



УДК 577.344.3:579.61:666.1.056

Антимикробное фотодинамическое воздействие с использованием покрытий на основе наночастиц металлов (Ag, Au)



Е. С. Тучина, Г. А. Гвоздев, И. Д. Кособудский, W.-C. Shih, В. В. Тучин

Тучина Елена Святославна, кандидат биологических наук, доцент кафедры биохимии и биофизики, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, kliany@rambler.ru

Гвоздев Герман Александрович, аспирант Физико-технического института, Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю. А., ger7709@yandex.ru

Кособудский Игорь Донатович, доктор физико-математических наук, профессор кафедры химии и химической технологии материалов Физико-технического института, Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю. А., ikosobudskiy@gmail.com

Shih Wei-Chuan, Associate Professor, Department of Electrical and Computer Engineering, Biomedical Engineering, Materials Science & Engineering, and Chemistry, University of Houston, Texas, USA, wshih@uh.edu

Тучин Валерий Викторович, доктор физико-математических наук, профессор кафедры оптики и биофотоники, Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н. Г. Чернышевского, tuchinvv@mail.ru

Исследовано сочетанное влияние покрытий на основе наночастиц металлов Ag, Au и ультрафиолетового (365 нм, УФИ) и инфракрасного (808 нм, ИКИ) излучений на бактерии *Staphylococcus aureus* 209 P. Инкубация взвесей микроорганизмов на поверхности стекол с нанопокрываниями в течение 1 ч не приводила к существенному сокращению числа КОЕ – уменьшение численности показано на 2% в случае с серебряными покрытиями и на 8% – с золотыми. Однако облучение ИКИ бактериальных суспензий вызывало гибель 43% популяции после 5 мин, 86% популяции – после 30 мин. Снижение численности исследуемых микроорганизмов отмечено на 21% после 5 мин и на 75% после 30 мин воздействия серебряных нанопокрываний в сочетании с экспозицией УФИ (365 нм). Уменьшение числа бактериальных клеток на поверхности золотых нанопокрываний происходило на 63% после 5 мин и на 99% – после 30 мин воздействия ИКИ (808 нм). Большая антибактериальная эффективность комбинации золотых нанопокрываний и ИКИ может быть объяснена большей плотностью мощности излучения, а также большей чувствительностью микроорганизмов к фототермическому воздействию.

Ключевые слова: фотодинамическое воздействие, нанопокрывание, наночастицы, Ag, Au, УФ, 365 нм, ИК, 810 нм, микроорганизмы, *S. aureus*.

DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-322-325>

Введение

Разработка биоактивных покрытий, сочетающих в себе несколько свойств, активно ведется научным сообществом в последние годы. Различные модификации наночастиц благородных металлов позволяют создавать покрытия с нестандартными характеристиками [1–6].

Немалый интерес представляет использование подобных материалов для снижения численности условно-патогенных или уничтожения патогенных микроорганизмов. Угнетение роста таких микроорганизмов, как *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enterica*, *Bacillus subtilis*, достигалось при сочетании действия оптического излучения и фотодинамической активности наночастиц в составе покрытий [6–9].

В связи с вышесказанным представляло интерес проанализировать антимикробные свойства новых нанопокрываний с ионами Ag и Au в сочетании с оптическим излучением для подавления бактерий одного из наиболее значимых клинических видов – *Staphylococcus aureus*.

Материалы и методы

В работе использовали два типа образцов, содержащих наночастицы серебра (Ag) или наночастицы золота (Au). Синтез нанопокрываний серебра проводили по схеме, описанной ранее, процедура получения нанопокрываний золота и основные характеристики изложены в работе.

В качестве объекта исследования выбрали типовой штамм *S. aureus* 209 P (ГИСК им. Л. А. Тарасевича, Москва). Выращивание микроорганизмов проводили при температуре 37° С на универсальной плотной питательной среде (ГРМ-агар, Оболенск, Россия).

Оптические параметры источников лазерного излучения представлены в таблице.

Взвесь микроорганизмов в объеме 0,1 мл (10^4 м.к./мл) наносили на поверхность контрольных стекол и стекол с нанопокрываниями. Контрольные образцы (100%) инкубировали при



Источники излучения, использованные в работе
Sources of radiation used in the work

