



Научная статья

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВОДНЫХ КОМПОЗИЦИЙ ПОЛИАКРИЛАМИДА С КАТИОНАМИ ЦИНКА И МЕДИ ДЛЯ СНИЖЕНИЯ РИСКОВ МИКРОБНОЙ КОНТАМИНАЦИИ ОБЪЕКТОВ ВНУТРИБОЛЬНИЧНОЙ СРЕДЫ

**М.В. Кузнецова^{1,2}, Е.В. Афанасьевская², Н.В. Николаева², Э.С. Горовиц²,
А.С. Аверкина³, И.Н. Феклистова⁴, В.А. Вальцифер³**

¹Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук (УрО РАН) – филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН (ПФИЦ УрО РАН), Россия, 614081, г. Пермь, ул. Голева, 13

²Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера, Россия, 614000, г. Пермь, ул. Петропавловская, 86

³Институт технической химии Уральского отделения Российской академии наук (УрО РАН) – филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН (ПФИЦ УрО РАН), Россия, 614013, г. Пермь, ул. Академика Королева, 3

⁴Белорусский государственный университет, Республика Беларусь, 220030, г. Минск, пр. Независимости, 4

Проблема микробной контаминации – попадания инфекционных агентов на объекты внутрибольничной среды наиболее значима для медицинских организаций. Для борьбы с микробной адгезией и колонизацией перспективным может быть нанесение на абиотическую поверхность тонкой полимерной пленки, выступающей в качестве депо антибактериального вещества.

*Исследована антибактериальная активность 5%-ных растворов CuSO_4 и ZnSO_4 и их композиций с различными типами ПАА в концентрации 0,075 % в отношении референс-культур *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*. Использование ПАА в качестве ростового субстрата, а также антимикробную активность растворов и композиций оценивали на агаризованной и в жидкой питательных средах.*

Выявлено, что культуры бактерий не использовали ПАА в качестве единственного источника питания при росте в жидкой минеральной среде и на ПАА-пленках, сформированных на стекле и пластике. На микроорганизмы, культивируемые на твердых и жидких питательных средах, более выраженное ингибирующее действие оказывал 5%-ный раствор ZnSO_4 . Добавление полимеров ПАА «Праестол 857» и ПАА «Праестол 2530» к растворам катионов

© Кузнецова М.В., Афанасьевская Е.В., Николаева Н.В., Горовиц Э.С., Аверкина А.С., Феклистова И.Н., Вальцифер В.А., 2023

Кузнецова Марина Валентиновна – доктор медицинских наук, доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биотехнологии, профессор кафедры микробиологии и вирусологии (e-mail: mar@iegm.ru; тел.: 8 (342) 212-44-76; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2448-4823>).

Афанасьевская Елизавета Викторовна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии и вирусологии (e-mail: lizavika@mail.ru; тел.: 8 (342) 36-44-85; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3498-6459>).

Николаева Нина Владимировна – кандидат биологических наук, доцент кафедры микробиологии и вирусологии (e-mail: solomonina.ya@yandex.ru; тел.: 8 (342) 36-44-85; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6799-5503>).

Горовиц Эдуард Семенович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой микробиологии и вирусологии (e-mail: eduard.gorovitz@mail.ru; тел.: 8 (342) 36-44-85; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4320-8672>).

Аверкина Анастасия Сергеевна – кандидат технических наук, сотрудник лаборатории многофазных дисперсных систем (e-mail: Averkina_A_S_ITChUBRAS59@mail.ru; тел.: 8 (342) 237-82-81; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6833-2867>).

Феклистова Ирина Николаевна – кандидат биологических наук, заведующий научно-исследовательской лабораторией молекулярной генетики и биотехнологии (e-mail: feklitiva@bsu.by; тел.: +375 (17) 209-58-86; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8669-3666>).

Вальцифер Виктор Александрович – доктор технических наук, профессор, заместитель директора по научной работе (e-mail: valtsifer.v@itcras.ru; тел.: 8 (342) 237-82-50; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8671-739X>).

металлов Cu^{2+} и Zn^{2+} достоверно увеличивало диаметр зоны подавления роста бактерий на агаризованной среде. В жидкой среде соли обоих металлов ингибировали рост и жизнеспособность всех изученных микроорганизмов уже в концентрации 0,16 % и меньше. Добавление в среду ПАА «Праестол 2530» несколько снижало антибактериальное действие солей металлов, тогда как ПАА «Праестол 857» практически не влиял на бактериостатическое и бактерицидное действие солей металлов.

Таким образом, применение полученных композитных растворов, где в качестве антибактериального компонента выступают CuSO_4 или ZnSO_4 , иммобилизованные в матрице ПАА, для дезинфекции объектов внутрибольничной среды представляется перспективным и может существенно снизить риски возникновения нозокомиальных инфекций.

Ключевые слова: риски микробной контаминации, CuSO_4 , ZnSO_4 , полиакриламиды (ПАА), металлополимерные композиции, антимикробное действие, внутрибольничная среда.

Контаминация абиотических поверхностей патогенными и условно-патогенными микроорганизмами представляет существенную угрозу для здоровья человека и сельскохозяйственных животных [1]. Проблема микробной контаминации – попадания инфекционных агентов на объекты среды – наиболее значима для медицинских организаций, в первую очередь, отделений реанимации, экстренной хирургии и комбустиологии [2, 3]. Таким образом, возникают риски развития внутрибольничной инфекции. Официальное многоцентровое исследование распространенности нозокомиальной инфекции, проведенное сотрудниками Всемирной организации здравоохранения в 50 клиниках 14 стран, показало, что у 8,7 % госпитализированных пациентов, а это свыше 1,4 миллиона человек в мире, возникают инфекционные осложнения [4]. Их развитие требует проведения дополнительных диагностических и лечебных процедур, что увеличивает продолжительность пребывания больного в стационаре и приводит к существенным экономическим затратам. Кроме того, из-за возникающих осложнений значительно ухудшается качество жизни пациента и возрастает риск неблагоприятного исхода основного заболевания [2].

Согласно исследованиям М. Robakowska и соавт. (2017), при проведении бактериологического контроля в многопрофильном стационаре микробное загрязнение было обнаружено в 20 % смывов, взятых с предметов внутрибольничной среды [5]. В медицинских организациях профилактика инфицирования, связанного с циркуляцией и персистенцией микроорганизмов на объектах и оборудовании, осуществляется с помощью дезинфицирующих средств различной природы [3, 5]. Большинство из них действуют непосредственно в момент обработки поверхности либо в течение очень непродолжительного времени. Кроме того, в настоящее время наблюдается рост резистентности большинства клинически значимых бактерий к применяемым в клиниках дезинфектантам [6]. Для борьбы с микробной адгезией и колонизацией перспективным может быть нанесение на атакуемую поверхность тонкой полимерной пленки, содержащей антибактериальные вещества. Повышение эффективности таких дезинфектантов обусловлено пролонгированием их действия благодаря полимерной основе материала, выступающего в качестве депо биоцида.

Как известно, соли металлов, и в частности Cu и Zn , обладают широким спектром антибактериальной активности [7–10], а полиакриламиды (ПАА) играют важную роль в металлополимерных композициях – действуют как восстановители и / или выступают в качестве матрицы для агрегации ионов или наночастиц металла [11]. Свойства металлокомпозитов и их применение в качестве антибактериальных материалов активно изучаются [12]. Тем не менее, по нашим данным, сравнение антимикробной активности металлосодержащих коллоидных растворов ПАА, различающихся по физико-химическим свойствам, в отношении ряда патогенных и условно-патогенных микроорганизмов не проводилось.

Цель исследования – изучить антимикробную активность новых металлополимерных композиций CuSO_4 и ZnSO_4 с полиакриламидами.

Методы и материалы. Исследуемые растворы и композиции. В работе использовали 5%-ный раствор CuSO_4 , 5%-ный раствор ZnSO_4 , различные типы полиакриламидов (ПАА) в концентрации 0,075 %: ПАА «Праестол 806», ПАА «Праестол 857», ПАА «Праестол 2510», ПАА «Праестол 2530», а также 5%-ный раствор CuSO_4 в ПАА «Праестол 857», 5 % ZnSO_4 в ПАА «Праестол 857», 5%-ный раствор ZnSO_4 в ПАА «Праестол 2530» (получены из Института технической химии УрО РАН, г. Пермь). ПАА представляют собой полимеры акриламида, которые, растворяясь в воде, используются для гелеобразования жидкостей и формирования пленочных покрытий. Приблизительный молекулярный вес в интервале 8–14 млн ПАА «Праестол 806» и ПАА «Праестол 857», растворяясь в воде, приобретают положительный заряд, ПАА «Праестол 2510» и ПАА «Праестол 2530» – отрицательный.

