

Табл. 16.8. Вторая схема разведения тест-культуры по оптическому стандарту

Номера пробирок	Количество стерильной дистиллированной воды, мл	Объём вносимой взвеси культуры из исходной, мл	Разведение	Примерное количество микробов в 1 мл взвеси
Д/В №1	9.0	1.0 из млрд.	10^{-1}	100 000 000
Д/В №2	9.0	1.0 из Д/В № 1	10^{-2}	10 000 000
Д/В №3	9.0	1.0 из Д/В № 2	10^{-3}	1 000 000
Д/В №4	9.0	1.0 из Д/В № 3	10^{-4}	100 000
Д/В №5	9.0	1.0 из Д/В № 4	10^{-5}	10 000
Д/В №6	9.0	1.0 из Д/В № 5	10^{-6}	1 000
Д/В №7	9.0	1.0 из Д/В № 6	10^{-7}	100

Табл. 16.9. Количество выросших колоний бактерий в геле ГОИ прибора

Разведе-ние	Число микробных колоний (КОЕ)		
	В дистиллированной воде	В геле оксигидрата иттрия через 2 часа	В геле оксигидрата иттрия через 4 часа
<i>Staphylococcus aureus</i> (стафилококкзолотистый)			
10^{-2}	сплошной рост	142	16
10^{-3}	352	49	2
10^{-4}	119	1	1
10^{-5}	32	роста нет	роста нет
10^{-6}	12	роста нет	роста нет
10^{-7}	16	роста нет	роста нет
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (синегнойная палочка)			
10^{-2}	сплошной рост	112	25
10^{-3}	сплошной рост	48	1
10^{-4}	936	6	2
10^{-5}	380	3	роста нет
10^{-6}	115	роста нет	роста нет
10^{-7}	45	роста нет	роста нет
<i>Escherichiacoli</i> (кишечная палочка)			
10^{-2}	сплошной рост	20	15
10^{-3}	сплошной рост	8	10
10^{-4}	928	4	роста нет
10^{-5}	175	3	роста нет
10^{-6}	86	роста нет	роста нет
10^{-7}	72	роста нет	роста нет
Смесь культур <i>Staphylococcus aureus</i> [S.a.], <i>Escherichia coli</i> [E.c.]			
10^{-2}	сплошной рост	[S.a.]-10; [E.c.]-9	[S.a.]-6; [E.c.]-2
10^{-3}	сплошной рост	[S.a.]-8; [E.c.]-3	[S.a.]-4; [E.c.]-0
10^{-4}	[S.a.]-228; [E.c.]-115	[S.a.]-9; [E.c.]-4	роста нет
10^{-5}	[S.a.]-213; [E.c.]-75	[S.a.]-5; [E.c.]-2	роста нет
10^{-6}	[S.a.]-29; [E.c.]-8	[S.a.]-4; [E.c.]-0	роста нет
10^{-7}	[S.a.]-54; [E.c.]-47	[S.a.]-3; [E.c.]-0	роста нет
Смесь культур <i>Staphylococcus aureus</i> [S.a.], <i>Pseudomonasaeruginosa</i> [P.a.]			
10^{-2}	сплошной рост	[S.a.]-12; [P.a.]-18	[S.a.]-5; [P.a.]-2
10^{-3}	сплошной рост	[S.a.]-7; [P.a.]-13	[S.a.]-0; [P.a.]-4
10^{-4}	[S.a.]-202; [P.a.]-65	[S.a.]-4; [P.a.]-8	[S.a.]-0; [P.a.]-0
10^{-5}	[S.a.]-71; [P.a.]-32	[S.a.]-0; [P.a.]- 9	[S.a.]-0; [P.a.]- 1
10^{-6}	[S.a.]-17; [P.a.]-9	[S.a.]-1; [P.a.]- 3	[S.a.]-0; [P.a.]- 0
10^{-7}	[S.a.]-31; [P.a.]-36	[S.a.]-0; [P.a.]-0	[S.a.]-0; [P.a.]- 0

Итак, данные исследования подтверждают очень высокую антимикробную активность геля оксигидрата иттрия в ячейке прибора.

Механизм воздействия гелевых нанокластеров оксигидратов на бактерии

Как нами показано ранее [4], спиралеобразные фрагменты оксигидратов металлов (нанокластеры) формируют на своей поверхности системы двойных электрических слоев. В результате дрейфа этих коллоидных частиц оксигидратов и ионов среды между электродами возникает разность потенциалов. Поток нанокластеров сопровождается специфической адсорбцией (по Штерну) в диффузном слое ДЭС оксигидратных фрагментов, что влечет за собой поляризацию двойного электрического слоя. В результате периодических диссоциативных и конформационных перестроек, протекающих в оксигидратах металлов, структура ДЭС может разрушаться с выбросом нанокластерных частиц.

