

УДК 579.852.11, 579.861.2, 579.842.11, 579.61

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ СОЛЕЙ ЦИНКА НА РОСТ ПРОБИОТИЧЕСКИХ, ПАТОГЕННЫХ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ

Русяева М.Л., Филончикова Е.С., Сизенцов Я.А.

ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет», Оренбург,
e-mail: rusyeva1998@mail.ru

Данная статья посвящена изучению вопроса влияния солей, в качестве катиона которых выступает эссенциальный элемент – цинк, на рост пробиотических, патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Рассматриваемый вопрос имеет важное значение в связи с все растущей проблемой антибиотикорезистентности микроорганизмов. Антибиотикорезистентность микроорганизмов – это устойчивость патогенных микроорганизмов, вызывающих инфекционные заболевания к широкому спектру антибиотиков (бета-лактамы, макролиды, стероиды, тетрациклины, левомицетин, аминогликозиды, пептидные антибиотики, ванкомицин, полиены и антибиотики различного химического строения), т.е. происходит снижение их чувствительности к антибактериальным препаратам. Т.е. антибиотики начинают утрачивать свое практическое значение в борьбе с инфекционными агентами, что поднимает новый вопрос – какими еще средствами можно бороться с патогенными микроорганизмами, если антибиотики не действуют? Такими средствами могут выступать экстракты лекарственных растений (чистотел, дуб, ромашка, алоэ и др.), которые отчасти обладают антибактериальными свойствами или же – это металлы (медь, цинк), которые имеют высокий уровень бактерицидности. Данная проблема – резистентность микроорганизмов к антибиотическим препаратам – на текущий момент стоит также остро, как и раньше, потому что конкретного решения вопроса нет, а количество случаев заболеваний все возрастает.

Ключевые слова: антибиотикорезистентность, патогенные микроорганизмы, соли цинка

STUDYING THE EFFECTS OF ZINC SALTS ON THE GROWTH OF PROBIOTIC, PATHOGENIC AND CONDITIONALLY-PATHOGENIC STRAINS OF MICROORGANISMS

Rusyaeva M.L., Filonchikova E.S., Sizensov Y.A.

Orenburg State University, Orenburg, e-mail: rusyeva1998@mail.ru

This article is devoted to the study of the effect of salts, as a cation of which is an essential element – zinc, on the growth of probiotic, pathogenic and conditionally pathogenic microorganisms. The question under consideration is important in connection with the growing problem of the antibiotic resistance of microorganisms. Antibiotic resistance of microorganisms – is resistance of pathogenic microorganisms causing infectious diseases in a wide range of antibiotics (beta-lactams, macrolides, steroids, tetracyclines, chloramphenicol, aminoglycosides, peptide antibiotics, vancomycin, polyenes and antibiotics of different chemical structure), i.e. there is a decrease in their sensitivity to antibacterial drugs. Those antibiotics are beginning to lose their practical value in the fight against infectious agents, which raises a new question – what other means can pathogenic microorganisms fight if antibiotics do not work? Such means can be extracts of medicinal plants (celandine, oak, chamomile, aloe, etc.), which partly have antibacterial properties or they are metals (copper, zinc), which have a high level of bactericidal activity. This problem – the resistance of microorganisms to antibiotic drugs – is currently as acute as before, because there is no concrete solution to the issue, and the number of cases of diseases is increasing.

Keywords: antibiotic resistance, pathogenic microorganisms, zinc salts

Антибиотикорезистентность – устойчивость возбудителей различных инфекционных заболеваний к широкому спектру антибиотиков, т.е. происходит снижение чувствительности патогенной микрофлоры к антибактериальным препаратам. Данная проблема является глобальной для всего человечества. И с каждым днем становится все более сложно бороться с окружающими, и населяющими нас микроорганизмами. Все это связано с такими общеизвестными фактами, как то, что в последние десятилетия не было создано ни одной новой молекулы антибиотиков; фармацевтические предприятия не заинтересованы в разработках дру-