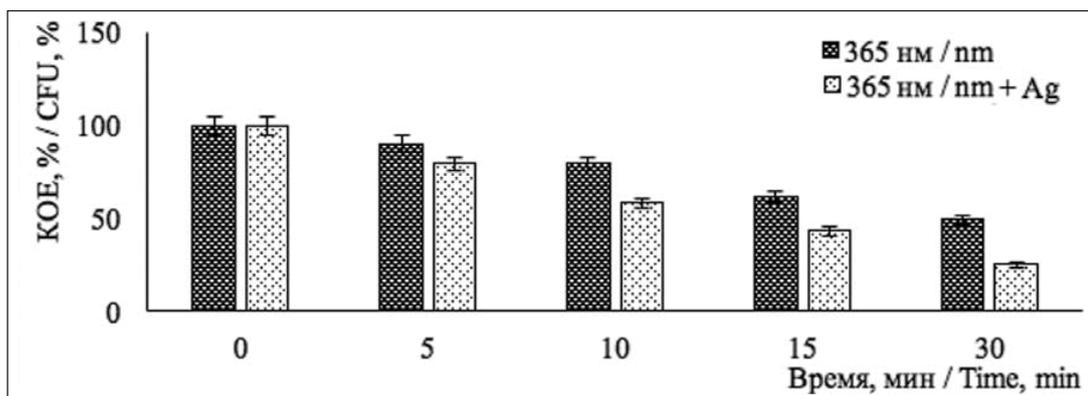
Условные обозначения / Legend	Максимум испускания, нм / Emission maximum, nm	Плотность мощности, мВт/см ² / Power density, mW/cm ²	Тип излучения / Type of radiation
УФИ / UVR	365	8	Светодиодное / Light emitted diod
ИКИ / IRR	808	400	Лазерное / Laser

25° С в течение 1 ч без доступа света; далее 0,1 мл суспензии со стекла переносили на поверхность плотной питательной среды. Экспериментальные образцы помещали под источник излучения, экспозиция составляла 5, 10, 15 и 30 мин. После воздействия взвеси бактерий переносили на чашки Петри с плотной питательной средой и равномерно распределяли по поверхности стерильным шпателем. Учет результатов проводили путем подсчета числа колониеобразующих единиц (КОЕ) через 24–48 ч после инкубации при 37° С. Каждый эксперимент проводили в десятикратной повторности. Для статистической обработки экспериментальных данных использовали программу Microsoft Excel 2010.

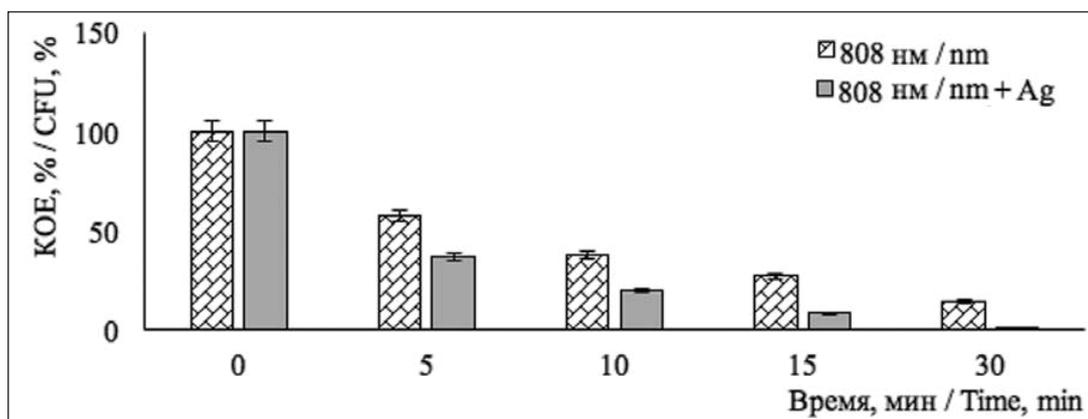
Результаты и их обсуждение

Представляло интерес изучение реакции микроорганизмов на действие УФ (365 нм) и ИК (808 нм) излучений (рисунок). Показано, что в течение первых 5 мин экспозиции УФ вызывает гибель 10% бактериальной популяции, в то время как ИКИ приводит к снижению численности на 43%. В дальнейшем эта тенденция сохраняется, к 30 мин облучения УФ число КОЕ сокращается на 51%, при использовании ИКИ – на 86%.

Существенное усиление фотодинамического эффекта отмечено при инкубации взвесей микроорганизмов на поверхности стекол с на-



a/a



b/b

Изменение числа КОЕ *S. aureus* 209 P при инкубации на поверхности стекол с нанопокртиями
 The change in the number of CFU *S. aureus* 209 P during incubation on the surface of glasses with nanocoatings



нопокрытиями. Сочетание серебряного нанопокрyтия и УФИ приводило к последовательному сокращению численности популяции на 21, 42, 57, 75% при экспозиции в течение 5, 10, 15, 30 мин (см. рисунок, а).

Комбинация ИКИ с золотым нанопокрyтием демонстрировала выраженное угнетающее действие в отношении исследуемых микроорганизмов. Уже после 10 мин облучения снижение числа КОЕ отмечено на 80%, а к 30 мин облучения данный показатель снижался на 99% (см. рисунок, б).