Бактериальные штаммы. В качестве тест-объектов использовали культуры штаммов: *Escherichia coli* ATCC®25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC®700603, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853, *Staphylococcus aureus* ATCC®25923 (получены из Государственной коллекции патогенных микроорганизмов ГИСК им. Л.А. Тарасевича (сейчас ФГБУ НЦЭСМП Минздрава России, г. Москва).

Использование ПАА в качестве ростового субстрата. Способность использовать бактериями ПАА в качестве единственного ростового субстрата изучали в жидкой и на агаризованной средах, а также на абиотических поверхностях. В первом вари-

анте в пенициллиновые флаконы с 2 мл безазотистой минеральной среды (N) состава (г/л): KH_2PO_4 – 1,0; $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ – 1,6; NaCl – 0,5; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5; CaCl_2 – 0,005; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,01; $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ – 0,01 (рН $7,2 \pm 0,2$) вносили 100 мкл суспензии (10^6 клеток/мл) каждого вида бактерий и ПАА до концентрации 0,075 %. Контролем служили варианты со средой N без добавления ПАА (отрицательный контроль) и со средой Луриа – Бергани (LB-среда, положительный контроль). Культуры инкубировали при 37 °С без перемешивания и на качалке со скоростью перемешивания 120 об./мин в течение 7 сут. На агаризованной среде N (2-й вариант) из 1 мл формировали пленку каждого типа ПАА, ее высушивали и шпателем наносили на поверхность суспензию бактерий (100 мкл, 10^6 клеток/мл). Контролем служили N-агар без добавления ПАА (отрицательный контроль) и LB-агар (положительный контроль). В качестве абиотических поверхностей использовали стеклянные и пластиковые чашки Петри, на дне которых из 1 мл раствора формировали ПАА-пленку каждого типа, суспензию бактерий наносили, как описано выше. Контролем служила поверхность без предварительной обработки ПАА.

Способность использовать ПАА в качестве источника углерода или азота изучали в иммунологических плоскостных планшетах, для чего в лунки с 200 мкл безазотистой минеральной среды N вносили хлорид аммония до конечной концентрации 5 мМ либо глюкозу до конечной концентрации 0,1 %, а также ПАА различных типов до концентрации 0,075 % в качестве источника углерода или азота соответственно. Затем в лунки инокулировали 10 мкл суспензии (10^6 клеток/мл) каждого вида бактерий. Контролем служили лунки с добавлением только ПАА (ПАА как единственный источник питания, аналогично первому эксперименту), без добавления ПАА (отрицательный контроль) и со средой LB (положительный контроль). Планшеты инкубировали при 37 °С без перемешивания и на качалке со скоростью перемешивания 120 об./мин в течение недели. Рост бактерий оценивали по величине оптической плотности (ОП) клеточной суспензии, измеряемой на микропланшетном ридере PowerWave X (Biotek, США) при $\lambda = 600$ нм.

Оценку действия солей металлов на бактерии осуществляли методами диффузии в агаре и двукратных серийных разведений в микропланшетах с определением показателей МПК (минимальная подавляющая концентрация) и МБК (минимальная бактерицидная концентрация) согласно [13, 14].

Оценка антимикробной активности растворов и композиций на плотной среде (диско-диффузионный метод и метод гель-диффузии). Бактериальные культуры выращивали в жидкой питательной среде LB в течение 18–24 ч и стандартизовали до 10^6 клеток/мл. Подготовленную суспензию бактерий засеивали «сплошным» газонем на LB-агар в чашки Петри. Стерильные бумажные дис-

ки ($d = 6$ мм) накладывали на поверхность агара и пропитывали вышеперечисленными растворами и композициями (10 мкл), а также наносили капли аналогичного объема без диска. Далее посеи культивировали при 37 °С в течение 24 ч и оценивали антимикробный эффект по диаметру зоны ингибирования роста в мм.

Оценка антимикробной активности растворов и композиций в жидкой среде. Бактериальные культуры выращивали аналогично предыдущему методу. Бактериостатическое (минимальную подавляющую концентрацию, МПК) и бактерицидное (минимальную бактерицидную концентрацию, МБК) действие растворов солей металлов с добавлением ПАА и без такового изучали в лунках полистиролового иммунологического планшета традиционным методом, оценивая ОП₆₀₀ культур и их рост после высевы на LB агар из лунок с отсутствием видимого роста бактерий. Диапазон концентраций растворов солей металлов в моноварианте и в композициях составил 0,01–5 %.

Статистика. Эксперименты проводили не менее чем в трех повторностях, рассчитывали среднее арифметическое значение и стандартное отклонение. О достоверности различий между выборками судили по результатам *t*-теста (разница статистически достоверна при $p \leq 0,05$). Обработку данных проводили с использованием стандартных пакетов компьютерных программ Microsoft Office XP Excel и Statistica 10.0.

Результаты и их обсуждение. Способность бактерий использовать ПАА в качестве ростового субстрата. Все исследованные референс-культуры бактерий не росли ни в одном из вариантов опыта (отсутствие видимого роста) в течение их недельной инкубации в жидкой среде N с добавлением ПАА (табл. 1). Это свидетельствует, что данные микроорганизмы не использовали ПАА в качестве единственного источника питания. Тем не менее в этих условиях бактериальные клетки сохраняли жизнеспособность в растворах ПАА вплоть до седьмых суток. Как следствие, при высеве на LBA наблюдали формирование колоний (данные не представлены). Рост культур зафиксирован на ПАА-пленках, сформированных на агаризованной среде N, но только на седьмые сутки экспозиции. Видимого роста на ПАА-пленках, сформированных на стекле и пластике, не обнаружено. Кроме того, клетки грамотрицательных бактерий не сохраняли жизнеспособность в этих условиях, в отличие от *S. aureus* (кроме ПАА «Праестол 2530»).

С целью детализации изучения возможности использования бактериями различных типов ПАА в качестве источника углеродного или азотного питания тест-культуры культивировали в лунках полистиролового планшета на жидкой среде N с ПАА и 0,1%-ной глюкозой как источником углерода, либо с 5 мМ хлоридом аммония как источником азота, а также с глюкозой и аммонием в качестве контроля. Аналогично предыдущему эксперименту рост бактерий не был

Таблица 1

Рост и жизнеспособность* бактерий на ПАА как единственном источнике питания в различных модельных системах

Вариант эксперимента	Штамм			
	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>
ПАА «Праестол 806»				
Жидкая среда N с аэрацией	-/-	-/-	-/-	-/-
Жидкая среда N без аэрации	-/-	-/-	-/-	-/-
Агар N	-/+	-/+	-/+	-/+
Стекло*	-	-	-	33 КОЕ/чашку
Пластик*	-	-	-	7 КОЕ/чашку
ПАА «Праестол 857»				
Жидкая среда N с аэрацией	-/-	-/-	-/-	-/-
Жидкая среда N без аэрации	-/-	-/-	-/-	-/-
Агар N	-/+	-/+	-/+	-/+
Стекло	-	-	-	12 КОЕ/чашку
Пластик	-	-	-	Без счета
ПАА «Праестол 2510»				
Жидкая среда N с аэрацией	-/-	-/-	-/-	-/-
Жидкая среда N без аэрации	-/-	-/-	-/-	-/-
Агар N	-/+	-/+	-/+	-/+
Стекло	-	-	-	3 КОЕ/чашку
Пластик	-	-	-	54 КОЕ/чашку
ПАА «Праестол 2530»				
Жидкая среда N с аэрацией	-/-	-/-	-/-	-/-
Жидкая среда N без аэрации	-/-	-/-	-/-	-/-
Агар N	-/+	-/+	-/+	-/+
Стекло	-	-	-	-
Пластик	-	-	-	-
Контроль (без добавления ПАА)				
Жидкая среда N	-/-	-/-	-/-	-/-
Агар N	-/+	-/+	-/+	-/+
Стекло**	+/-	+/-	+/-	+/+
Пластик**	-/-	-/-	+/-	+/-

Примечание: представлены результаты 3/7 дня эксперимента: «-» – отсутствие видимого роста, «+» – видимый рост; * – экспозиция один день, учет жизнеспособности на LBA после смыва с поверхности; ** – экспозиция 1/7 дней, учет на LBA после смыва с поверхности.

закреплен ни в одном из вариантов в жидкой минеральной среде с ПАА без дополнительных источников питания (рис. 1). Чаще бактерии росли на среде с ПАА и глюкозой, и в меньшем проценте случаев – на среде с добавлением хлорида аммония, это свидетельствует, что изученные акриловые полимеры могут быть использованы либо только как источники азота, либо как источники углерода. Статистический анализ полученных данных представлен в табл. 2.

