

Министерство образования и науки Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Оренбургский государственный университет»

Кафедра биохимии и микробиологии

О.А. Науменко

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НАНОАКВАХЕЛАТОВ МЕТАЛЛОВ

Методические указания

Рекомендовано редакционно – издательским советом федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Оренбургский государственный университет» для обучающихся по образовательной программе высшего образования по направлению подготовки 06.04.01 Биология

Оренбург
2018

УДК 577.3 (076.5)
ББК 28.071я7
Н 34

Рецензент – доцент, кандидат биологических наук О.Я. Соколова

Науменко, О.А.
Н 34 Оценка биологического действия наноаквахелатов металлов: методические указания / О.А. Науменко; Оренбургский гос. ун-т. – Оренбург: ОГУ, 2018. – 22 с.

Методические указания содержат теоретический материал по теме применения нанометаллов в биоинженерии, методику осуществления лабораторных работ с нанометаллами, вопросы к защите лабораторных работ в соответствии с требованиями рабочей программы.

Методические указания предназначены для обучающихся по направлению подготовки 06.04.01 Биология, магистерской программы «Биохимия и молекулярная биология». Методические указания являются вспомогательным материалом для научно - исследовательской работы обучающихся.

УДК 577.3 (076.5)
ББК 28.071я7

© Науменко О.А., 2018
©ОГУ, 2018

Содержание

Введение.....	4
1 Применение нанометаллов в биоинженерии	5
1.1 Виды нанометаллов	5
1.2 Применение металлических наноматериалов.....	6
1.3 Отрицательный эффект металлических наночастиц.....	8
1.4 Классификация наноаквахелатов металлов по	9
биологическому действию	9
2 Лабораторные работы.....	10
2.1 Проверка наноаквахелатов биогенных металлов на цитотоксичность ..	10
2.2 Лабораторная работа по исследованию кожно - резорбтивного и раздражающего эффекта наноаквахелатов металлов на кожу белых мышей	11
2.3 Лабораторная работа по исследованию местного раздражающего действия наноаквахелатов металлов на кожу кроликов	14
2.4 Лабораторная работа по исследованию местного раздражающего действия наноаквахелатов металлов на слизистые оболочки лабораторных животных	15
2.5 Оценка неспецифических показателей сенсibilизации морских свинок наноаквахелатами металлов.....	16
2.6 Антимикробные свойства и химиотерапевтическая активность наноаквахелатов металлов	17
Список использованных источников	21

Введение

Нанотехнология широким фронтом входит в различные отрасли современной науки и техники, воплощаясь в разнообразные практические разработки с высоким экономическим эффектом.

Нанотехнологии (от греч. «карлик») – технологии манипулирования веществом на атомном и молекулярном уровне, что позволяет создавать новые материалы с заданными свойствами. В 1974 году Норио Танигучи (Япония) высказал мнение, что понятие нанотехнология включает в себя описание процессов построения новых объектов и материалов при помощи манипуляций с отдельными атомами. Это практическое использование сверхмалых величин, которые получили название наноединицы (10^{-9} начальной физической величины любого процесса).

В России нанотехнологии начали развиваться официально преимущественно с 2007 года. Связанные с этими технологиями биоинженерные разработки в сфере биологии, медицины, ветеринарии и сельского хозяйства пока еще не имеют достаточного распространения. Учитывая это, актуальным представляется изучение дисциплины «Биоинженерия» магистрами направления подготовки 06.04.01 Биология по программа Биохимия и молекулярная биология.

Методические указания, необходимы для освоения магистрами методов практической биоинженерии с использованием нанобиотехнологий относительно полученных нанопрепаратов и наноматериалов.

1 Применение нанометаллов в биоинженерии

1.1 Виды нанометаллов

Термин нанотехнология объединяет разные представления, подходы и методы влияния на вещество: чаще всего приставку «нано» относят к размерам в масштабе нескольких нанометров. Один нанометр (нм) соответствует величине всего 10 атомов водорода. Бактерии измеряются несколькими сотнями нанометров, а размеры многих вирусов около 10 нм. Белковые молекулы преимущественно равны 1 нм, такую же величину имеет спираль молекулы ДНК. Наименьшие элементы, которые способен рассмотреть невооруженный глаз человека, составляет 10 000 нм. Для сравнения, толщина человеческого волоса составляет приблизительно 50 000 нм.