гих антибиотиков; а также, использование антибиотиков не по назначению – т.е. когда люди сами себе прописывают препараты не зная причину своего недуга и т.д. [1]

Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам может быть двух типов: природная и приобретенная. Приобретенная устойчивость заключается чаще всего в синтезе ферментов, которые изменяют или инактивируют антибактериальные средства (бета-лактамазы, ацетилтрансферазы и др.). Отсутствие у микроорганизма мишени, на которую непосредственно влияет антибиотик, выражает его природную устойчивость. Наиболее быстро вырабатывают устойчи-

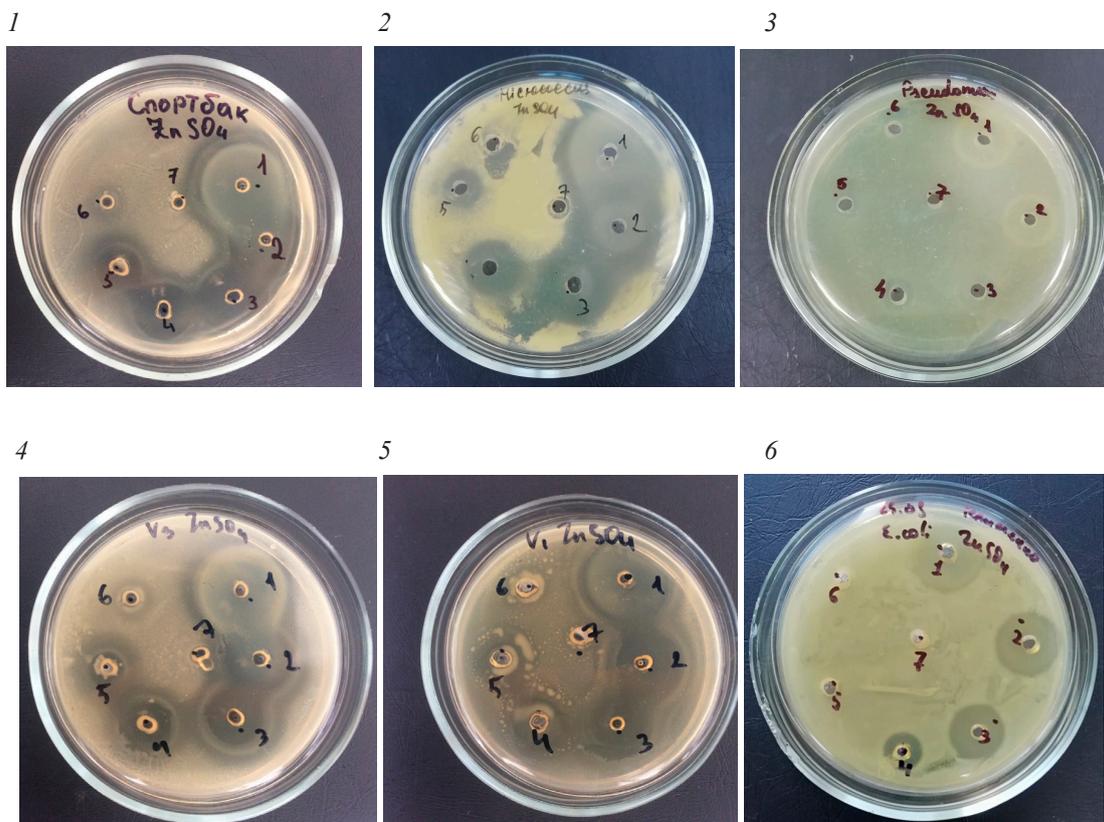
вость к используемым в настоящее время антибиотикам стафилококки, пневмококки и т.д. [2].