Независимо от того, где применяются ПАА – в медицине или сельском хозяйстве, эти полимеры могут контактировать с различными микроорганизмами и подвергаться биodeградации. Большинство исследований по разложению ПАА, в которых подтверждается возможность использования этого полимера бактериями, проведены либо в почвенной среде, либо с почвенными штаммами микроорганизмов. Показано, что, несмотря на устойчивость полиакриламида к микробной деградации, он может использоваться бактериями в качестве источника энергии или азотного питания, что связано с

наличием у них амидазной активности [15–19]. Только в единичных работах указывается на возможность микробной деградации ПАА без дополнительных источников питания / энергии [20, 21]. Shanker et al. (1990) регистрировали, что добавление сульфата аммония в качестве дополнительного источника азота увеличивает способность к разложению акриламида [22]. Установлено, что в присутствии глюкозы этот процесс идет более активно. Предполагается, что бактерии, разлагающие ПАА, в большей мере гидролизуют боковые амидные группы полимера и в меньшей – расщепляют основную углеродную цепь [11]. Следует отметить, что микробные амидазы (например, ациламидогидролаза (КФ 3.5.1.4)) дезаминируют алифатические амиды до их карбоновых кислот и аммиака, и эта реакция является субстрат-специфической. Продукция амидазы рассматривается как видовой признак псевдомонад, а ацетамид входит в состав селективных сред для выделения и контроля чистоты культуры *P. aeruginosa* в клинической практике,

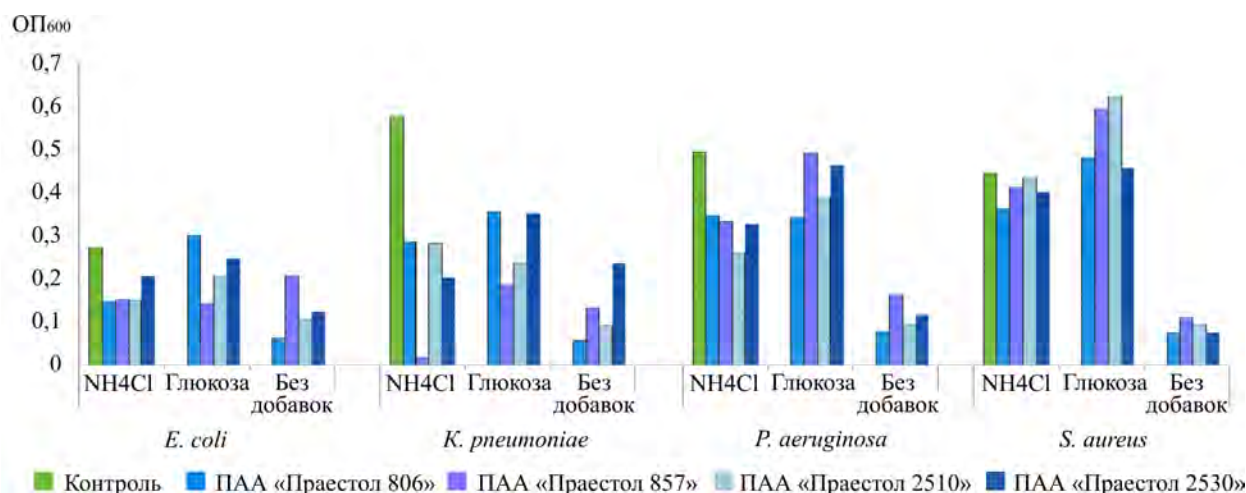


Рис. 1. Рост бактерий на ПАА как единственном субстрате либо источнике углеродного или азотного питания (без аэрации)

Таблица 2

Рост бактерий на ПАА как единственном субстрате либо источнике углеродного или азотного питания

Вариант эксперимента	Оптическая плотность, ед. (λ = 600)															
	A		E. coli		B		K. pneumoniae		C		P. aeruginosa		D		S. aureus	
ПАА «Праестол 806»																
N с аэрацией	NH ₄ Cl	1	0,201 ± 0,011	$p^{3,19,25,C,D}$	1	0,248 ± 0,116	$p^{25,D}$	1	0,364 ± 0,026	$p^{3,7,25,A}$	1	0,439 ± 0,045	$p^{3,A,B}$			
	глюкоза	2	0,429 ± 0,201	p^3	2	0,439 ± 0,286		2	0,262 ± 0,130	p^{25}	2	0,375 ± 0,065	p^3			
	без добавок	3	0,054 ± 0,017	$p^{1,2,15,25,C}$	3	0,052 ± 0,026	p^{21}	3	0,091 ± 0,002	$p^{1,15,25,A}$	3	0,088 ± 0,005	$p^{1,2}$			
N без аэрации	NH ₄ Cl	4	0,147 ± 0,056	$p^{5,6,26,D}$	4	0,285 ± 0,236	p^{26}	4	0,346 ± 0,213		4	0,362 ± 0,016	$p^{5,6,16,22,A}$			
	глюкоза	5	0,300 ± 0,096	$p^{4,6,11,26,D}$	5	0,355 ± 0,266		5	0,341 ± 0,247		5	0,480 ± 0,017	$p^{4,6,11,17,26,A}$			
	без добавок	6	0,063 ± 0,025	$p^{4,5,12,24,26}$	6	0,058 ± 0,029	$p^{18,24,26}$	6	0,078 ± 0,001	$p^{12,26,D}$	6	0,074 ± 0,001	$p^{4,5,18,26,C}$			
ПАА «Праестол 857»																
N с аэрацией	NH ₄ Cl	7	0,173 ± 0,042	$p^{9,25,D}$	7	0,109 ± 0,062	$p^{25,C,D}$	7	0,227 ± 0,049	$p^{19,25,B,D}$	7	0,379 ± 0,059	$p^{9,A,B,C}$			
	глюкоза	8	0,296 ± 0,226	p^{25}	8	0,246 ± 0,131	p^{25}	8	0,261 ± 0,167		8	0,394 ± 0,027	p^9			
	без добавок	9	0,082 ± 0,025	$p^{7,12,25}$	9	0,063 ± 0,002	$p^{12,25,C,D}$	9	0,093 ± 0,005	$p^{7,12,25,B}$	9	0,092 ± 0,016	$p^{7,8,12,25,B}$			
N без аэрации	NH ₄ Cl	10	0,152 ± 0,032	$p^{26,D}$	10	0,0178 ± 0,072	$p^{26,D}$	10	0,333 ± 0,180		10	0,412 ± 0,036	$p^{11,12,A,B}$			
	глюкоза	11	0,143 ± 0,016	$p^{5,26,D}$	11	0,187 ± 0,060	$p^{26,D}$	11	0,491 ± 0,211		11	0,593 ± 0,020	$p^{5,10,26,A,B}$			
	без добавок	12	0,207 ± 0,055	$p^{6,9,26,D}$	12	0,133 ± 0,063	$p^{9,26}$	12	0,164 ± 0,034	$p^{6,9,26,D}$	12	0,110 ± 0,026	$p^{9,10,11,26,A,C}$			
ПАА «Праестол 2510»																
N с аэрацией	NH ₄ Cl	13	0,166 ± 0,064	$p^{25,D}$	13	0,144 ± 0,082	$p^{25,C,D}$	13	0,251 ± 0,091	$p^{25,B}$	13	0,381 ± 0,076	$p^{15,A,B}$			
	глюкоза	14	0,453 ± 0,203	$p^{15,17}$	14	0,578 ± 0,213	$p^{15,17,25}$	14	0,275 ± 0,109	$p^{17,25,D}$	14	0,486 ± 0,037	$p^{15,17,25,C}$			
	без добавок	15	0,099 ± 0,006	$p^{3,14,25}$	15	0,093 ± 0,007	$p^{14,25,C}$	15	0,103 ± 0,006	$p^{3,25,B,D}$	15	0,097 ± 0,007	$p^{13,14,25,C}$			
N без аэрации	NH ₄ Cl	16	0,150 ± 0,029	$p^{26,B,D}$	16	0,282 ± 0,025	$p^{18,25,A,D}$	16	0,260 ± 0,203	p^{26}	16	0,435 ± 0,017	$p^{4,26,A,B}$			
	глюкоза	17	0,206 ± 0,077	$p^{14,26,D}$	17	0,238 ± 0,071	$p^{14,18,26,D}$	17	0,389 ± 0,255	p^{14}	17	0,622 ± 0,078	$p^{5,14,16,18,26,A,B}$			
	без добавок	18	0,106 ± 0,037	p^{26}	18	0,093 ± 0,037	$p^{6,16,17,26}$	18	0,095 ± 0,014	p^{26}	18	0,095 ± 0,006	$p^{6,16,17,26}$			
ПАА «Праестол 2530»																
N с аэрацией	NH ₄ Cl	19	0,124 ± 0,034	$p^{1,25,D}$	19	0,211 ± 0,094	$p^{25,D}$	19	0,228 ± 0,114	p^{25}	19	0,380 ± 0,028	$p^{21,A,B}$			
	глюкоза	20	0,310 ± 0,265		20	0,374 ± 0,225		20	0,340 ± 0,135		20	0,392 ± 0,023	p^{21}			
	без добавок	21	0,100 ± 0,041	p^{25}	21	0,104 ± 0,003	p^{25}	21	0,172 ± 0,061	p^{25}	21	0,108 ± 0,007	$p^{19,20,25}$			
N без аэрации	NH ₄ Cl	22	0,206 ± 0,135	p^{26}	22	0,202 ± 0,016	$p^{24,26,C,D}$	22	0,326 ± 0,023	$p^{24,26,B,D}$	22	0,400 ± 0,008	$p^{4,23,24,B,C}$			
	глюкоза	23	0,247 ± 0,166	p^{26}	23	0,352 ± 0,097		23	0,463 ± 0,138	p^{24}	23	0,456 ± 0,016	$p^{22,24}$			
	без добавок	24	0,123 ± 0,011	$p^{6,26,B,D}$	24	0,236 ± 0,018	$p^{6,22,26,A,C,D}$	24	0,116 ± 0,021	$p^{6,22,23,26,B,D}$	24	0,075 ± 0,001	$p^{22,23,26,A,B,C}$			
Контроль																
N с аэрацией	глюкоза, NH ₄ Cl	25	0,391 ± 0,008	$p^{1,3,7,8,9,13,15,19,21}$	25	0,462 ± 0,012	$p^{1,3,7,8,9,13,15,19,21}$	25	0,452 ± 0,015	$p^{1,3,7,9,13,14,15,19,21,D}$	25	0,411 ± 0,051	$p^{9,14,15,21,D}$			
N без аэрации	глюкоза, NH ₄ Cl	26	0,272 ± 0,027	$p^{4,5,6,10,11,12,16,17,18,22,23,24,B,C,D}$	26	0,576 ± 0,032	$p^{4,6,10,11,12,16,17,18,22,24,A,C,D}$	26	0,493 ± 0,087	$p^{6,12,18,22,24,A,B,D}$	26	0,445 ± 0,034	$p^{5,6,11,12,16,17,18,24,A,B,C}$			