При применении металлов в медицине особое внимание обращают на их токсичность. Относительно уровня токсичности наночастиц металлов в настоящее время единого мнения в ученых нет. Если в работах [1,2] отмечается высокая токсичность металлических наночастиц, то в работе [3] приведены данные, согласно которым токсичность наночастиц металлов значительно меньше, чем токсичность ионов металлов, полученных с применением неорганических солей. В то же время установлено, что биоцидные свойства металлических наноматериалов ярко выражены в отношении болезнетворных микроорганизмов, и в отличие от ионов неорганических солей этих же металлов при этом не проявляют токсичность к млекопитающим.

В науке выделяют новое направление в нанотехнологии, а именно эрозионно-взрывные нанотехнологии, которые можно условно разделить на шесть основных групп:

а) эрозионно-взрывные нанотехнологии получения новых наноматериалов;

б) аккумуляции энергии;

в) получения новых видов топлива;

г) рафинирования металлов;

д) очистки загрязненных стоков;

е) диспергирования органических веществ.

Наибольший интерес представляют нанотехнологии первой группы, с помощью которых были синтезированы новые наноматериалы:

- неионные коллоидные растворы наночастиц металлов;

- электрически нейтральные и электрически заряженные коллоидные наночастицы металлов как в кристаллическом, так и в аморфном состоянии;

- структурированные агломераты наночастиц металлов;

- наногальванические элементы;

- класс комплексных соединений – высококоординационные анионоподобные аквахелаты нанометаллов, или наноаквахелаты.

Применение металлических наноматериалов в биологии представляется чрезвычайно перспективным.

1.2 Применение металлических наноматериалов

Металлические наноматериалы применяются для нескольких целей.

Обеззараживание воды. При использовании коллоидного серебра и меди (медь потенцирует антисептические свойства серебра) в концентрации 0,05-0,1 ppm имеет место абсолютная стерилизация даже сильно загрязненной воды.

Дезинфекция животноводческих помещений. Установлена высокая эффективность обеззараживания помещений действующего свиного комплекса.

Использование фильтров и мембран на основе наноматериалов для очистки воды, соков, вина, воздуха.

Антимикробные препараты широкого спектра действия. На основе наноматериалов предоставляется возможность создания универсальных препаратов широкого спектра антимикробного, противовирусного и антигрибкового действия; при этом устраняются проблемы антисептической резистентности, дисбактериоза. При одинаковой антимикробной активности в десятки тысяч раз уменьшается токсичность лечебных средств.

В хирургии. Наноаквахелаты Ag, Си, Zn оказались эффективными при лечении ран – сокращаются сроки заживления за счет интенсификации гемопоза, самоочищения, рубцевания и эпителизации. Применение наноаквахелатов серебра, меди, цинка, магния при изготовлении шовных хирургических нитей позволяет расширить спектр бактерицидного действия нити как за счет разной направленности биоцидного действия нескольких металлов, так и за счет взаимного синергичного усиления действия наноаквахелатов металлов при совместном их использовании.

Наноаквахелаты металлов, в первую очередь Ag, Си, Zn, проявили высокую терапевтическую активность при терапии инфекционных конъюнктивокератитов у животных.

Кормовые добавки. В животноводстве и птицеводстве металлические наноматериалы применяют при создании новых кормов. Использование таких кормов обеспечивает повышение производительности животных в 1,5 раза, ускорение темпов роста и повышения стойкости к стрессам и инфекциям, уменьшению отхода молодняка.

Дезинвазия объектов окружающей среды. Актуальным является поиск максимально эффективных способов с экологически безопасным

действием. Доказано получение безопасного и высококачественного обеззараживающего эффекта наноаквахелатов Ag, Си, Zn, Mg на возбудителей наиболее распространенных болезней животных и птиц.

