мл при времени воздействия 30 и 120 минут обладают ростстимулирующим действием в

отношении штаммов *S. epidermidis*. При экспозиции 60 и 90 минут проявлялась слабая антибактериальная активность. Зависимости антимикробного действия наночастиц титана от их концентрации не выявлено. Наночастицы марганца обладали слабо выраженным антибактериальным действием в отношении штаммов *S. epidermidis*. Зависимости антимикробного действия наночастиц марганца от их концентрации и времени воздействия не выявлено.

Проведен сравнительный анализ эффективности антибактериального действия наночастиц металлов в отношении штаммов *S. epidermidis*. Наибольшей антибактериальной активностью в отношении штаммов *S. epidermidis* обладали наночастицы меди; коэффициент редукции в концентрации 0,01 мг/мл при воздействии в течение 60 минут составил  $3,01 \pm 0,01$  при 100 %-ной редукции микроорганизмов. Наночастицы никеля также продемонстрировали хороший антибактериальный эффект. Коэффициент редукции после воздействия ультрадисперсного порошка металла в концентрации 0,01 мг/мл при времени воздействия 120 минут оказался меньше 1 и составил  $0,04 \pm 0,01$  при  $8,91 \pm 2,05$  - процентной редукции. Практически во всех вариантах опыта активность наночастиц никеля статистически достоверно ( $p < 0,01$ ) ниже, чем у наночастиц меди. При изучении действия наночастиц меди и никеля в концентрациях 0,5 и 1 мг/мл отмечена полная редукция микроорганизмов.

Отмечено, что антибактериальная активность наночастиц марганца в отношении штаммов *S. epidermidis* статистически достоверно ( $p < 0,001$ ) ниже активности наночастиц меди и никеля. В случае использования наночастиц марганца коэффициент редукции оказался ниже 1, что свидетельствует о низкой антибактериальной активности данного наноматериала.

При воздействии наночастиц титана на штаммы *S. epidermidis* в течение 30 и 120 минут коэффициент редукции оказался ниже 0, что показывает их ростстимулирующую активность. Коэффициент редукции при времени воздействия 60, 90 и 120 минут в концентрации 0,01 мг/мл оказался ниже 1, что свидетельствует о слабом антибактериальном эффекте.

**Коэффициент редукции бактериальных клеток как критерий эффективности антибактериального действия наночастиц металлов в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий**

Наибольшая антибактериальная активность наночастиц меди выявлена в отношении *S. epidermidis*. Полная редукция штаммов *S. epidermidis* наступала при низкой концентрации (от 0,01 мг/мл) и экспозиции 60 минут. Антибактериальное действие наночастиц меди в отношении грамотрицательных бактерий несколько уступало по эффективности: при тестировании клинических штаммов *E. coli* полная редукция микроорганизмов наступала, начиная с концентрации наночастиц металла 0,05 мг/мл и экспозиции 120 минут. Штаммы *P. aeruginosa* более устойчивы к действию наночастиц меди. Минимальная концентрация наночастиц металла,

приводящая к полной редукции бактериальных клеток, составила 0,5 мг/мл при воздействии в течение 90 минут.

Наиболее активное антибактериальное действие наночастиц никеля наблюдали в отношении *S. epidermidis*; минимальная концентрация, способствующая полной гибели микроорганизма, составила 0,5 мг/мл при воздействии в течение 120 минут. Сопоставимые результаты антибактериального действия наночастиц никеля получены и в отношении штаммов *P. aeruginosa*.

Процент редукции микроорганизмов после воздействия наночастиц никеля в отношении штаммов *E. coli* в заданном диапазоне концентраций и экспозиций не достигал 100 %; максимальные его значения составили  $92,23 \pm 1,27$  % (при воздействии в концентрации наночастиц 1 мг/мл и 120 минут инкубации).

Подсчет коэффициента редукции микроорганизмов под влиянием наночастиц марганца и титана считаем нецелесообразным, так как действие наноматериалов при выбранных диапазонах концентраций и временных экспозиций не вызывало полной редукции, а в отношении *S. epidermidis* в ряде случаев наблюдали ростстимулирующий эффект.