В работе были использованы два типа источников оптического излучения – светодиод с максимумом испускания 365 нм и лазер с максимумом испускания 808 нм. Недостаточную бактериостатическую активность УФИ в данных экспериментах можно объяснить низкой когерентностью волн, испускаемых светодиодом, и малой плотностью мощности излучения. Однако при инкубации микроорганизмов на поверхности стекол, содержащих в качестве фотодинамических объектов наночастицы серебра, удавалось повысить эффективность АФДВ на 50%. Сочетание лазерного ИКИ с плотностью мощности 400 мВт/см² с покрытиями, содержащими золотые нанодиски, имело ярко выраженное бактерицидное действие (гибель 99% бактериальной популяции). Несмотря на явное преимущество комбинации ИКИ + Au перед УФИ + Ag, механизмы взаимодействия наночастиц в исследованных покрытиях ключевым образом отличаются. В случае УФИ + Ag антибактериальный эффект достигается в ходе фотодинамической реакции и при образовании активных радикалов, в случае с ИКИ + Au основное действие принадлежит локальному, даже точечному нагреванию области контакта бактериальных клеток с золотыми нанодисками.

Список литературы

1. Palza H., Escobar B., Bejarano J., Bravo D., Diaz-Dosque M., Perez J. Designing antimicrobial bioactive glass materials with embedded metal ions synthesized by the sol-gel method // *Materials Science and Engineering*: C. 2013. Vol. 33, iss 7. P. 3795–3801.
2. Jadalannagari S., Deshmukh K., Ramanan S. R., Kowshik M. Antimicrobial activity of hemocompatible silver doped hydroxyapatite nanoparticles synthesized by modified sol-gel technique // *Applied Nanoscience*. 2014. Vol. 4, iss. 2. P. 133–141.
3. Meeker D. G., Jenkins S. V., Miller E. K., Beenken K. E., Loughran A. J., Powless A., Muldoon T. J., Galanzha E. I., Zharov V. P., Smeltzer M. S., Chen J. Synergistic Photothermal and Antibiotic Killing of Biofilm-Associated *Staphylococcus aureus* Using Targeted Antibiotic-Loaded Gold Nanoconstructs // *ACS Infect. Dis.* 2016. Vol. 2, iss. 4. P. 241–250.
4. Hamblin M. R. Mechanisms and applications of the anti-inflammatory effects of photobiomodulation // *AIMS Biophys.* 2017. Vol. 4. P. 337–361.
5. Penders J., Stolzoff M., Hickey D. J., Andersson M., Webster T. J. Shape-dependent antibacterial effects of non-cytotoxic gold nanoparticles // *Int. J. of Nanomedicine*. 2017. Vol. 12. P. 2457–2468.
6. Paiva L., Fidalgo T., Costa L. da, Maia L., Balan L., Anselme K., Ploux L., Thire R. Antibacterial properties and compressive strength of new one-step preparation silver nanoparticles in glass ionomer cements (NanoAg-GIC) // *J. Dent.* 2018. Vol. 69. P. 102–109.
7. Wang S. G., Chen Y. C. Antibacterial gold nanoparticle-based photothermal killing of vancomycin-resistant bacteria // *Nanomedicine*. 2018. Vol. 13. P. 1405–1416.
8. Тучина Е. С., Гвоздев Г. А., Кособудский И. Д. Изучение антибактериальных свойств покрытий на основе наночастиц металлов (Ag, Zn) в матрице диоксида кремния // *Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология*. 2018. Т. 18, вып. 2. С. 211–215. DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-2-211-215
9. Santos G. M., De Santi Ferrara F. I., Zhao F., Rodrigues D. F., Shih W. C. Photothermal inactivation of heat-resistant bacteria on nanoporous gold disk arrays // *Opt. Mater. Express*. 2016. Vol. 6. P. 1217–1229.

Образец для цитирования:

Тучина Е. С., Гвоздев Г. А., Кособудский И. Д., Ших В.-С., Тучин В. В. Антимикробное фотодинамическое воздействие с использованием покрытий на основе наночастиц металлов (Ag, Au) // *Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология*. 2019. Т. 19, вып. 3. С. 322–325. DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-322-325>

Antimicrobial Photodynamic Effects Using Coatings Based on Metal Nanoparticles (Ag, Au)

E. S. Tuchina, G. A. Gvozdev, I. D. Kosobudskiy, W.-C. Shih, V. V. Tuchin

Elena S. Tuchina, <https://orcid.org/0000-0003-4498-2846>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, kliany@rambler.ru

German A. Gvozdev, <https://orcid.org/0000-0003-3251-6565>, Yuri Gagarin State Technical University of Saratov, 77 Politechnicheskaya St., Saratov 410054, Russia, ger7709@yandex.ru