1.3 Отрицательный эффект металлических наночастиц

Однако наряду с очевидными преимуществами, внедрение нанотехнологий может привести к негативным последствиям для окружающей среды и здоровья животных и людей. Среди исследователей единого мнения относительно опасности наноматериалов нет. Некоторые из них считают, что мощное антимикробное действие наночастиц биоцидных металлов может распространиться на другие живые микроорганизмы и создать опасность для окружающей среды.

Наночастицы являются побочным продуктом человеческой деятельности (процессы сварки, работа бензиновых и дизельных двигателей) и целевым продуктом в нанотехнологиях (полупроводниковые окислы металлов для сенсоров, и фотокатализа, углеродные нанотрубки, бактерицидные наночастицы серебра и висмута, материалы для косметики и др.). Выбросы наночастиц в атмосферу существенно увеличиваются из года в год. Рост нанопроизводства можно охарактеризовать следующими цифрами: в 2004 г. мировое производство составляло 1000 т, в 2007 г. – около 2500 т, за период 2011 – 2020 гг. предусматривается около 58000 т на год. Становится очевидным, что нельзя игнорировать возможное негативное влияние наночастиц на здоровье человека, связанное с несанкционированными выбросами их в технологической зоне, а также и загрязнение окружающей среды. Уже накопленный научный материал вызывает беспокойство по поводу вредного действия наночастиц и коллоидных растворов наночастиц на живые организмы.

Важнейшими параметрами, которые определяют негативное влияние наночастиц на здоровье, является их способность проникать в

альвеолярные участки легких, в системный круг кровообращения и дальше в мозг, поражая центральную нервную систему. При этом наночастицы вызывают механические, токсические, иммунологические повреждения. Для аэрозольных наночастиц характерна высокая удельная поверхность, а также, иногда, высокая степень неравновесности, что приводит к значительной концентрации радикальных центров на поверхности и, как следствие, к высокой токсичности.

Действие наночастиц и коллоидных растворов на кожные покровы приводит к воспалению лимфатической системы. В частности, вдыхание наночастиц меди вызывает поражение почек, печени и селезенки у мышей, а наночастиц цинка – поражение почек.

1.4 Классификация наноаквахелатов металлов по биологическому действию

Основываясь на данных литературы и собственных наблюдениях, всю совокупность использованных в наших исследованиях наноаквахелатов металлов (Ag, Си, Zn, Mg, Co, Fe), полученных с помощью электроимпульсной нанотехнологии, с концентрацией металлов 50-100 м г /л разделяем на три группы:

- 1) наноаквахелаты металлов с выраженными биоцидными свойствами – наноаквахелат Ag;
- 2) наноаквахелаты металлов с выраженными биогенными свойствами – наноаквахелаты Си, Zn, Co, Fe;
- 3) наноаквахелаты металлов, которые в определенной мере обладают обоими этими свойствами – наноаквахелат Mg.

2 Лабораторные работы

2.1 Проверка наноаквахелатов биогенных металлов на цитотоксичность

Цель работы: провести проверку наноаквахелатов 1, 2 и 3 групп на цитотоксичность.

Реактивы и оборудование: растворы наноаквахелатов Ag, Си, Zn, Mg, Со, Fe, 1 % раствор трипанового синего, фосфатный буфер pH 7,2 -7,3, среда «Игла», камера Горяева, наноаквахелаты биогенных металлов, клеточная культура MDBK (перевивная культура клеток почки теленка), выращенная микрометодом на 96-луночном планшете (Costar) с последующим культивированием при 37 °С в CO₂-инкубаторе 5 суток.

Методика выполнения работы:

Наноаквахелаты 1, 2 и 3 групп добавляют в среду «Игла» к монослою клеточной культуры MDBK. Контролем служат клеточные культуры без добавления наноаквахелатов.