Как было сказано ранее, нанокластеры, выбрасываемые системой в результате конформационных перестроек, колеблются с определённой частотой и интенсивностью. Они способны создавать нанокластерные завихрения в реакционной системе. Возможно, эти завихрения распространяются на цитоплазму бактерии (бактериальную реакционную среду), затрудняя её жизненную функцию.

Клеточная оболочка бактерии состоит из клеточной стенки и цитоплазматической мембраны, которая обеспечивает осмотический барьер и избирательное проникновение веществ в клетку. Через клеточную оболочку осуществляется вход и выход малых молекул, ферментов и экзотоксинов; на ее поверхности сгруппированы фосфатные группы липидов, а также сиаловые и тейхоевые кислоты, в результате чего бактериальная клетка несет общий отрицательный заряд[9].

Цитоплазматическая мембрана клеточной оболочки обеспечивает постоянство внутриклеточного состава; ее сохранность является необходимым условием существования клетки. Мембрана состоит из фосфолипидов и белков, причем электроотрицательные гидрофильные части молекул полярных фосфолипидов обращены наружу, а гидрофобные (остатки жирных кислот) образуют внутри мембраны ряды параллельных углеводородных цепей. Входящие в состав мембраны белковые молекулы связаны с поверхностью мембраны или погружены в нее. Такая система стабилизирована электростатическими взаимодействиями полярных групп, а также гидрофобными взаимодействиями белков и липидов.

Для нас очень важен поверхностный заряд биологической мембраны, который создается полярными головками фосфолипидов, гликопротеидами (главным образом карбоксильными группами сиаловой кислоты и аминокислотными остатками). За счет этих веществ поверхность мембраны заряжена отрицательно. Поверхностный заряд плазмолеммы играет важнейшую роль, так как он способствует стабилизации мембранных структур, а также связыванию ионов, находящихся в межклеточной среде, что опреде-

ляет внутриклеточные обменные процессы. Резкое изменение поверхностного заряда БМ приводит к разрушению процессов метаболизма бактерий.

Механизм действия частиц нанокластеров (как положительно так и отрицательно заряженных) на микроорганизмы представляется следующим образом: гелевые нанокластеры оксигидратов адсорбируются на отрицательно заряженной поверхности бактериальной клетки, блокируя тем самым дыхание, питание, транспорт метаболитов через клеточную стенку бактерий (этот эффект зависит от величины общего заряда кластера). Кроме того мелкие кластеры диффундируют через стенку клетки, вызывая необратимые структурные повреждения на уровне цитоплазматической мембраны, нуклеотида, цитоплазмы. Этот процесс зависит от величины поверхностной активности, липофильности, растворимости в воде, молекулярного объема диффундирующей частицы. Ионная часть нанокластера может связываться с кислотными фосфолипидами, белками цитоплазматической мембраны, что приводит к ее разрыву (этот эффект зависит от концентрации и молекулярной массы реагирующих фрагментов).

Оказывает свое разрушительное воздействие на бактерий и катастрофический разряд адсорбционного макрокомплекса на углеродистой электропроводящей поверхности. При этом механизм антимикробного действия сводится к ингибирующему воздействию на транспорт электронов в процессе окислительного фосфорилирования бактерий.

Результатом всех этих процессов является блокада гликолитических ферментов дыхательной системы, потеря патогенных свойств и гибель микробной клетки.

Выводы

1. Исследовано антимикробное действие оксигидратных гелей циркония и железа на группу патогенных и условно-патогенных бактерий. Установлено что синегнойная палочка (*Pseudomonasaeruginosa*) имеет относительно низкую чувствительность к исследуемому гелю оксигидрата циркония в электрохимической ячейке, то есть не обладает сильным антимикробным действием. Численность колоний с течением времени нахождения в геле существенно уменьшается по сравнению с исходными концентрациями 10^4 ; 10^3 м.т./мл лишь при длительной обработке бактерий нанокластера миоксигидрата циркония. Очень чувствительна к действующему на неё гелю в электрохимической ячейке кишечная палочка (*Escherichiacoli*). В геле оксигидрата циркония под воздействием импульсных частичных нанокластеров оксигидрата циркония концентрация бактерий уменьшилась в 10 и более раз, а в последнем разведении роста колоний бактерий вообще не наблюдается.
2. Рост бактерий шигеллы Флекснера существенно замедляется и практически полностью прекращается после длительного (шестичасового) воздействия на относительно малые исходные концентрации бактерий. Однако, антимикробный эффект геля оксигидрата циркония в приборе

на культуру шигеллы Флекснера меньше по сравнению с его действием на кишечную палочку в сотни раз. Электрохимическая ячейка и в данном случае резко усиливает антимикробное действие оксигидрата циркония на кишечную палочку. Антимикробная эффективность геля оксигидрата циркония наблюдается для всех исходных концентраций бактерий.