Примечание: p^n – показатель достоверно отличается от варианта n (t-test).

а также при исследовании объектов окружающей среды в США (инструкция APHA по исследованию воды, 1995, Washington, DC). Среди продуцентов амидазы есть и другие виды бактерий, в том числе колонизирующие организм человека – *E. coli*, *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *Enterococcus faecalis* и *Helicobacter pylori* [23–25]. Однако субстратная специфичность их амидаз и возможность реакции с акриламидом и ПАА не подтверждены, так как в

большинстве случаев эти бактерии продуцируют только ферменты, гидролизующие амидную связь между остатком N-ацетилмурамовой кислоты в гликановой цепи и L-аланином пептидной части пептидогликана клеточной стенки, например, N-ацетилмурамоил-L-аланин амидаза [24]. Хотя некоторые из них являются конститутивными, синтез амидазы *P. aeruginosa* индуцируется амидами через регуляторный белок, кодируемый *amiR*, тогда как

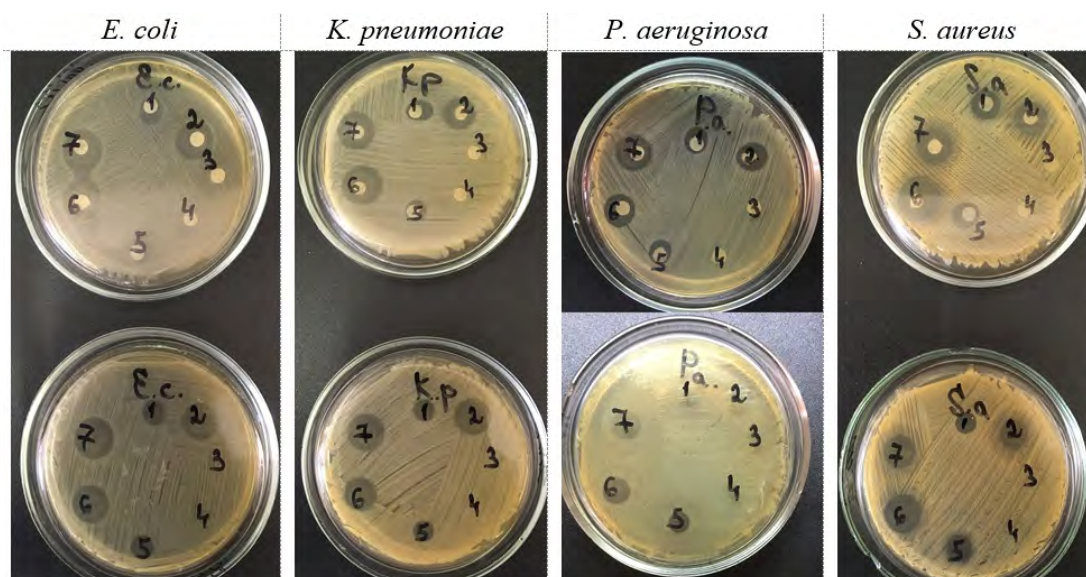


Рис. 2. Фото чашек с результатами одного из экспериментов по определению антибактериального действия растворов диско-диффузионным методом (верх) и с капельным нанесением (низ): 1 – 5%-ный раствор CuSO_4 , 2 – 5%-ный раствор ZnSO_4 , 3 – 0,075%-ный ПАА «Праестол 857»; 4 – 0,075%-ный ПАА «Праестол 2530», 5 – композиция CuSO_4 + ПАА «Праестол 857»; 6 – композиция ZnSO_4 + ПАА «Праестол 857»; 7 – ZnSO_4 + ПАА «Праестол 2530»

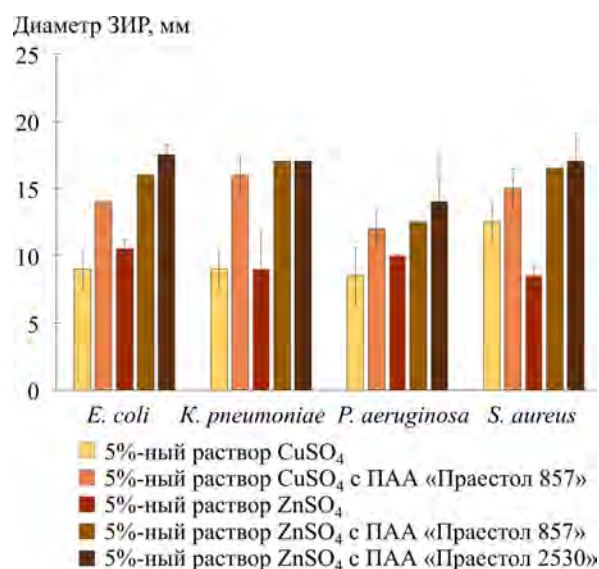


Рис. 3. Антимикробная активность растворов солей Cu и Zn в комбинации с ПАА и без их добавления (диаметр ЗИР – диаметр зон подавления роста, капельный метод)

amiC отрицательно регулирует экспрессию этого фермента [26]. Клеточный механизм индукции амидазы полиакриламидами не ясен, так как полимер слишком велик, чтобы проникать в бактериальные клетки и действовать как прямой индуктор. Можно полагать, что более высокие ростовые показатели в вариантах с ПАА и дополнительным источником углерода / азота из боковых амидных групп (катионные ПАА) и карбоксильных групп (анионные ПАА). Интересно, что ПАА были предложены Н.Н. Tuson et al. (2012) как альтернатива агар-агару

для изучения роста бактерий на плотных питательных средах. Так, большинство грамотрицательных (*E. coli*, *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa*, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium и *Serratia marcescens* ATCC) и грамположительных (*B. subtilis*, *S. epidermidis*) штаммов бактерий росли на ПАА-гелях, сополимеризованных с акриловой кислотой, но показатель оптической плотности культур (ОП₅₉₅) не превышал 0,3 ОЕ [27]. Данные, свидетельствующие, что представители клинически значимых микроорганизмов не используют ПАА в качестве единственного источника питания, а также медленные темпы их роста на среде с добавлением других субстратов, позволили перейти к следующему этапу исследования – оценке антимикробной активности полимерных металлокомпозиций.

Оценка антимикробной активности металлокомпозиций диско-диффузионным методом и методом гель-диффузии. Определена антибактериальная активность 5%-ных растворов сульфатов Cu и Zn в комбинации с ПАА «Праестол 857» и ПАА «Праестол 2530» в отношении тест-культур. Как и следовало ожидать, растворы полиакриламидов не оказывали влияния на бактерии, тогда как растворы сульфата Cu и Zn подавляли рост представителей всех исследованных видов с более выраженным действием 5%-ного раствора ZnSO_4 (*t*-test; $p = 0,019$) (рис. 2, 3).