Жизнеспособность клеток оценивается после окрашивания 1 % раствором трипанового синего, приготовленного на фосфатном буфере pH 7,2 -7,3. Через 5 минут после внесения краски подсчитывается количество живых клеток (неокрашенных) и мертвых клеток (окрашенных) в камере Горяева и по стандартной формуле определяли количество клеток в 1 мл. Токсичность разных наноаквахелатов металлов определяется сравнением показателя жизнеспособных клеток, которые подвергались действию наноаквахелатов металлов. Результаты исследований заносят в таблицу 1.

Таблица 1 – Влияние наноаквахелатов разных металлов на культуру клеток (M в %, n = 5)

Наноаквахелаты металлов	Живые клетки, %	Мертвые клетки, %
Ag	2,1	97,9
Cu	95,2	4,8
Zn	96,2	3,8
Mg	78,4	21,6
Co	94,0	6,0
Fe	95,8	4,2

Вопросы к лабораторной работе

1. Что такое наноаквахелаты.
2. Какие группы наноаквахелатов выделяет.
3. Где используют наноаквахелаты.
4. Какова методика исследования действия наноаквахелатов на биотоксичность.
5. Сделайте выводы о токсичности каждого из исследованных наноаквахелатов на культуру клеток по данным представленным в таблице 1.
6. Проведите сравнительный анализ биотоксичности наноаквахелатов между собой по данным представленным в таблице 1.

2.2 Лабораторная работа по исследованию кожно - резорбтивного и раздражающего эффекта наноаквахелатов металлов на кожу белых мышей

Цель работы: провести проверку резорбтивного и раздражающего действия наноаквахелатов 1, 2 и 3 групп на организм белых мышей.

Реактивы и оборудование: смесь наноаквахелатов Ag, Си, Zn, Mg, Co, Fe с общей концентрацией металлов 70-100 мг/л, 0,9% раствор натрия хлорида, белые мыши линии «Вистер», колориметрическая линейка С. И. Суворова, измеритель толщины кожной складки ТР-1 -10.

Методика выполнения работы:

Изучение проводится на двух белых крысах. Предварительно выстригается шерсть на участке спины с обеих сторон несколько ниже позвоночника. Кожу на контрольном и опытных участках повреждают путем нанесения неглубоких царапин в виде сетки.

Смесь наноаквахелатов Ag, Си, Zn, Mg, Co, Fe с общей концентрацией металлов 70-100 мг/л дважды в день наносят на исследуемый участок кожи на протяжении 14 дней.

Контрольный участок кожи аналогично обрабатывают стерильным изотоническим раствором натрия хлорида.

О резорбции судят по изменению массы тела и состояния нервной системы по суммарно-пороговым показателям (СПП), спонтанной двигательной активности (СДА), ориентировочной реакции по вертикальному компоненту (ВДА) и норковому рефлексу.

Оценку функционального состояния кожи животных в процессе опыта выражают в баллах в соответствии с проявлением степени отека и эритемы. Выраженность эритемы определяют визуально и при помощи колориметрической линейки С. И. Суворова, а величину отека определяют, измеряя толщину кожной складки при помощи измерителя толщины ТР-1 - 10.

Результаты проведенных исследований относительно кожно-резорбтивного действия заносят в таблицу 2.

Таблица 2 – Показатели кожно-резорбтивного воздействия наноаквахелатов Ag, Си, Zn, Mg, Co, Fe на организм белых крыс ($M \pm m$)

Показатель	Контроль	Опыт
Масса тела, г	$190,0 \pm 4,5$	$191,0 \pm 4,6$
СПП, условн. ед.	$6,20 \pm 0,47$	$6,30 \pm 0,53$
ВДА за 1 мин	$9,90 \pm 0,38$	$9,70 \pm 0,57$
СДА за 15 мин	419 ± 21	425 ± 27
Норковый рефлекс за 3 мин	$7,90 \pm 0,65$	$7,80 \pm 0,53$

В эксперименте на крысах оценивают местное раздражающее действие наноаквахелатов металлов. Оценки степеней эритемы и отека суммируют для каждой подопытной группы животных, после чего вычисляют среднюю оценку выраженности раздражающего действия.