Igor D. Kosobudskiy, <https://orcid.org/0000-0002-5970-3857>, Yuri Gagarin State Technical University of Saratov, 77 Politechnicheskaya St., Saratov 410054, Russia, ikosobudskiy@gmail.com

Wei-Chuan Shih, University of Houston, Texas, Houston, Eng. Bldg. 1 N 308, 77204, USA, wshih@uh.edu



Valeriy V. Tuchin, <https://orcid.org/0000-0001-7479-2694>, Saratov State University, 83 Astrakhanskaya St., Saratov 410012, Russia, kliany@rambler.ru

The combined effect of coatings based on nanoparticles of metals Ag, Au, ultraviolet (365 nm, UVR) and infrared (808 nm, IRR) radiation on *Staphylococcus aureus* 209 P was studied. Decrease in numbers was shown by 2% in the case of silver coatings and by 8% in the case of gold coatings after 1 h incubation. However, exposure of the IRR to bacterial suspensions caused the death of 43% of the population after 5 min, 86% of the population after 30 min. The decrease in the number of the studied microorganisms was measured as 21% after 5 min and by 75% after 30 min of exposure to silver nano-coatings in combination with UVR (365 nm). The decrease in the number of bacterial cells on the surface of gold nano-coatings was 63% and occurred after 5 min and was 99% after 30 min of exposure to IRR (808 nm). The high antibacterial efficacy of a combination of gold nano-coatings and IRR can be explained by a higher density of radiation power, as well as a greater sensitivity of microorganisms to photothermal effects.

Keywords: photodynamic effect, nano-coating, nanoparticles, Ag, Au, UV, 365 nm, IR, 810 nm, microorganisms, *S. aureus*.

References

1. Palza H., Escobar B., Bejarano J., Bravo D., Diaz-Dosque M., Perez J. Designing antimicrobial bioactive glass materials with embedded metal ions synthesized by the sol-gel method. *Materials Science and Engineering: C*, 2013, vol. 33, iss 7, pp. 3795–3801.
2. Jadalannagari S., Deshmukh K., Ramanan S. R., Kowshik M. Antimicrobial activity of hemocompatible silver doped hydroxyapatite nanoparticles synthesized by modified sol-gel technique. *Applied Nanoscience*, 2014, vol. 4, iss. 2, pp. 133–141.
3. Meeker D. G., Jenkins S. V., Miller E. K., Beenken K. E., Loughran A. J., Powless A., Muldoon T. J., Galanzha E. I., Zharov V. P., Smeltzer M. S., Chen J. Synergistic Photothermal and Antibiotic Killing of Biofilm-Associated *Staphylococcus aureus* Using Targeted Antibiotic-Loaded Gold Nanoconstructs. *ACS Infect. Dis.*, 2016, vol. 2, iss. 4, pp. 241–250.
4. Hamblin M. R. Mechanisms and applications of the anti-inflammatory effects of photobiomodulation. *AIMS Biophys.*, 2017, vol. 4, pp. 337–361.
5. Penders J., Stolzoff M., Hickey D. J., Andersson M., Webster T. J. Shape-dependent antibacterial effects of non-cytotoxic gold nanoparticles. *Int. J. of Nanomedicine*, 2017, vol. 12, pp. 2457–2468.
6. Paiva L., Fidalgo T., Costa L. da, Maia L., Balan L., Anselme K., Ploux L., Thire R. Antibacterial properties and compressive strength of new one-step preparation silver nanoparticles in glass ionomer cements (NanoAg-GIC). *J. Dent.*, 2018, vol. 69, pp. 102–109.
7. Wang S. G., Chen Y. C. Antibacterial gold nanoparticle-based photothermal killing of vancomycin-resistant bacteria. *Nanomedicine*, 2018, vol. 13, pp. 1405–1416.
8. Tuchina E. S., Gvozdev G. A., Kosobudskiy I. D. The Study of Antibacterial Properties of Coatings Based on Metal (Ag, Zn) Nanoparticles in Silicon Dioxide Matrix. *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2018, vol. 18, iss. 2, pp. 211–215 (in Russian). DOI: 10.18500/1816-9775-2018-18-2-211-215.
9. Santos G. M., De Santi Ferrara F. I., Zhao F., Rodrigues D. F., Shih W. C. Photothermal inactivation of heat-resistant bacteria on nanoporous gold disk arrays. *Opt. Mater. Express.*, 2016, vol. 6, pp. 1217–1229.

Cite this article as:

Tuchina E. S., Gvozdev G. A., Kosobudskiy I. D., Shih W.-C., Tuchin V. V. Antimicrobial Photodynamic Effects Using Coatings Based on Metal Nanoparticles (Ag, Au). *Izv. Saratov Univ. (N. S.), Ser. Chemistry. Biology. Ecology*, 2019, vol. 19, iss. 3, pp. 322–325 (in Russian). DOI: <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2019-19-3-322-325>