Полученные результаты показывают более выраженное антибактериальное действие наночастиц меди и никеля на штаммы *S. epidermidis*, чем на грамотрицательные бактерии, что может быть связано с особенностями строения клеточной стенки. В ранее проведенных исследованиях А. Panasek и соавт. (2006) и J.P. Ruparelia и соавт. (2008) по изучению антибактериальной активности наночастиц меди и серебра установлено, что структура мембраны бактериальной клетки является одним из определяющих факторов, наряду с концентрацией и дисперсностью. Характерным для грамотрицательных бактерий является наличие липополисахаридного слоя в составе внешней мембраны, создающего барьер для проникновения внутрь клетки экзогенных соединений.

В результате оценки коэффициента редукции установлено, что антибактериальное действие наночастиц меди в отношении различных грамотрицательных бактерий отличалось по эффективности. Штаммы *E. coli* оказались более чувствительными к действию наночастиц меди; 100 %-ная редукция микроорганизмов наступала при концентрации 0,1 мг/мл и экспозиции 60 минут. В отношении штаммов *P. aeruginosa* такой эффект наступал, начиная с более высокой концентрации - 0,5 мг/мл и времени воздействия 120 минут. Это можно объяснить наличием слизи, окружающей поверхность бактериальной клетки и затрудняющей ее взаимодействие с наночастицами металлов.

При воздействии наночастиц никеля в отношении грамотрицательных бактерий наблюдали противоположный результат. Наночастицы никеля оказались более эффективными в отношении штаммов *P. aeruginosa*, что можно связать с иными механизмами бактерицидного действия наночастиц никеля, а

также возможным отсутствием барьерных свойств бактериальной слизи в отношении ультрадисперсного порошка.

### **Влияние наночастиц металлов на чувствительность к антибиотикам клинических штаммов микроорганизмов**

Обнаружено статистически значимое изменение чувствительности клинических штаммов *E. coli* после воздействия суспензии наночастиц меди в концентрации 0,01 мг/мл в течение 30 минут к ампициллину ( $\chi^2=11,40$ ;  $p=0,0007$ ), амоксициллину/клавуланату ( $\chi^2=9,18$ ;  $p=0,0025$ ) и гентамицину ( $\chi^2=10,80$ ;  $p=0,001$ ); *P. aeruginosa* - к цефтазидиму ( $\chi^2=8,18$ ;  $p=0,042$ ). Статистически достоверных изменений чувствительности к антибактериальным препаратам после воздействия наночастиц никеля, титана и марганца не обнаружено.

Рассчитан коэффициент резистентности к антибиотикам штаммов *E. coli* до и после воздействия наночастиц металлов. В контрольной группе его показатель составил  $0,69\pm 0,04$ . После воздействия наночастиц меди отмечено статистически значимое ( $p<0,05$ ) снижение показателя до  $0,55\pm 0,04$ , что свидетельствует о повышении чувствительности микроорганизмов к ряду исследуемых препаратов. После воздействия наночастиц никеля, титана и марганца статистически значимых различий с контрольной группой микроорганизмов не наблюдалось. Коэффициент резистентности клинических штаммов *E. coli* после воздействия наночастиц никеля составил  $0,63\pm 0,04$ , титана –  $0,69\pm 0,04$ , марганца –  $0,69\pm 0,04$ .

Рассчитан коэффициент резистентности клинических штаммов *P. aeruginosa* до и после воздействия наночастиц металлов. В контрольной группе штаммов *P. aeruginosa* показатель составил  $0,72\pm 0,04$ . После воздействия наночастиц меди, никеля, титана и марганца статистически значимых различий с контрольной группой не выявлено, коэффициент резистентности здесь составил  $0,65\pm 0,04$ ,  $0,71\pm 0,04$ ,  $0,71\pm 0,04$  и  $0,72\pm 0,04$  соответственно, что свидетельствует об отсутствии влияния наночастиц этих металлов на антибиотикорезистентность штаммов *P. aeruginosa*.