Вопросы к лабораторной работе

1. Сделайте выводы о кожно-резорбтивном воздействии наноаквахелатов Ag, Си, Zn, Mg, Со, Fe на организм белых крыс по данным представленным в таблице 2.

2. Как можно оценить раздражающее действия наноаквахелатов металлов на кожные покровы, если в результате исследований у животных: эритема – 0 баллов; толщина кожной складки на контрольном участке – $1,96 \pm 0,04$ мм, на опытном – $1,97 \pm 0,07$ мм.

3. Как можно оценить раздражающее действие наноаквахелатов металлов на кожу крыс, если на коже, обработанной наноаквахелатами Ag, Си, Zn, Mg, Со, Fe, заживление искусственно нанесенных ран проходит в 1,5 – 2,0 раза быстрее, чем в контроле.

2.3 Лабораторная работа по исследованию местного раздражающего действия наноаквахелатов металлов на кожу кроликов

Цель работы: провести оценку местного раздражающего действия наноаквахелатов 1, 2 и 3 групп на кожу кроликов.

Реактивы и оборудование: смесь наноаквахелатов Ag, Си, Zn, Mg, Со, Fe с общей концентрацией металлов 70-100 мг/л, 0,9% раствор натрия хлорида, кролики.

Методика выполнения работы:

Изучение проводится на двух кроликах. Раздражающее действие наноаквахелатов металлов проводится путем аппликаций под повязку смеси наноаквахелатов Ag, Си, Zn, Mg, Со, Fe с общей концентрацией металлов 70-100 мг/л на 24 часа по методу Драйзе.

На предварительно выстриженные участки кожи кроликов под компресс кладут марлевые салфетки, пропитанные наноаквахелатами металлов, на контрольный участок кожи – марлевые салфетки, пропитанные изотоническим раствором хлорида натрия.

Оценку проводят с учетом цвета, тургора, эластичности кожи, возникновения отека, гиперемии, шелушения. По окончании экспозиции на обоих участках кожи кроликов отмечают признаки раздражающего действия наноаквахелатов металлов.

Вопросы к лабораторной работе

1. Сделайте выводы о раздражающем действии наноаквахелатов Ag, Си, Zn, Mg, Со, Fe на неповрежденную и скарифицированную кожу животных (кроликов), если по окончании экспозиции на обоих участках кожи кроликов не выявлено различий в цвете, тургоре, эластичности кожи, отечности, гиперемии, шелушении как при однократной, так и при повторных аппликациях.

2.4 Лабораторная работа по исследованию местного раздражающего действия наноаквахелатов металлов на слизистые оболочки лабораторных животных

Цель работы: провести оценку местного раздражающего действия наноаквахелатов 1, 2 и 3 групп на слизистые конъюнктивы глаз кроликов.

Реактивы и оборудование: смесь наноаквахелатов Ag, Си, Zn, Mg, Со, Fe с общей концентрацией металлов 70-100 мг/л, 0,9% раствор натрия хлорида, кролики.

Методика выполнения работы:

Изучение проводится на двух кроликах. Степень раздражающего действия наноаквахелатов металлов проводится путем действия на слизистые оболочки глаз кроликов, которым наноквахелаты металлов закапывают в конъюнктивальный мешок правого глаза в количестве 2 капель. Левый глаз - контрольный. Реакцию слизистой оболочки исследуемого глаза, век и роговицы регистрируют сразу после внесения наноаквахелатов металлов и на протяжении 7 дней наблюдений.

Вопросы к лабораторной работе

1. Сделайте выводы о раздражающем действии наноаквахелатов Ag, Си, Zn, Mg, Со, Fe на конъюнктиву глаз (кроликов), если по окончании экспозиции отмечались: слабая гиперемия и незначительный отек конъюнктивы, а также небольшие слизистые выделения, при этом конъюнктивит не развился у кроликов на протяжении 10-12 часов.