Следует отметить, что добавление полимеров к раствору ZnSO_4 достоверно увеличивало зону подавления роста бактерий (*t*-test; $p = 0,030$ и $p = 0,025$ для ПАА «Праестол 857» и ПАА «Праестол 2530» соответственно). По-видимому, увеличение зон ингибирования роста бактерий в вариантах «соль металла + ПАА» связано с расширением площади по-

крытия поверхности агара металлическим компози- том при обоих типах его нанесения. При этом сле- дует отметить, что антибактериальный эффект ком- позиции $ZnSO_4$ с ПАА «Праестол 2530» был не- сколько более выражен, чем с ПАА «Праестол 857», хотя и различия статистически не значимы.

Оценка антимикробной активности в жид- кой среде. Для оценки влияния полимеров на анти- бактериальную активность солей, увеличение кото- рой выявлено на агаризованной среде, проведено определение МПК и МБК растворов солей металлов и четырех металлокомпозиций на жидкой питатель- ной среде (табл. 3). Как и следовало ожидать, соли обоих металлов ингибировали рост и жизнеспособ- ность всех изученных микроорганизмов, при этом и МПК, и МБК сульфата цинка в большинстве случает были на 1–2 разведения меньше, чем у сульфата меди. Показатели МПК солей металлов во всех ва- риантах составили не более 0,16 %. Жизнеспособ- ность бактерий в основном подавлялась при концен- трации солей на одно или два разведения (для *P. aeruginosa*), превышающие МПК. Следует отме- тить и выраженную бактерицидную активность (МБК/МПК = 1) сульфата меди в отношении *E. coli* и *K. pneumoniae*. Добавление в среду ПАА в основ- ном не влияло на антибактериальное действие солей металлов. Отмечено увеличение показателей МПК и МБК для ряда культур, но только в варианте с до- бавлением $ZnSO_4$. Что касается зависимости анти- бактериального действия от типа полимера в данных условиях, то показатели МПК и МБК были выше при добавлении в среду ПАА «Праестол 2530». В ряде случаев зарегистрирована индукция антибак- териального действия для солей меди.

Известно, что микроорганизмы чувствительны к воздействию солей тяжелых металлов, и поэтому последние активно используются для лечения неко- торых инфекционных заболеваний человека и жи- вотных. Ингибирование роста бактерий ионами ме- таллов связано с различными метаболическими про- цессами в прокариотических клетках, в том числе: с нарушением функции белков, продукцией актив- ных форм кислорода и истощением антиоксидантов, а также с повреждением мембраны и генотоксично-

стью [28]. Механизмы и уровни токсичности метал- ла варьируются у представителей различных таксо- нов. Так, в работе A. Singh et al. (2015) продемон- стрирована высокая чувствительность *E. coli*, *S. aureus* и *K. pneumoniae* к солям цинка, при этом первые два представителя были более чувствительны по срав- нению с *K. pneumoniae*, к тому же сульфат Zn в кон- центрации 10 мМ полностью подавлял рост трех штаммов бактерий [13]. Эти данные согласуются с наблюдениями D. Chudobova et al. (2015) [29] и с нашими исследованиями: показатели МПК $ZnSO_4$ для всех изученных штаммов не превышали 0,08 % (соответствует 5 мМ). В большинстве работ показан- но, что соли Cu менее губительны для бактерий, чем соли Zn, хотя описаны также одинаково толерант- ные штаммы. Так, С.Б. Чекнев и соавт. (2015) вы- явили, что ингибирующее действие сульфата цинка в отношении бактерий *S. aureus* в 1,3–1,6 раза пре- восходило эффекты сульфата меди, тогда как в культуре *P. aeruginosa* антибактериальное действие сульфата меди сопоставимо с эффектами сульфата цинка [7]. В отношении стафилококков сходные данные показаны и в исследованиях Н. Хуе et al. (2015) – МПК солей Zn и Cu для штаммов, изолиро- ванных от животных, отличались в 2 раза и состави- ли 2 и 4 мМ соответственно [30].

Исследователи сходятся во мнении, что тща- тельная очистка и дезинфекция поверхностей внут- рибольничной среды в значительной мере снижают риски возникновения инфекции и являются важны- ми элементами эффективных программ профилак- тики. Однако традиционная дезинфекция в стацио- нарах не всегда оптимальна, этот процесс требует оптимизации, в том числе и за счет новых методов обработки, позволяющих пролонгировать действие биоцидов [31]. Одним из таких подходов может быть использование пленочных дезинфектантов, представляющих собой композиции из традицион- ных антибактериальных веществ и полимера, обес- печивающего длительную сохранность биоцида на поверхности. Учитывая, что добавление в среду ПАА существенно не влияло на бактериостатиче- ское и бактерицидное действие солей металлов (за- фиксированное в единичных случаях некоторое

Таблица 3

Показатели МПК и МБК растворов $CuSO_4$, $ZnSO_4$ и их композиций с ПАА в отношении исследуемых штаммов микроорганизмов

Вариант	Штамм							
	<i>E. coli</i>		<i>K. pneumoniae</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>S. aureus</i>	
	МПК	МБК	МПК	МБК	МПК	МБК	МПК	МБК
$CuSO_4$	0,08	0,16	0,16	0,16	0,16	0,31	0,08	0,16
$ZnSO_4$	0,02	0,04	0,04	0,08	0,08	0,31	0,02	0,08
$CuSO_4$, ПАА* «Праестол 857»	0,08	0,16	0,08	0,16	0,16	0,63	0,08	0,16
$CuSO_4$, ПАА «Праестол 2530»	0,08	0,16	0,08	0,16	0,16	0,63	0,08	0,16
$ZnSO_4$, ПАА «Праестол 857»	0,02	0,08	0,08	0,16	0,08	0,31	0,02	0,04
$ZnSO_4$, ПАА «Праестол 2530»	0,04	0,16	0,04	0,16	0,08	0,31	0,04	0,31

Примечание: ПАА во всех вариантах в концентрации 0,075 %. Представлены результаты четырех сходных по показателям экспериментов из шести.

снижение может быть обусловлено погрешностями при подготовке разведений в густой среде ПАА), а при его нанесении на поверхность агара выявлено достоверное увеличение зоны ингибирования, можно сделать вывод, что представленная стратегия представляется перспективной.

Выводы. Обеспечение своевременных и эффективных санитарных и противоэпидемических мероприятий в медицинских учреждениях является важнейшей задачей по охране здоровья населения. Разработка и апробация новых дезинфицирующих средств пролонгированного действия в отношении возбудителей инфекционных заболеваний представляется насущной проблемой. Не случайно это направление научной деятельности – «Медицина и технологии живых систем, создание новых лекарственных препаратов, биомедицинские технологии жизнеобеспечения и защиты человека» – отражено в указе губернатора Пермского края от 1 ноября 2010 г. № 83 «Об основных направлениях научной и научно-технической политики Пермского края».

Нами выявлена антибактериальная активность растворов сульфатов Cu и Zn в комбинации с ПАА в отношении референс-штаммов наиболее распространенных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Все культуры бактерий не использовали ПАА в качестве единственного источника питания при росте в жидкой минеральной среде и на ПАА-пленках, сформированных на стекле и пластике. Вероятно, одной из причин является высокая токсичность ПАА и продуктов их биотрансформации, а также отсутствие механизма утилизации высокомолекулярных соединений у изученных клинически значимых штаммов бактерий. В большинстве случаев культуры могли расти на данных субстратах только при добавлении в среду глюкозы. Выявлено, что на микроорганизмы, культивируемые на твердых и жидких питательных средах, более выраженное ингибирующее действие оказывал 5%-ный раствор ZnSO₄.

Добавление полимеров ПАА «Праестол 857» и ПАА «Праестол 2530» к растворам металлов достоверно увеличивало диаметр зоны подавления роста бактерий на агаризованной среде. Данный эффект может быть связан с увеличением площади покрытия поверхности металлическим композитом, что подтверждает перспективность использования изученных композиций для дезинфекции. В жидкой среде соли обоих металлов ингибировали рост и жизнеспособность всех изученных микроорганизмов уже в концентрации 0,16 % и меньше. Добавление в среду ПАА «Праестол 2530» несколько снижало антибактериальное действие солей металлов, при этом ПАА «Праестол 857» практически не влиял на бактериостатическое и бактерицидное действие солей металлов.