В результате проведенных исследований установлено, что воздействие наночастиц меди, никеля, титана и марганца в концентрации 0,01 мг/мл в течение 30 минут не приводило к статистически достоверным изменениям антибиотикочувствительности клинических штаммов *S. epidermidis*.

Воздействие наночастиц металлов на клинические штаммы *S. epidermidis* не приводило к статистически значимым изменениям коэффициента резистентности. В контрольной группе микроорганизмов коэффициент резистентности составил  $0,59\pm 0,03$ . После воздействия наночастиц меди, никеля, титана и марганца статистически значимых различий с контрольной группой не выявлено; коэффициент резистентности здесь составил  $0,58\pm 0,03$ ,  $0,59\pm 0,03$ ,  $0,58\pm 0,03$  и  $0,58\pm 0,03$  соответственно, что свидетельствует об отсутствии влияния наночастиц этих металлов на антибиотикорезистентность штаммов *S. epidermidis*.

**Влияние наночастиц металлов на биохимические свойства антибиотикорезистентных штаммов *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis***

Оценено изменение ферментативных свойств бактериальных клеток после воздействия наночастиц металлов в бактериостатической концентрации по сравнению с контрольной группой.

При изучении биохимических свойств штаммов *E. coli* после воздействия наночастиц никеля статистически достоверно отмечено снижение способности гидролизовать эскулин ( $\chi^2=9,64$ ;  $p=0,0019$ ).

Установлено увеличение сахаролитической активности клинических штаммов *P. aeruginosa* после воздействия наночастиц меди ( $\chi^2=4,90$ ;  $p=0,0268$ ) и марганца ( $\chi^2=4,90$ ;  $p=0,0268$ ) в отношении мальтозы, после воздействия наночастиц никеля в отношении целлобиозы ( $\chi^2=4,90$ ;  $p=0,0268$ ) и инозитола ( $\chi^2=4,90$ ;  $p=0,0268$ ), после воздействия наночастиц титана в отношении эскулина ( $\chi^2=3,91$ ;  $p=0,0481$ ), после воздействия наночастиц марганца в отношении ксиллозы ( $\chi^2=4,90$ ;  $p=0,0268$ ). Однако статистически достоверно ( $\chi^2=7,29$ ;  $p=0,0069$ ) отмечено уменьшение количества штаммов, способных ферментировать галактозу после воздействия наночастиц марганца.

Отмечено статистически достоверное увеличение ( $\chi^2=4,90$ ;  $p=0,0268$ ) количества штаммов *S. epidermidis*, способных гидролизовать эскулин после воздействия наночастиц меди. Наночастицы титана вызывали снижение сахаролитической активности, статистически достоверно ( $\chi^2=4,90$ ;  $p=0,0268$ ) снизилось количество штаммов микроорганизмов, способных ферментировать сахарозу. Наночастицы никеля способствовали снижению способности штаммов редуцировать нитраты в нитриты ( $\chi^2=6,29$ ;  $p=0,0125$ ).

Наночастицы переходной группы металлов с определенными физико-химическими параметрами обладают разной степенью антибактериальной активности в отношении антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов. Наиболее выраженной антибактериальной активностью, имеющей время- и дозозависимый характер, обладали наночастицы меди, которые также способствовали восстановлению чувствительности к некоторым профильным антибактериальным препаратам. Наночастицы никеля уступали им по эффективности; наночастицы марганца и титана обладали слабой антибактериальной активностью, в некоторых случаях - ростстимулирующим действием. Наночастицы металлов оказывали влияние на ферментативную активность исследуемых штаммов микроорганизмов, в основном затрагивая их сахаролитические свойства.

## ВЫВОДЫ

1. Всесторонне охарактеризованы физико-химические свойства наночастиц (химический состав поверхности наночастиц, способность к агрегации, размер наночастиц и их агрегатов). В составе поверхности наночастиц металлов обнаружено от 7,73 до 37,97 % атомов кислорода, входящего в состав оксидной оболочки, обеспечивающей постепенную диффузию ионов и пролонгированное действие наночастиц.