2.5 Оценка неспецифических показателей сенсibilизации морских свинок наноаквахелатами металлов

Цель работы: провести оценку показателей сенсibilизации действия наноаквахелатов 1, 2 и 3 групп на морских свинок.

Реактивы и оборудование: смесь наноаквахелатов Ag, Си, Zn, Mg, Со, Fe с общей концентрацией металлов 70-100 мг/л, 0,9% раствор натрия хлорида, морские свинки.

Методика выполнения работы:

Исследование сенсibilизирующего действия наноаквахелатов металлов проводится на морских свинках методом комплексного подкожного и внутрикожного введения.

О проявлении сенсibilизации судят по специфическому кожному тесту и по неспецифическому показателю – уровню гистамина (по методу А. В. Телятникова, Н. М. Хомина, В. Б. Борисевича, 2006), а также подсчете эозинофилов в периферической крови. Результаты заносят в таблицу 3.

Таблица 3 – Результаты оценки неспецифических показателей сенсibilизации морских свинок наноаквахелатами металлов

Показатель	Контроль	Опыт
Количество эозинофилов, кл/мм ³	23,5±2,3	24,2±2,5
Уровень гистамина, мкг/мл	28,6±2,8	29,5±3,3

Вопросы к лабораторной работе

1. Проведите сравнительный анализ показателей и сделайте выводы о сенсibilизирующем действии наноаквахелатов Ag, Си, Zn, Mg, Со, Fe на морских свинок по таблице 3.

2. Оцените сенсibilизирующий эффект наноаквахелатов Ag, Си, Zn, Mg, Со, Fe, если по окончании эксперимента кожная реакция не

отмечалась, не было выявлено разницы в количестве эозинофилов и гистамина в периферической крови опытных и контрольных животных.

2.6 Антимикробные свойства и химиотерапевтическая активность наноаквахелатов металлов

Интенсивное внедрение достижений нанотехнологии как в ветеринарную, так и в гуманную медицину, не может не касаться микробиологии (рисунок 1). Исследования бактерицидной и бактериостатической активности наноаквахелаты металлов проводятся с целью определения возможности их химиотерапевтического применения в медицине и ветеринарии.

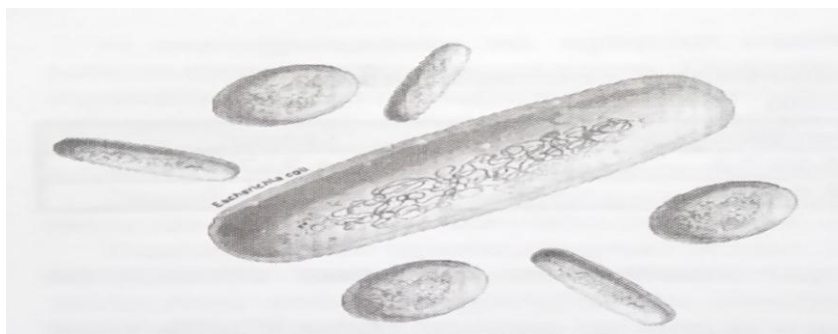


Рисунок 1 - Палочкообразные и кокковые микроорганизмы

Наноаквахелаты металлов обладают не только стимулирующей (биоогенной), но и бактерицидной активностью.

Цель работы: провести оценку противомикробного действия наноаквахелатов 1, 2 и 3 групп на микроорганизмы.

Реактивы и оборудование: смесь наноаквахелатов Ag, Си, Zn, Mg, Со, Fe с общей концентрацией металлов 70-100 мг/л, 0,9% раствор натрия хлорида, тест – культуры бактерий, белые мыши.

Методика выполнения работы:

Противомикробные свойства наноаквахелатов металлов, полученных с помощью электро-импульсной нанотехнологии, изучают на музейных и полевых штаммах микроорганизмов типичных по морфологическим, тинкториальным, культуральным, биохимическим и серологическим свойствам. Бактерии культивируют на мясо-пептонном бульоне и агаре с рН 7,2-7,4.

