



ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ НАНОЧАСТИЦ ОКИСЛЕННОГО ГРАФЕНА НА БАКТЕРИАЛЬНЫЕ КЛЕТКИ

✉¹Красочко П.А., ¹Корочкин Р.Б., ¹Понаськов М.А., ²Ронищенко Б.В., ²Шманай В.В.

¹Витебская ордена «Знак Почета» государственная академия ветеринарной медицины

Витебск, Республика Беларусь

²Институт физико-органической химии Национальной академии наук Беларуси

Минск, Республика Беларусь

✉e-mail: krasochko@mail.ru

Представлены результаты исследований внедрения нанотехнологий в различные сферы научной деятельности. В медицинской и ветеринарной практике перспективными считаются наночастицы различных форм углерода, так как они обладают широким арсеналом биомодулирующих эффектов на организм, проявляя незначительное экотоксическое и организмотоксическое воздействие. Большое значение для использования в медицине имеет их антибактериальное действие. Микроорганизмы являются одним из объектов изучения цитотоксических свойств новых лекарственных препаратов. Проведена оценка цитотоксического действия наночастиц окисленного графена на основные типы бактериальных клеток по результатам световой и атомно-силовой микроскопии. Световая микроскопия позволила установить, что действие субингибирующих концентраций наночастиц окисленного графена, достигнутое путем исследования колоний микроорганизмов на границе ингибиции их роста, может приводить к тинкториальной трансверсии у грамположительных микроорганизмов, в частности, золотистого стафилококка, в то время как у грамотрицательной кишечной палочки подобного феномена не отмечается. Методом атомно-силовой микроскопии установлено, что токсические концентрации наночастиц окисленного графена приводят к морфологической деградации, степень которой зависит от времени экспозиции наночастиц. При экспозиции в 30 мин наблюдали морфологическую деградацию клеток у основных типов бактерий (кокки, палочки), сопровождающуюся уменьшением контуров клеток. При увеличении экспозиции от 30 до 90 мин наблюдали полную морфологическую деструкцию бактериальных клеток и распад композиции бактериальной популяции. Цитотоксическая концентрация наночастиц окисленного графена составляет значение более 75 мкг·мл⁻¹, что установлено по результатам микроскопии образцов тестовых культур (*Escherichia coli* ATCC 25922 и *Staphylococcus aureus* ATCC 6538).

Ключевые слова: наночастицы, окисленный графен, световая микроскопия, атомно-силовая микроскопия, бактериальная морфология

THE CYTOTOXIC EFFECT OF GRAPHENE OXIDE NANOPARTICLES ON BACTERIAL CELLS

✉¹Krasochko P.A., ¹Korochkin R.B., ¹Ponaskov M.A., ²Ronishenko B.V., ²Shmanai V.V.

¹Vitebsk Order of the Badge of Honor State Academy of Veterinary Medicine

Vitebsk, Republic of Belarus

²Institute of Physical Organic Chemistry, National Academy of Sciences of Belarus

Minsk, Republic of Belarus

✉e-mail: krasochko@mail.ru

The results of research on the introduction of nanotechnology in various fields of scientific activities are presented. In medical and veterinary practice, nanoparticles of various forms of carbon

are considered promising, because they have a wide arsenal of biomodulatory effects on the body, exhibiting little ecotoxic and organismotoxic effects. Their antibacterial effect is of great importance for the use in medicine. Microorganisms are one of the objects of study of the cytotoxic properties of new medicinal products. The cytotoxic effect of oxidized graphene nanoparticles on the main types of bacterial cells was evaluated by light and atomic force microscopy. Light microscopy allowed to establish that the effect of subinhibitory concentrations of nanoparticles of oxidized graphene, achieved by studying the colonies of microorganisms on the border of their growth inhibition, can lead to tinctorial transversion in Gram-positive microorganisms, in particular *Staphylococcus aureus*, while in Gram-negative *E. coli* such a phenomenon is not observed. Using the method of atomic force microscopy, it was found that toxic concentrations of oxidized graphene nanoparticles lead to morphological degradation, the degree of which depends on the exposure time of nanoparticles. Morphological degradation of cells in the main types of bacteria (cocci, bacilli), accompanied by a decrease in cell contours, was observed at 30 min exposure. When the exposure was increased from 30 to 90 min, complete morphological destruction of the bacterial cells and decay of the bacterial population composition were observed. The cytotoxic concentration of oxidized graphene nanoparticles is more than $75 \mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$, as determined by the results of microscopy of test culture samples (*Escherichia coli* ATCC 25922 and *Staphylococcus aureus* ATCC 6538).

Keywords: nanoparticles, graphene oxide, light microscopy, atomic force microscopy, bacterial morphology

Для цитирования: Красочко П.А., Корочкин Р.Б., Понаськов М.А., Ронищенко Б.В., Шманай В.В. Цитотоксическое действие наночастиц окисленного графена на бактериальные клетки // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2022. Т. 52. № 3. С. 114–125. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2022-3-13>. EDN YPUCPQ.

For citation: Krasochko P.A., Korochkin R.B., Ponaskov M.A., Ronishenko B.V., Shmanai V.V. The cytotoxic effect of graphene oxide nanoparticles on bacterial cells. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki = Siberian Herald of Agricultural Science*, 2022, vol. 52, no. 3, pp. 114–125. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2022-3-13>. EDN YPUCPQ.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Быстрое развитие нанотехнологий привело к производству в больших количествах наночастиц и дальнейшему их распространению в окружающей среде. Благодаря своим уникальным свойствам, обусловленным их наноразмерностью, наночастицы вызывают большой интерес в ветеринарной и медицинской областях. Однако существует мнение по поводу их потенциального неблагоприятного воздействия как на экологию и живые организмы в целом, так и на отдельные клетки в частности.