В связи с растущей проблемой антибиотикорезистентности многие ученые и исследователи пытаются разработать другие эффективные средства отличные от антибиотиков, которые бы имели аналогичное или даже превышающее их бактерицидное действие. В качестве таких средств могут быть использованы экстракты лекарственных растений, металлы и другое. Но, например, многие лекарственные растения обладающие хорошими ранозаживляющими, затягивающими свойствами, не имеют выраженного бактерицидного действия, что не может быть использовано для прекращения развития патогенных микроорганизмов в ране. А цинковая мазь, в состав которой входит только оксид цинка и вазелин, обладает помимо адсорбирующего, подсушивающего действия, еще и антисептическое. Т.е. использование эссенциальных элементов в составе антимикробных препаратов для предотвращения развития инфекции является открытой областью, которую необходимо тщательно изучить [2–3].

Таким образом, все эти средства – антибиотики, экстракты лекарственных растений, эссенциальные металлы – используемые по отдельности сейчас, могут быть применены для создания высокоэффективного бактерицидного, ранозаживляющего препарата путем совмещения их действий.

В следствие этого, целью нашего исследования является изучение бактерицидного действия солей, в состав которых в качестве катиона выступает эссенциальный элемент – цинк, по отношению к пробиотическим, патогенным и условно-патогенным штаммам микроорганизмов (рисунок).

В качестве объектов исследования были использованы такие штаммы микроорганизмов, как четыре пробиотических препарата на основе бактерий рода *Bacillus*: Споробактерин (*B. subtilis* 534), Ветом 1.1 (*B. subtilis* 10641), Ветом 3 (*B. amyloliquefaciens* 10642), Ветом 4 (*B. amyloliquefaciens* 10643), условно-патогенные микроорганизмы: *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, а также патогенный штамм: *Pseudomonas aeruginosa*. В качестве бактерицидных факторов в работе использовались сульфат цинка ($ZnSO_4$), нитрат цинка ($Zn(NO_3)_2$) и ацетат цинка ($Zn(CH_3COO)_2$).



Влияние $ZnSO_4$ на рост исследуемых микроорганизмов:
 1 – *B. subtilis* 534; 2 – *M. luteus*; 3 – *P. aeruginosa*; 4 – *B. amyloliquefaciens* 10642;
 5 – *B. subtilis* 10641; 6 – *E. coli*

Для оценки биотоксичности солей цинка использовали метод агаровых лунок, выбор данного метода объясняется тем, что он позволяет не только качественно, но и количественно оценить влияние химических соединений на рост анализируемых микроорганизмов [4].

Методика выполнения заключается в следующем: изучаемый микроорганизм высевали сплошным «газоном» на поверхность агаровой пластинки (1,5% МПА) в чашке Петри. После этого, пробочным сверлом (диаметр 5 мм) вырезали агаровые блочки, при этом на одной чашке Петри можно разместить до 7 агаровых лунок в которые в последующем вносили исследуемые концентрации веществ для оценки их ингибирующего и субингибирующего эффекта. Чашки помещали в термостат на 24 часа при температуре 37°C. После инкубирования производили визуальную оценку действия исследуемого металла на рост популяции. Отсутствие зон подавления роста свидетельствовало о отсутствии

влияния либо соли в целом (как правило данное явление отмечалось у солей с низки уровнем диссоциации), либо определенной концентрации. В том случае если исследуемое вещество обладало высокой бактерицидной активностью в отношении исследуемого микроорганизма регистрировали значительные зоны подавления роста вокруг лунки [5].

Данные, представленные на рисунке, показывают, что высокие концентрации катионов цинка оказывают выраженный бактерицидный эффект как в отношении пробиотических штаммов, так и в отношении патогенных и условно-патогенных штаммов микроорганизмов. Т.е. наблюдается прямая зависимость между концентрацией химического вещества и зоной подавления роста микроорганизма, по мере снижения концентрации уменьшается диаметр зоны подавления вплоть до ее отсутствия. Обобщенные данные по изучению влияния солей цинка на исследуемые микроорганизмы представлены в таблице.