Чувствительность микроорганизмов определяют методом серийных разведений. Суспензию тест-культуры готовят на изотоническом растворе натрия хлорида плотностью 200 КОЕ ед/мл. Посевы инкубируют (рисунок 2) при 37 °С на протяжении 18-48 часов (в зависимости от вида микроорганизма).

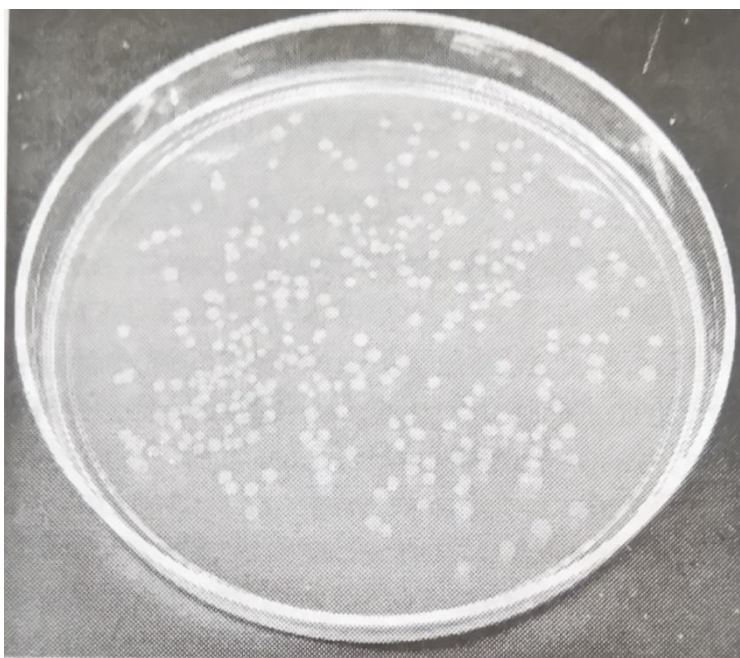


Рисунок 2 - Колонии микроорганизмов на агаре

С целью оценки бактерицидного действия наноаквахелата металла из пробирок с бульоном проводят посевы на агар. Бактерицидной считается та концентрация наноаквахелата металла в последней пробирке, при посеве из которой отсутствует рост бактерий.

Результаты бактериостатической активности наноаквахелатов металлов учитывают по пробирке с отчетливо заметной задержкой роста культуры. Эту концентрацию наноаквахелатов металлов считают минимальной бактериостатической.

Химиотерапевтическую активность наноаквахелатов металлов оценивают в опытах на белых мышах-самцах со средней массой тела 18 ± 2 г. В каждый опыт подбирают по три группы животных. Патогенные культуры кишечной палочки и стафилококка вводят подопытным мышам однократно внутрибрюшинно по одной абсолютно смертельной дозе. Микробные культуры применяют в дозе, которая вызывает гибель 50 % животных. Суточные агаровые культуры разводят изотоническим раствором натрия хлорида. Объем вводимой жидкости составляет 1 мл. Подопытным животным инъецируют культуры микроорганизмов, а интактным – изотонический раствор натрия хлорида. Сразу же после заражения животных им вводят раствор наноаквахелатов металлов в дозе 1 мл внутрибрюшинно, перорально – 2 мл: 1) первой опытной группе – Ag, 2) второй опытной группе – Ag + Си («Шумерское серебро»), 3) третьей опытной группе – Mg. В качестве варианта сравнения применяют гентамицина сульфат. За животными наблюдают на протяжении 15 суток.

Показатели бактерицидной активности наноаквахелатов металлов представляют в таблице 4.