Таким образом, полученные композитные растворы, где в качестве антибактериального компонента выступают CuSO₄ или ZnSO₄, иммобилизованные на матрице ПАА, потенциально могут быть использованы для дезинфекции объектов внутрибольничной среды и существенно снижать риски возникновения инфекции, связанной с оказанием медицинской помощи. Дальнейшие исследования будут направлены на изучение эффективности созданных дезинфицирующих композиций в отношении клинически значимых видов бактерий с использованием различных типов абиотических поверхностей, имитирующих поверхности медицинского оборудования, мебели и т.д., для определения возможности их применения для снижения риска развития нозокомиальных инфекций.

Финансирование. Исследование выполнено при финансовой поддержке Правительства Пермского края в рамках научного проекта № С-26/542 от 18.03.2021 г. Работа выполнена с использованием оборудования ЦКП «Исследования материалов и веществ» ПФИЦ УрО РАН.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Thakali A., MacRae J.D. A review of chemical and microbial contamination in food: What are the threats to a circular food system? // *Environ. Res.* – 2021. – Vol. 194. – P. 110635. DOI: 10.1016/j.envres.2020.110635
2. Khan H.A., Baig F.K., Mehboob R. Nosocomial infections: Epidemiology, prevention, control and surveillance // *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* – 2017. – Vol. 7, № 5. – P. 478–482. DOI: 10.1016/j.apjtb.2017.01.019
3. Evidence that contaminated surfaces contribute to the transmission of hospital pathogens and an overview of strategies to address contaminated surfaces in hospital settings / J.A. Otter, S. Yezli, J.A.G. Salkeld, G.L. French // *Am. J. Infect. Control.* – 2013. – Vol. 41, № 5. – P. S6–S11. DOI: 10.1016/j.ajic.2012.12.004
4. Prevention of hospital-acquired infections: a practical guide, 2nd ed. / ed. by G. Ducej, J. Fabry, L. Nicolle [Электронный ресурс]. – Geneva: WHO, 2002. – 64 p. – URL: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/67350/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.12.pdf?sequence=1&isAllowed=y (дата обращения: 07.12.2022).
5. Patient safety related to microbiological contamination of the environment of a multi-profile clinical hospital / M. Robakowska, M. Bronk, A. Tyrańska-Fobke, D. Ślęzak, J. Kraszewski, Ł. Balwicki // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* – 2021. – Vol. 18, № 7. – P. 3844. DOI: 10.3390/ijerph18073844
6. Reduced susceptibility and increased resistance of bacteria against disinfectants: a systematic review / U. Rozman, M. Pušnik, S. Kmetec, D. Duh, S. Šostar Turk // *Microorganisms.* – 2021. – Vol. 9, № 12. – P. 2550. DOI: 10.3390/microorganisms9122550
7. Торможение роста бактерий в культурах *Staphylococcus aureus* и *Pseudomonas aeruginosa* в присутствии катионов меди и цинка / С.Б. Чекнев, Е.И. Вострова, М.А. Апрессова, Л.С. Писковская, А.В. Востров // *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии.* – 2015. – № 2. – С. 9–17.
8. Concentration ranges of antibacterial cations for showing the highest antibacterial efficacy but the least cytotoxicity against mammalian cells: implications for a new antibacterial mechanism / C. Ning, X. Wang, L. Li, Y. Zhu, M. Li, P. Yu, L. Zhou, Z. Zhou [et al.] // *Chem. Res. Toxicol.* – 2015. – Vol. 28, № 9. – P. 1815–1822. DOI: 10.1021/acs.chemrestox.5b00258

9. Role of copper in reducing hospital environment contamination / A.L. Casey, D. Adams, T.J. Karpanen, P.A. Lambert, B.D. Cookson, P. Nightingale, L. Miruszenko, R. Shillam [et al.] // *J. Hosp. Infect.* – 2010. – Vol. 74, № 1. – P. 72–77. DOI: 10.1016/j.jhin.2009.08.018
10. Jaiswal S., McHale P., Duffy B. Preparation and rapid analysis of antibacterial silver, copper and zinc doped sol-gel surfaces // *Colloids Surf. B. Biointerfaces.* – 2012. – Vol. 94. – P. 170–176. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2012.01.035
11. Transfer and degradation of polyacrylamide-based flocculants in hydrosystems: a review / A.-G. Guezennec, C. Michel, K. Bru, S. Touzé, N. Desroche, I. Mnif, M. Motelica-Heino // *Environ. Sci. Pollut. Res.* – 2015. – Vol. 22, № 9. – P. 6390–6406. DOI: 10.1007/s11356-014-3556-6
12. Fahmy A., Jácóme L.A., Schónhals A. Effect of silver nanoparticles on the dielectric properties and the homogeneity of plasma poly (acrylic acid) thin films // *J. Phys. Chem. C.* – 2020. – Vol. 124, № 41. – P. 22817–22826. DOI: 10.1021/acs.jpcc.0c06712
13. Resistance of heavy metals on some pathogenic bacterial species / A. Singh, M. Mishra, P. Tripathi, S. Sachan // *Afr. J. Microbiol. Res.* – 2015. – Vol. 9, № 16. – P. 1162–1164. DOI: 10.5897/AJMR2014.7344
14. Alsaadi L.A.S. Heavy metals tolerance and antibiotics susceptibility profiles of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical sources in Baquba city // *Diyala Journal for Pure Science.* – 2017. – Vol. 13, № 1. – P. 130–144. DOI: 10.24237/djps.1301.136A
15. Polyacrylamide as an organic nitrogen source for soil microorganisms with potential effects on inorganic soil nitrogen in agricultural soil / J.L. Kay-Shoemake, M.E. Watwood, R.D. Lentz, R.E. Sojka // *Soil Biol. Biochem.* – 1998. – Vol. 30, № 8/9. – P. 1045–1052.
16. Polyacrylamide as a substrate for microbial amidase in culture and soil / J.L. Kay-Shoemake, M.E. Watwood, R.E. Sojka, R.D. Lentz // *Soil Biol. Biochem.* – 1998. – Vol. 30, № 13. – P. 1647–1654.
17. Biodegradation of polyacrylamide by bacteria isolated from activated sludge and oil-contaminated soil / Q. Wen, Z. Chen, Y. Zhao, H. Zhang, Y. Feng // *J. Hazard. Mater.* – 2010. – Vol. 175, № 1–3. – P. 955–959. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2009.10.102
18. Максимова Ю.Г., Горшкова А.А., Демаков В.А. Биодegradация полиакриламидов почвенной микрофлорой и штаммами амидазосодержащих бактерий // *Вестник Пермского университета. Серия: Биология.* – 2017. – № 2. – С. 200–204.
19. Выделение и оценка деструктивной активности микроорганизмов, утилизирующих акриловые полимеры / Р.Б. Сипулинов, Ю.В. Карагайчева, Т.Н. Козулина, С.М. Рогачева, М.И. Ограднова // *Ученые записки Таврического национального университета имени В.И. Вернадского. Серия: Биология, химия.* – 2014. – Т. 27 (66), № 2. – С. 150–156.
20. Isolation and characterization of polyacrylamide-degrading bacteria from dewatered sludge / F. Yu, R. Fu, Y. Xie, W. Chen // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* – 2015. – Vol. 12, № 4. – P. 4214–4230. DOI: 10.3390/ijerph120404214
21. Isolation of polyacrylamide-degrading microorganisms from soil / H. Matsuoka, F. Ishimura, T. Takeda, M. Hikuma // *Biotech. Bioproc. Eng.* – 2002. – Vol. 7, № 5. – P. 327–330. DOI: 10.1007/BF02932844
22. Shanker R., Ramakrishna C., Seth P.K. Microbial degradation of acrylamide monomer // *Arch. Microbiol.* – 1990. – Vol. 154, № 2. – P. 192–198. DOI: 10.1007/BF00423332
23. Physical, biochemical, and immunological characterization of a thermostable amidase from *Klebsiella pneumoniae* NCTR 1 / M.S. Nawaz, A.A. Khan, D. Bhattacharayya, P.H. Siitonen, C.E. Cerniglia // *J. Bacteriol.* – 1996. – Vol. 178, № 8. – P. 2397–2401. DOI: 10.1128/jb.178.8.2397-2401.1996
24. Petka K., Tarko T., Duda-Chodak A. Is acrylamide as harmful as we think? A new look at the impact of acrylamide on the viability of beneficial intestinal bacteria of the genus *Lactobacillus* // *Nutrients.* – 2020. – Vol. 12, № 4. – P. 1157. DOI: 10.3390/nu12041157
25. Structure-function analysis of *Staphylococcus aureus* amidase reveals the determinants of peptidoglycan recognition and cleavage / F.M. Büttner, S. Zoll, M. Nega, F. Götz, T. Stehle // *J. Biol. Chem.* – 2014. – Vol. 289, № 16. – P. 11083–11094. DOI: 10.1074/jbc.M114.557306
26. Wilson S.A., Drew R.E. Transcriptional analysis of the amidase operon from *Pseudomonas aeruginosa* // *J. Bacteriol.* – 1995. – Vol. 177, № 11. – P. 3052–3057. DOI: 10.1128/jb.177.11.3052-3057.1995
27. Tuson H.H., Renner L.D., Weibel D.B. Polyacrylamide hydrogels as substrates for studying bacteria // *Chem. Commun. (Camb.).* – 2012. – Vol. 48, № 10. – P. 1595–1597. DOI: 10.1039/C1CC14705F
28. Yazdankhah S., Skjerve E., Wasteson Y. Antimicrobial resistance due to the content of potentially toxic metals in soil and fertilizing products // *Microb. Ecol. Health Dis.* – 2018. – Vol. 29, № 1. – P. 1548248. DOI: 10.1080/16512235.2018.1548248
29. Effect of ampicillin, streptomycin, penicillin and tetracycline on metal resistant and non-resistant *Staphylococcus aureus* / D. Chudobova, S. Dostalova, I. Blazkova, P. Michalek, B. Ruttikay-Nedecky, M. Sklenar, L. Nejdil, J. Kudr [et al.] // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* – 2014. – Vol. 11, № 3. – P. 3233–3255. DOI: 10.3390/ijerph110303233
30. Coexistence of heavy metal and antibiotic resistance within a novel composite staphylococcal cassette chromosome in a *Staphylococcus haemolyticus* isolate from bovine mastitis milk / H. Xue, Z. Wu, L. Li, F. Li, Y. Wang, X. Zhao // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2015. – Vol. 59, № 9. – P. 5788–5792. DOI: 10.1128/AAC.04831-14
31. Boyce J.M. Modern technologies for improving cleaning and disinfection of environmental surfaces in hospitals // *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* – 2016. – Vol. 5. – P. 10. DOI: 10.1186/s13756-016-0111-x