2. Наибольшей антибактериальной активностью в отношении антибиотикорезистентных штаммов бактерий *E. coli*, *S. epidermidis* и *P. aeruginosa* обладают наночастицы меди и наночастицы никеля, коэффициент редукции во всех вариантах опытов был выше 0. Наночастицы титана при воздействии в течение 30 и 120 минут оказывают ростстимулирующее действие в отношении *S. epidermidis*, что подтверждается низкими значениями коэффициента редукции ( $K_{ред} < 0$ ). Антибактериальная активность наночастиц меди и никеля в отношении клинических штаммов *E. coli*, *S. epidermidis* и *P. aeruginosa* проявляет время- и дозозависимый характер.

3. Антибактериальные свойства наночастиц меди и никеля более выражены в отношении штаммов *S. epidermidis*, чем *E. coli* и *P. aeruginosa*. Полная редукция штаммов *S. epidermidis* наступала при низких концентрациях меди (от 0,01 мг/мл) и никеля (от 0,5 мг/мл).

4. Наночастицы металлов вызывали изменения ферментативной активности антибиотикорезистентных штаммов *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*. Наибольшее влияние наночастицы металлов оказывали на сахаролитическую активность микроорганизмов.

5. Наночастицы меди с изученными физико-химическими свойствами способны восстанавливать чувствительность штаммов *E. coli* к некоторым бета-лактамам антибиотикам (ампициллину, амоксициллину/клавуланату) и аминогликозидам (гентамицину); штаммов *P. aeruginosa* - к цефалоспорином III поколения (цефтазидиму).

## СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

СЭТ - сканирующая электронная микроскопия

ТЭМ - трансмиссионная электронная микроскопия

ЭДТА – натриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Позднякова Б.Я., Мамонова И.А., Клочков М.А. Оценка антибиотикорезистентности штаммов микроорганизмов, вызывающих гнойно-септические осложнения в стационарах травматолого-ортопедического профиля // Современные технологии в травматологии и ортопедии: сб. науч. тр. – М., 2006. – С. 473.
2. Этиология гнойно-септических осложнений и резистентность основных возбудителей к антибактериальным препаратам у пациентов отделения последствий травм и гнойной хирургии / Б.Я. Позднякова, И.А. Мамонова, М.А. Клочков, Е.П. Самойлова // Новые технологии в военной хирургии и хирургии повреждений мирного времени: сб. науч. тр. – СПб., 2006. – С. 304.
3. Мамонова И.А. Этиология, структура и антибиотикочувствительность возбудителей, выделенных у больных остеомиелитом // Травматология и ортопедия XXI века: сб. науч. тр. – Саратов, 2007. – С. 60.
4. Мамонова И.А. Действие наночастиц меди на клинические штаммы *Staphylococcus epidermidis* // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т. XVIII, №1. – С. 27–28.
5. Изучение влияния наночастиц металлов на чувствительность к антибиотикам клинических штаммов микроорганизмов / И.В. Бабушкина, Е.Г. Чеботарева, И.А. Мамонова [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. – 2011. – Т. XVIII, №3. – С. 258–260.
6. Мамонова И.А., Бабушкина И.В. Изучение действия наночастиц металлов на клинические штаммы грамположительных микроорганизмов // Клиническая микробиология и антимикробная терапия. – 2011. – Т. 13, №2. – С. 25.
7. Мамонова И.А., Бабушкина И.В. Экспериментальное исследование антибактериального действия наночастиц никеля на клинические штаммы *Pseudomonas aeruginosa* // Фундаментальные исследования. – 2012. – №2. – С. 174–178.
8. Мамонова И.А., Бабушкина И.В. Антибактериальная активность наночастиц никеля // Инфекция и иммунитет. – 2012. – Т. 2, № 1-2. – С. 225.
9. Бабушкина И.В., Мамонова И.А., Гладкова Е.В. Сравнительный анализ антибактериального действия наночастиц металлов // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2013. – Т.15, №2. – С. 14.
10. Мамонова И.А., Бабушкина И.В., Гладкова Е.В. Влияние наночастиц металлов на клинические штаммы грамотрицательных микроорганизмов // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2013. – Т.15, №2. – С. 29.
11. Физические свойства наночастиц меди и их биологическая активность / И.А. Мамонова, М.Д. Матасов, И.В. Бабушкина, Е.В. Гладкова // Технологии оптимизации процесса репаративной регенерации в травматологии-ортопедии и нейрохирургии: сб. науч. тр. – Саратов, 2013. – С. 106-107.