Таблица 4 – Бактерицидная активность наноаквахелатов металлов

Тест-культура	Наноаквахелат Ag	Наноаквахелат Cu	Наноаквахелат Ag* Cu	Наноаквахелат Zn	Наноаквахелат Mg	Гентамицина сульфат, мкг/мл
<i>S. aureus</i>	0,10	1,95	0,01	3,75	0,24	3,9

<i>S. piogenes</i>	0,03	1,05	0,01	4,05	0,48	0,48
<i>St. intermedius</i>	0,08	7,80	0,02	6,00	0,10	15,60
<i>St. epidermidis</i>	0,09	5,75	0,03	3,75	1,05	15,60
<i>E. coli</i>	1,50	7,95	1,25	2,75	1,45	39,05
<i>Proteus</i>	1,05	12,55	1,35	7,80	2,50	62,50
<i>Salmonela</i>	1,05	15,60	0,55	3,90	5,75	250,00
<i>P. aeruginose</i>	1,45	125,00	1,25	78,10	7,80	250,00

Вопросы к лабораторной работе

1. Сделайте выводы о бактерицидном действии наноаквахелатов по сравнению с гентамицином, если по окончании исследования были получены данные, указанные в таблице 4.

2. Как вы считаете возникает ли устойчивость (привыкание) бактерий к наноаквахелатам металлов.

3. Какие штаммы микроорганизмов наиболее чувствительны к наноаквахелатам Ag, Ag+Cu, Mg.

4. Чем обусловлена антимикробная активность исследованных наноаквахелатов металлов.

Список использованных источников

1. Колесниченко, А. В. Токсичность наноматериалов —15 лет исследований. / А. В. Колесниченко, М. А. Тимофеев, М.В. Протопопова., // Российские нанотехнологии.— 2008.— Т. 3, № 3-4.

2. Гудилин, Е. А. Нанотоксичность. По материалам интернет изданий. Ресурс доступа: http://www.nanometer.ru/2008/12/18/nanoazbuka_54963.html.

3. Использование биологически активных препаратов на основе наночастиц металлов в медицине и сельском хозяйстве: Сборник докладов на совещании «Индустрия наносистем и материалы: оценка внешнего состояния и перспективы развития». 23-25 марта 2006 г.— М.: Центр «Открытая экономика», 2006.— 146 с.

4. Соколова, О. Я. Биохимия крови [Электронный ресурс]: электронный курс лекций / О. Я. Соколова, Е. С. Барышева, Е. В. Бибарцева; М-во образования и науки Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т". - Электрон. текстовые дан. - Оренбург: ОГУ, 2014. -Архиватор 7-Zip

5. Соколова, О. Я. Биохимия биотехнологических процессов [Электронный ресурс]: электронный курс лекций / О. Я. Соколова, Е. С. Барышева, Е. В. Бибарцева; М-во образования и науки Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т". - Электрон. текстовые дан. - Оренбург: ОГУ, 2015. - Архиватор 7- Zip

6. Фомина, М. В. Фармацевтическая биохимия [Электронный ресурс]: учебно-методическое пособие для студентов, обучающихся по программам высшего образования по направлению подготовки 06.03.01 Биология / М.

В. Фомина, Е. В. Бибарцева, О. Я. Соколова; М-во образования и науки Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т". - Электрон. текстовые дан. - Оренбург: ОГУ, 2015. -AdobeAcrobatReader 6.0

7. Шамраев, А. В. Биохимия [Электронный ресурс]: учебное пособие для студентов, обучающихся по программам высшего профессионального образования по направлению подготовки 020400.62 Биология / А. В. Шамраев; М-во образования и науки Рос. Федерации, Федер. гос. бюджет. образоват. учреждение высш. проф. образования "Оренбург. гос. ун-т". - Электрон. текстовые дан. - Оренбург: ОГУ, 2014. -AdobeAcrobatReader 6.0

8. Сайт кафедры микробиологии и вирусологии Сибирской государственной медицинской академии. Веб-ресурс: <http://www.ssmu.ru>

9. Национальный центр биотехнологической информации. Ресурс доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>

10. Издательство Springer. Ресурс доступа: <http://www.springerlink.com>

11. Биохимия: учеб. для студентов мед. вузов / под ред. Е. С. Северина.- 5-е изд. - М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. - 766 с.: ил. - Прил.: с. 735-760. - Предм. указ.: с. 748-760. - ISBN 978-5-9704-1195-7.