3. Электрохимические кюветы с гелем оксигидрата железа не приводит к полному уничтожению (подавлению) синегнойной палочки. Длительное воздействие прибора и малая концентрации бактерий дает возможность добиться полного уничтожения бактериальной культуры в коллоидном растворе. Гель оксигидрата железа в ячейке сильно подавляет развитие и рост бактерий данной культуры, но не столь эффективно, как гель оксигидрата циркония.
4. Антимикробное действие этого геля на кишечную палочку ухудшается, если она находится в смеси с другими родами бактерий. Для стафилококка золотистого действие геля зависит от того, с какими культурами бактерий он находится в смеси. Если с синегнойной палочкой, то действие сильное и длительное, если – с кишечной палочкой, то сильное, но мгновенное и не длительно.
5. Нанокластеры геля оксигидрата иттрия оказывает максимальное антимикробное действие, по сравнению с нанокластерами оксигидратов циркония и железа. Это прослеживается даже для незначительных начальных разведений, когда в гелях оксигидратов циркония и железа наблюдался сплошной рост бактериальных культур. В случае гелей ГОИ уже через 2 часа работы электрохимической ячейки заметно существенное снижение числа бактериальных колоний, а через 24 часа для всех бактерий и при всех разведениях их рост не наблюдается, спустя 4 часа остаются единичные колонии бактерий.
6. Антимикробное действие увеличивается в ряду оксигидрат циркония – оксигидрат железа – оксигидрат иттрия.
7. Механизм действия частиц нанокластеров (как положительно, так и отрицательно заряженных) на микроорганизмы представляется так: гелевые нанокластеры оксигидратов адсорбируются на отрицательно заряженной поверхности бактериальной клетки, блокируя тем самым дыхание, питание, транспорт метаболитов через клеточную стенку бактерий. Ионная часть нанокластера может связываться с кислотными фосфолипидами, белками цитоплазматической мембраны, что приводит к ее разрыву (этот эффект зависит от концентрации и молекулярной массы реагирующих фрагментов).

Литература

- [1] Юшманова О.А. Комплексное использование и охрана водных ресурсов. М.: Агропромиздат. 1985. 112с.

- [2] Ивашков Е.А. Инфекции и антимикробная терапия. *М.: Медицина. 2002.* Т.4. 385с.
- [3] Yuri I. Sucharev. Nonlinearity of Colloid Systems: Oxyhydrate Systems. *Switzerland, UK, USA: Trans Tech Publications. 2007.* 433p.
- [4] Сухарев Ю.И., Марков Б.А. Нелинейность гелевых оксигидратных систем. *Екатеринбург: УрО РАН. 2005.* 468с.
- [5] Сухарев Ю.И., Марков Б.А., Лебедева И.Ю., Шарфунов И.А. Шумовые, почти периодические колебания в оксигидратах d- и f-элементов. *Бутлеровские сообщения. 2009.* Т.18. №.8. С.36-48.
- [6] Суздаев И.П. Нанотехнология: физико-химия нанокластеров, наноструктур и наноматериалов. *М.: КомКнига. 2006.* 592с.
- [7] Yuri I. Sucharev. Wave Oscillations in Colloid Oxyhydrates. *Switzerland, UK, USA: Trans Tech Publications LTD. 2010.* 497p.
- [8] Сухарев Ю.И., Марков Б.А., Лебедева И.Ю. и Шарфунов И.А. Шумовые, почти периодические колебания в оксигидратах d-и f-элементов. *Бутлеровские сообщения. 2010.*
- [9] Самойлов В.О. Медицинская биофизика. *Санкт-Петербург Спец Лит. 2007.* 559с.

=====

Ю.И. Сухарев, И.Ю. Апаликова. НАНОТОКОВЫЕ СЕГНЕТОЭЛЕКТРИКИ ГЕЛЕВЫХ ОКСИГИДРАТОВ. МОНОГРАФИЯ. Серия “Бутлеровское наследие”. Книга 1. – *Казань: Издательство ООО “Инновационно-издательский дом “Бутлеровское наследие”.* 2019. – 440с.

ISBN 978-5-9902124-4-2



Отпечатано 30 января 2019.
 Формат 165x240. Офсетная бумага 80 г/м².
 Печать – Цифровой офсет. 440с.
 Тираж 150 экз. Заказ 1.

© ООО “Инновационно-издательский дом “Бутлеровское наследие”.
 ул. Бондаренко, 33-44. Казань, 420066. Республика Татарстан. Россия.
 Сот. тел.: 8 917 891 2622.