Оценка влияния солей цинка на рост исследуемых микроорганизмов

Исследуемые микроорганизмы	ZnSO ₄ , мг/мл						
	1148	574	287	143,5	71,75	35,875	17,9375
<i>B. subtilis</i> 534	27,4 ± 0,6782	22,6 ± 0,6782	21 ± 0,5477	17 ± 1,3038	11,2 ± 2,8178	7,4 ± 2,1587	–
<i>B. subtilis</i> 10641	31,6 ± 0,6782	21,6 ± 1,7204	17,6 ± 1,9899	22,8 ± 1,3928	16,8 ± 4,2356	–	–
<i>B. amyloliquefaciens</i> 10642	34 ± 1,1402	23,8 ± 1,3565	19 ± 1,1402	17,2 ± 0,6633	12,2 ± 0,6633	9,4 ± 1,1225	–
<i>B. amyloliquefaciens</i> 10643	34,6 ± 2,9257	31,4 ± 2,9086	29,2 ± 2,8531	25,8 ± 3,2156	19,4 ± 4,9558	20,4 ± 5,1245	12,6 ± 3,7762
<i>S. aureus</i>	30,8 ± 0,3742	27 ± 0,3162	23,2 ± 0,7348	18 ± 0,5477	14 ± 0,8366	9,4 ± 0,7483	–
<i>E. coli</i>	23 ± 0,5477	20,6 ± 0,4	17,6 ± 0,6782	13,4 ± 0,7483	6,2 ± 2,6344	–	–
<i>P. aeruginosa</i>	22,8 ± 0,8602	18,4 ± 0,5099	13 ± 0,5477	10 ± 0,3162	8,6 ± 0,2450	–	–
<i>M. luteus</i>	38,2 ± 1,2806	32,6 ± 0,87178	28 ± 1,3038	19 ± 0,7072	13 ± 0,5477	–	–
	Zn (CH ₃ COO) ₂ , мг/мл						
	812	406	203	101,5	50,75	25,375	12,6875
<i>B. subtilis</i> 534	26 ± 1,4142	23,8 ± 1,1136	22 ± 1,0955	16,8 ± 0,6633	12,6 ± 0,6782	12,4 ± 1,4353	–
<i>B. subtilis</i> 10641	29,6 ± 0,2449	23,4 ± 1,2249	17,2 ± 2,1307	15,2 ± 5,5533	–	–	–
<i>B. amyloliquefaciens</i> 10642	29,8 ± 0,8	23,2 ± 0,5831	21 ± 0,7071	16,2 ± 0,5831	13 ± 0,8944	12,6 ± 0,8124	–
<i>B. amyloliquefaciens</i> 10643	32,4 ± 1,7493	30,6 ± 0,8718	29 ± 0,8367	26,8 ± 1,0198	19,8 ± 5,0139	13,2 ± 5,4718	10 ± 4,0866
<i>S. aureus</i>	27,8 ± 0,2	23,4 ± 0,8178	19,2 ± 0,9695	12 ± 0,3162	7 ± 0,3162	–	–
<i>E. coli</i>	21,2 ± 0,7348	18,4 ± 0,8124	14,4 ± 0,5099	7,8 ± 2,1071	–	–	–

Окончание табл.