12. Study of Physical Properties and Biological Activity of Copper Nanoparticles / I.A. Mamonova, M.D. Matasov, I.V. Babushkina [et al.] // *Nanotechnologies in Russia*. - 2013. - V. 8, №5-6. - P. 303-308.

13. Изучение физических свойств и биологической активности наночастиц меди / И.А. Мамонова, М.Д. Матасов, И.В. Бабушкина [и др.] // *Российские нанотехнологии*. - 2013. - Т.8, №5-6. - С. 25-29.

14. Mamonova I.A. Study of the Antibacterial Action of Metal Nanoparticles on Clinical Strains of Gram-Negative Bacteria // *World Journal of Medical Sciences*. - 2013. - V.8, №4. - P. 314-317.

15. Мамонова И.А., Бабушкина И.В., Гладкова Е.В. Действие наночастиц металлов в условиях эксперимента // *Нанотехнология в теории и практике: сб. науч. тр.* - Казань, 2013. - С. 96-97.

**Мамонова Ирина Александровна (Россия)**

*«Влияние наночастиц переходной группы металлов на антибиотикорезистентные штаммы микроорганизмов»*

Диссертационная работа посвящена изучению антибактериальной активности наночастиц переходной группы металлов (меди, никеля, титана, марганца) с изученными физико-химическими свойствами на клинические антибиотикорезистентные штаммы *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*. Выявлена антибактериальная активность наночастиц в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, зависящая от концентрации наночастиц и продолжительности воздействия, а также от таксономической принадлежности микроорганизмов. Показана способность наночастиц меди восстанавливать чувствительность штаммов *E. coli* к ампициллину, амоксициллину/клавуланату, гентамицину; штаммов *P. aeruginosa* - к цефтазидиму. Установлено ранее неизвестное влияние наночастиц меди, никеля, титана и марганца на биохимические показатели жизнедеятельности микроорганизмов. Получены данные, расширяющие теоретические представления о влиянии наночастиц переходных металлов (меди, никеля, титана и марганца) на бактериальную клетку.

**Mamonova Irina Alexandrovna (Russia)**

*«Influence of nanoparticles of metals of transitive group on antibiotic-resistant microorganisms»*

This dissertation is about studying of antibacterial activity of nanoparticles of metals of transitive group (cooper, nickel, titanium, marganese) with already studied physicochemical properties on clinical antibiotic-resistant strains *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. epidermidis*. Antibacterial activity of nanoparticles regarding gram-positive and gram-negative microorganisms depending on concentration of nanoparticles and on duration of effect and also on taxon belonging of microorganisms was brought to light. Ability of nanoparticles of cooper to reduce perceptibility of strains *E. coli* towards ampicilin, amoxicillin/clavulant, gentamicin; strains *P. aeruginosa* towards ceftazidime is shown. Earlier unknown influence of nanoparticles of cooper, nickel, titanium and marganese on biochemical indexes of vital functions of microorganisms was established. Data extending theoretical concepts about influence of nanoparticles of transitive metals (cooper, nickel, titanium and marganese) on bacterial cell were obtained.

*Мамонова Ирина Александровна*

**ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ ПЕРЕХОДНОЙ ГРУППЫ МЕТАЛЛОВ НА  
АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫЕ ШТАММЫ МИКРООРГАНИЗМОВ**

Автореферат

Подписано в печать 7.11.2013 г. Формат 60 x 84 1/16

Бумага типогр. № 1. Печать RIZO.

Уч.-изд л. 1,9. Усл. печ.л. 1,9.

Тираж 100 экз. Заказ 110.

410002, г. Саратов, ул. Чернышевского, 169

Полиграфия «Авантаж» ИП Полякова И.Н.

Свидетельство серия 64 № 001029557 от 17.01.2002 г.