Изучение возможности использования водных композиций полиакриламида с катионами цинка и меди для снижения рисков микробной контаминации объектов внутрибольничной среды / М.В. Кузнецова, Е.В. Афанасьевская, Н.В. Николаева, Э.С. Горовиц, А.С. Аверкина, И.Н. Феклистова, В.А. Вальцифер // Анализ риска здоровью. – 2023. – № 1. – С. 85–96. DOI: 10.21668/health.risk/2023.1.09



Research article

USE OF AQUEOUS COMPOSITIONS OF POLYACRYLAMIDE WITH ZINC AND COPPER CATIONS AS A POSSIBLE WAY TO REDUCE THE RISKS OF MICROBIAL CONTAMINATION IN OBJECTS IN THE HOSPITAL ENVIRONMENT

M.V. Kuznetsova^{1,2}, E.V. Afanasievskaya², N.V. Nikolaeva², E.S. Gorovitz², A.S. Averkina³, I.N. Feklistova⁴, V.A. Valtsifer³

¹Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms of Ural Branch of Russian Academy of Sciences – affiliation of Perm Federal Research Centre of Ural Branch of RAS, 13 Goleva Str., Perm, 614081, Russian Federation

²Perm State Medical University named after Academician E.A. Wagner, 26 Petropavlovskaya Str., Perm, 614990, Russian Federation

³Institute of Technical Chemistry of Ural Branch of Russian Academy of Sciences – affiliation of Perm Federal Research Centre of Ural Branch of RAS, 3 Akademika Koroleva Str., Perm, 613013, Russian Federation

⁴Belarusian State University, 4 Nezavisimosti Ave., Minsk, 220030, Belarus

Microbial contamination means that infectious agents are identified on objects in the hospital environment. This serious issue is the most significant for healthcare organizations. Covering abiotic surfaces with a thin polymer film can be a promising way to fight against microbial adhesion and colonization. This film acts as a depot of an antibacterial substance.

In this study, our aim was to investigate antimicrobial effects of new water compositions of polyacrylamides (PAM) with CuSO₄ and ZnSO₄.

We examined antibacterial activity of 5%-solutions of CuSO₄ and ZnSO₄ and their compositions with various PAM types in a concentration equal to 0.075 % against such reference cultures as Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, and Staphylococcus aureus. We estimated use of PAM as a growth substrate as well as antimicrobial activity of the analyzed solutions and compositions in agar and liquid nutrient media.

As a result, we established that bacterial cultures did not use PAM as sole nutrition source when growing in a liquid mineral medium and on PAM-films covering glass and plastic surfaces. More apparent inhibitory effects were produced on microorganisms cultivated on solid and liquid nutrient media by 5%-solution of ZnSO₄. When PAM Praestol 857 and PAM Praestol were added to solutions of Cu²⁺ and Zn²⁺ cations, it resulted in an authentic increase in a diameter of a zone with inhibited bacterial growth in the agar medium. In the liquid medium, salts of both metals inhibited the growth and viability of all the analyzed microorganisms already in a concentration equal to 0.16 % or lower. Adding PAM Praestol 2530 led to a slight decrease in antibacterial efficiency of the examined metal salts whereas PAM Praestol 857 had practically no influence on bacteriostatic and bactericidal effects produced by them.

Therefore, use of the obtained composite solutions where CuSO₄ or ZnSO₄, immobilized on a PAM matrix act as an antibacterial component seems a promising way to disinfect objects in the hospital environment. This can significantly reduce risks of hospital-acquired infections.

Keywords: risks of microbial contamination, CuSO₄, ZnSO₄, polyacrylamides (PAM), antimicrobial solutions, antimicrobial activity, hospital environment.

© Kuznetsova M.V., Afanasievskaya E.V., Nikolaeva N.V., Gorovitz E.S., Averkina A.S., Feklistova I.N., Valtsifer V.A., 2023

Marina V. Kuznetsova – Doctor of Medical Sciences, Associate Professor, Leading Researcher of the Laboratory for Molecular Biotechnology; Professor of Microbiology and Virology Department (e-mail: mar@iegm.ru; tel.: +7 (342) 212-44-76; ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2448-4823>).

Elizaveta V. Afanasievskaya – Candidate of Medical Sciences, Associate Professor of Microbiology and Virology Department (e-mail: lizavika@mail.ru; tel.: +7 (342) 36-44-85; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-3498-6459>).

Nina V. Nikolaeva – Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of Microbiology and Virology Department (e-mail: solomonija.ya@yandex.ru; tel.: +7 (342) 36-44-85; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6799-5503>).

Eduard S. Gorovitz – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Microbiology and Virology Department (e-mail: eduard.gorovitz@mail.ru; tel.: +7 (342) 36-44-85; ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4320-8672>).

Anastasiia S. Averkina – Candidate of Technical Sciences, researcher at the Laboratory of Multiphase Disperse Systems (e-mail: Averkina_A_S_ITChUBRAS59@mail.ru; tel.: +7 (342) 237-82-81; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6833-2867>).

Iryna N. Feklistova – Candidate of Biological Sciences, Head of the Research Laboratory for Molecular Genetics and Biotechnology (e-mail: feklstiva@bsu.by; tel.: +375 (17) 209-58-86; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8669-3666>).

Viktor A. Valtsifer – Doctor of Technical Sciences, Professor, Deputy Director responsible for research work (e-mail: valtsifer.v@itcras.ru; tel.: +7 (342) 237-82-50; ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8671-739X>).