	Zn (CH ₃ COO) ₂ , мг/мл						
	812	406	203	101,5	50,75	25,375	12,6875
<i>P. aeruginosa</i>	16,2 ± 0,5831	12,8 ± 0,3742	10,6 ± 0,5099	7,4 ± 1,8601	–	–	–
<i>M. luteus</i>	32,8 ± 0,8602	30,8 ± 0,7350	24 ± 0,4472	17,6 ± 1,2083	11,4 ± 1,0296	–	–
	Zn(NO ₃) ₂ , мг/мл						
	1188	594	297	148,5	74,25	37,125	18,5625
<i>B. subtilis</i> 534	26,4 ± 1,6309	23,8 ± 1,3565	21 ± 0,6325	18 ± 0,3162	13 ± 0,8944	8,8 ± 2,2226	–
<i>B. subtilis</i> 10641	28,4 ± 0,9274	22 ± 1,0488	16,4 ± 0,4	25 ± 2,7928	14,6 ± 6,005	–	–
<i>B. amyloliquefaciens</i> 10642	28,8 ± 0,5831	23,2 ± 0,2	19,4 ± 0,6782	16,2 ± 0,5831	13 ± 0,8944	12,6 ± 0,8124	–
<i>B. amyloliquefaciens</i> 10643	34,6 ± 0,6782	25,2 ± 6,4141	29,2 ± 1,2	27,4 ± 1,7205	23,6 ± 0,8124	21 ± 0,6325	–
<i>S. aureus</i>	27,8 ± 0,6633	23,6 ± 0,9274	18,6 ± 0,6782	12,6 ± 1,6309	9,2 ± 0,8	5,4 ± 1,3638	–
<i>E. coli</i>	22,2 ± 0,4899	18,2 ± 0,8	17 ± 0,5477	9,4 ± 0,6782	4 ± 1,7029	–	–
<i>P. aeruginosa</i>	20,8 ± 0,4899	15,8 ± 0,7348	12,2 ± 0,3742	10,6 ± 0,4	8,6 ± 0,2449	–	–
<i>M. luteus</i>	35,4 ± 0,5099	31,8 ± 0,4890	23,6 ± 0,6	18,4 ± 0,6782	14,2 ± 0,3742	–	–

При исследовании влияния анионных компонентов цинка на пробиотические, патогенные и условно-патогенные штаммы были получены следующие результаты. Исследования показывают о достаточно выраженном токсическом влиянии всех исследуемых солей цинка не зависимо от анионного компонента в отношении изучаемых микроорганизмов. Но следует отметить, что наиболее выраженным токсическим эффектом в отношении микроорганизмов *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *M. luteus* обладает сульфат цинка, однако значения зон подавления роста, которого, незначительно превысили значения ацетата и нитрата цинка для изучаемых штаммов. Данная зависимость также наблюдается и в отношении пробиотических штаммов (*B. subtilis*, 534 *B. subtilis* 106,4 *B. amyloliquefaciens* 10642,1 *B. amyloliquefaciens* 10643)

Также было установлено, что в отношении нитрата, сульфата и ацетата цинка наиболее устойчивым оказался патогенный штамм *P. aeruginosa*.

Список литературы

1. Намазанова-Баранова Л.С. Антибиотикорезистентность в современном мире / Л.С. Намазанова-Баранова, А.А. Баранов // Педиатрическая фармакология. – 2017. – № 5. – С. 341 – 354.
2. Ибрагимов Р.Р. Проблема антибиотикорезистентности в современном мире / Р.Р. Ибрагимов, П.А. Кузнецов // Международный студенческий форум 2017. Актуальные вопросы современной микробиологии и иммунологии. – <https://scienceforum.ru/2017/article/2017031534> (дата обращения: 12.04.2019).
3. Чичерина В.Р. Использование результатов по изучению токсичности катионов цинка на рост микроорганизмов в образовательном процессе / В.Р. Чичерина, О.П. Клименко, В.А. Сербова [и др.] // Университетский комплекс как региональный центр образования, науки и культуры материалы Всероссийской научно-методической конференции. Министрство образования и науки РФ, ФГБОУ ВО «Оренбургский государственный университет». – 2018. – С. 2855–2860.
4. Королькова Д.С. Определение минимальных подавляющих концентраций солей цинка на рост пробиотических штаммов бактерий рода *Bacillus* / Д.С. Королькова, М.Л. Русяева, И.В. Коробова // Международный студенческий вестник. – 2018. – № 4–3. – С. 411–414.
5. Морозова Н.В. Оценка резистентности пробиотических штаммов микроорганизмов к эссенциальным и токсичным тяжелым металлам / Н.В. Морозова, И.В. Коробова // Российский иммунологический журнал. – 2017. – Т.11(20). – № 3. – С. 427–428.