References

1. Thakali A., MacRae J.D. A review of chemical and microbial contamination in food: What are the threats to a circular food system? *Environ. Res.*, 2021, vol. 194, pp. 110635. DOI: 10.1016/j.envres.2020.110635
2. Khan H.A., Baig F.K., Mehboob R. Nosocomial infections. Epidemiology, prevention, control and surveillance. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, 2017, vol. 7, no. 5, pp. 478–482. DOI: 10.1016/j.apjtb.2017.01.019
3. Otter J.A., Yezli S., Salkeld J.A.G., French G.L. Evidence that contaminated surfaces contribute to the transmission of hospital pathogens and an overview of strategies to address contaminated surfaces in hospital settings. *Am. J. Infect. Control.*, 2013, vol. 41, no. 5, pp. S6–S11. DOI: 10.1016/j.ajic.2012.12.004
4. Prevention of hospital-acquired infections: a practical guide, 2nd ed. In: G. Ducel, J. Fabry, L. Nicolle eds. Geneva, WHO, 2002, 64 p. Available at: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/67350/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.12.pdf?sequence=1&isAllowed=y (December 07, 2022).
5. Robakowska M., Bronk M., Tyrańska-Fobke A., Ślęzak D., Kraszewski J., Balwicki Ł. Patient Safety Related to Microbiological Contamination of the Environment of a Multi-Profile Clinical Hospital. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2021, vol. 18, no. 7, pp. 3844. DOI: 10.3390/ijerph18073844
6. Rozman U., Pušnik M., Kmetec S., Duh D., Šostar Turk S. Reduced Susceptibility and Increased Resistance of Bacteria against Disinfectants: A Systematic Review. *Microorganisms*, 2021, vol. 9, no. 12, pp. 2550. DOI: 10.3390/microorganisms9122550
7. Cheknev S.B., Vostrova E.I., Apresova M.A., Piskovskaya L.S., Vostrov A.V. Deceleration of bacterial growth in *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* cultures in the presence of copper and zinc cations. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*, 2015, no. 2, pp. 9–17 (in Russian).
8. Ning C., Wang X., Li L., Zhu Y., Li M., Yu P., Zhou L., Zhou Z. [et al.]. Concentration ranges of antibacterial cations for showing the highest antibacterial efficacy but the least cytotoxicity against mammalian cells: implications for a new antibacterial mechanism. *Chem. Res. Toxicol.*, 2015, vol. 28, no. 9, pp. 1815–1822. DOI: 10.1021/acs.chemrestox.5b00258
9. Casey A.L., Adams D., Karpanen T.J., Lambert P.A., Cookson B.D., Nightingale P., Miruszenko L., Shillam R. [et al.]. Role of copper in reducing hospital environment contamination. *J. Hosp. Infect.*, 2010, vol. 74, no. 1, pp. 72–77. DOI: 10.1016/j.jhin.2009.08.018
10. Jaiswal S., McHale P., Duffy B. Preparation and rapid analysis of antibacterial silver, copper and zinc doped sol-gel surfaces. *Colloids Surf. B Biointerfaces*, 2012, vol. 94, pp. 170–176. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2012.01.035
11. Guezennec A.-G., Michel C., Bru K., Touzé S., Desroche N. Transfer and degradation of polyacrylamide-based flocculants in hydrosystems: a review. *Environ. Sci. Pollut. Res.*, 2015, vol. 22, no. 9, pp. 6390–6406. DOI: 10.1007/s11356-014-3556-6
12. Fahmy A., Jácome L.A., Schönhalz A. Effect of Silver Nanoparticles on the Dielectric Properties and the Homogeneity of Plasma Polyacrylic Acid Thin Films. *J. Phys. Chem.*, 2020, vol. 124, no. 41, pp. 22817–22826. DOI: 10.1021/acs.jpcc.0c06712
13. Singh A., Mishra M., Tripathi P., Sachan S. Resistance of heavy metals on some pathogenic bacterial species. *Afr. J. Microbiol. Res.*, 2015, vol. 9, no. 16, pp. 1162–1164. DOI: 10.5897/AJMR2014.7344
14. Alsaadi L.A.S. Heavy metals tolerance and antibiotics susceptibility profiles of *Staphylococcus aureus* strains isolated from clinical sources in Baquba city. *Diyala Journal for Pure Science*, 2017, vol. 13, no. 1, pp. 130–144. DOI: 10.24237/djps.1301.136A
15. Kay-Shoemaker J.L., Watwood M.E., Lentz R.D., Sojka R.E. Polyacrylamide as an organic nitrogen source for soil microorganisms with potential effects on inorganic soil nitrogen in agricultural soil. *Soil Biol. Biochem.*, 1998, vol. 30, no. 8/9, pp. 1045–1052.
16. Kay-Shoemaker J.L., Watwood M.E., Sojka R.E., Lentz R.D. Polyacrylamide as a substrate for microbial amidase in culture and soil. *Soil Biol. Biochem.*, 1998, vol. 30, no. 13, pp. 1647–1654.
17. Wen Q., Chen Z., Zhao Y., Zhang H., Feng Y. Biodegradation of polyacrylamide by bacteria isolated from activated sludge and oil-contaminated soil. *J. Hazard. Mater.*, 2010, vol. 175, no. 1–3, pp. 955–959. DOI: 10.1016/j.jhazmat.2009.10.102
18. Maksimova Yu.G., Gorshkova A.A., Demakov V.A. Polyacrylamide biodegradation by soil microflora and bacteria containing amidase. *Vestnik Permskogo universiteta. Seriya: Biologiya*, 2017, no. 2, pp. 200–204 (in Russian).
19. Sipulinov R.B., Karagaicheva Yu.V., Kozulina T.N., Rogacheva S.M., Otradnova M.I. Vydelenie i otsenka destruktivnoi aktivnosti mikroorganizmov, utiliziruyushchikh akrilovye polimery [Isolation and assessment of the destructive activity of microorganisms utilizing acrylic polymers]. *Uchenye zapiski Tavricheskogo natsional'nogo universiteta imeni V.I. Vernadskogo. Seriya: Biologiya, khimiya*, 2014, vol. 27 (66), no. 2, pp. 150–156 (in Russian).
20. Yu F., Fu R., Xie Y., Chen W. Isolation and characterization of polyacrylamide-degrading bacteria from dewatered sludge. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2015, vol. 12, no. 4, pp. 4214–4230. DOI: 10.3390/ijerph120404214
21. Matsuoka H., Ishimura F., Takeda T., Hikuma M. Isolation of polyacrylamide-degrading microorganisms from soil. *Biotech. Bioproc. Eng.*, 2002, vol. 7, no. 5, pp. 327–330. DOI: 10.1007/BF02932844
22. Shanker R., Ramakrishna C., Seth P.K. Microbial degradation of acrylamide monomer. *Arch. Microbiol.*, 1990, vol. 154, no. 2, pp. 192–198. DOI: 10.1007/BF00423332
23. Nawaz M.S., Khan A.A., Bhattacharayya D., Siitonen P.H., Cerniglia C.E. Physical, biochemical, and immunological characterization of a thermostable amidase from *Klebsiella pneumoniae* NCTR 1. *J. Bacteriol.*, 1996, vol. 178, no. 8, pp. 2397–2401. DOI: 10.1128/jb.178.8.2397-2401.1996
24. Petka K., Tarko T., Duda-Chodak A. Is Acrylamide as Harmful as We Think? A New Look at the Impact of Acrylamide on the Viability of Beneficial Intestinal Bacteria of the Genus *Lactobacillus*. *Nutrients*, 2020, vol. 12, no. 4, pp. 1157. DOI: 10.3390/nu12041157
25. Büttner F.M., Zoll S., Nega M., Götz F., Stehle T. Structure-function analysis of *Staphylococcus aureus* amidase reveals the determinants of peptidoglycan recognition and cleavage. *J. Biol. Chem.*, 2014, vol. 289, no. 16, pp. 11083–11094. DOI: 10.1074/jbc.M114.557306

26. Wilson S.A., Drew R.E. Transcriptional analysis of the amidase operon from *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Bacteriol.*, 1995, vol. 177, no. 11, pp. 3052–3057. DOI: 10.1128/jb.177.11.3052-3057.1995
27. Tuson H.H., Renner L.D., Weibel D.B. Polyacrylamide hydrogels as substrates for studying bacteria. *Chem. Commun. (Camb.)*, 2012, vol. 48, no. 10, pp. 1595–1597. DOI: 10.1039/C1CC14705F
28. Yazdankhah S., Skjerve E., Wasteson Y. Antimicrobial resistance due to the content of potentially toxic metals in soil and fertilizing products. *Microb. Ecol. Health Dis.*, 2018, vol. 29, no. 1, pp. 1548248. DOI: 10.1080/16512235.2018.1548248
29. Chudobova D., Dostalova S., Blazkova I., Michalek P., Ruttkay-Nedecky B., Sklenar M., Nejdil L., Kudr J. [et al.]. Effect of ampicillin, streptomycin, penicillin and tetracycline on metal resistant and non-resistant *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, 2014, vol. 11, no. 3, pp. 3233–3255. DOI: 10.3390/ijerph110303233
30. Xue H., Wu Z., Li L., Li F., Wang Y., Zhao X. Coexistence of heavy metal and antibiotic resistance within a novel composite staphylococcal cassette chromosome in a *Staphylococcus haemolyticus* isolate from bovine mastitis milk. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2015, vol. 59, no. 9, pp. 5788–5792. DOI: 10.1128/AAC.04831-14
31. Boyce J.M. Modern technologies for improving cleaning and disinfection of environmental surfaces in hospitals. *Antimicrob. Resist. Infect. Control*, 2016, vol. 5, pp. 10. DOI: 10.1186/s13756-016-0111-x

Kuznetsova M.V., Afanasievskaya E.V., Nikolaeva N.V., Gorovitz E.S., Averkina A.S., Feklistova I.N., Valtsifer V.A. Use of aqueous compositions of polyacrylamide with zinc and copper cations as a possible way to reduce the risks of microbial contamination in objects in the hospital environment. Health Risk Analysis, 2023, no. 1, pp. 85–96. DOI: 10.21668/health.risk/2023.1.09.eng

Получена: 30.12.2022

Одобрена: 20.01.2023

Принята к публикации: 10.03.2023