Основным компонентом биосферы считаются микроорганизмы, которые обеспечивают как целостность всей биосферы, так и благополучие составляющих ее макроорганизмов, поэтому характер эффектов, вызванных действием наночастиц на бактерии, можно считать первичным индикатором экотоксического воздействия на биосферу.

Многочисленными работами исследователей установлено, что клеточные эффекты при действии наночастиц имеют сильную зависимость от множества параметров последних, таких как их размер, заряд, форма и химическая природа, но также различаются в зависимости от типа клеток и условий окружающей среды [1]. В этой связи представляется принципиально важным исследовать характер взаимодействия наночастиц и клетки, чтобы обеспечить безопасное и инновационное развитие нанотехнологий в медицине и экологии, включая возможность использования препаратов на основе наноматериалов в качестве альтернативы антибиотикам для специфического и эффективного воздействия на бактерии [2].

Конкретный механизм цитотоксического действия наночастиц на бактериальную клетку всегда многогранный и может включать разрушение бактериальных мембран [3], продукцию активных форм кислорода

[4], а также другое воздействие на метаболизм [5]. В большинстве предыдущих исследований авторы, включая собственные работы [6–8], изучали физиологические характеристики жизнеспособности и ферментативной активности бактерий, чтобы оценивать цитотоксический эффект наночастиц с помощью доступных методик культивирования с подсчетом колониеобразующих единиц (КОЕ) либо плотности бактериальной популяции. В любом случае без наблюдений оставались непосредственные цитотоксические эффекты. При этом в большинстве работ исследователи, включая авторов данной статьи, использовали наиболее признанные цитотоксические наноматериалы, в частности, наночастицы благородных металлов (серебра) с доказанным сильным антибактериальным действием.

Однако каким бы ни был механизм антибактериального действия наночастиц, их первоначальное воздействие основано на контакте между внешней клеточной мембраной клетки и наноконструктом. Все последующие модификации морфологических характеристик бактериальных клеток и композиции всей бактериальной популяции отражают цитотоксическое действие данного наноматериала.

В последнее время возник значительный интерес к углеродным наноматериалам благодаря ряду уникальных свойств, невысокой стоимости и доступности их синтеза. Из их числа окисленный графен является производным графена, который считается одним из многообещающих материалов в биомедицинских исследованиях. В частности, он известен как антимикробный наноконструкт с удовлетворительной биосовместимостью. С другой стороны, этот наноматериал имеет приемлемые физические параметры, ценные для биомедицинского применения. Так, оксид графена содержит различные функциональные группы, такие как гидроксильные, эпоксидные и карбоксильные, которые обеспечивают его хорошую растворимость в воде. Хотя стабильность коллоидов окисленного графена не всегда достаточна, что ограничивает их широкое использование, исследования авторов в данной области позволи-

ли синтезировать наноразмерные коллоидно-стабильные формы этого материала [9].

Одним из современных методов морфологической оценки микроорганизмов является атомно-силовая микроскопия. Ее использование в микробиологии дает возможность получить объективную информацию о физических параметрах изучаемых микрообъектов, оценивать их морфологические характеристики и визуализировать композиции всей бактериальной популяции. Кроме того, до сих пор информативными остаются традиционные методы оценки тинкториальных свойств бактерий, в частности, окраска по Граму, которая дает возможность определить по грампринадлежности исследованной культуры микроорганизмов особенности химического строения клеточной стенки, которая считается основным барьером взаимодействия микроорганизма с внешней средой.

Ранее проводились изучение и оценка антибактериального действия наночастиц разных форм углерода [10], в которых установлена различная степень бактериоингибирующего действия. Оно в значительной степени зависело от формы наноматериала, его размера и коллоидной стабильности, то есть имело выраженный интегральный характер. Ранними работами многих исследователей, в том числе авторов данной статьи, проводились оценки цитотоксического действия наночастиц на бактериальные клетки методом атомно-силовой микроскопии, однако во всех случаях использовались мало биосовместимые материалы, в частности наночастицы серебра или меди, что предполагало сильный цитотоксический эффект, но также являлось сильным препятствием их широкого использования в медицине. Доступность наноматериала на основе базового биоэлемента углерода открывает широкие возможности в биологии, однако остается малоизученным вопрос его токсического действия на клетку.

Цель исследований – изучить влияние наночастиц окисленного графена на бактериальные клетки основных представителей условно-патогенной микробиоты (*Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*) с использованием атомно-силовой и классической световой микроскопии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве тестового наноматериала с предполагаемым цитотоксическим действием использован образец коллоидного раствора окисленного графена со стабильными физико-химическими параметрами, приготовленный по методике [9]. Исходная концентрация наночастиц в образце составляла $600 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$, их средний диаметр лежал в пределах 100–120 нм. В опытах использовали различные концентрации тестового образца коллоида, которые (после добавления к бактериальной культуре) имели следующие значения: $300 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$, $150 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$, $75 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$ и $35 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$.

Исследуемыми микроорганизмами служили 18-часовые бактериальные культуры двух микроорганизмов (*Escherichia coli* ATCC 25922 и *Staphylococcus aureus* ATCC 6538) как представителей наиболее широко распространенной условно-патогенной микробиоты, принадлежащих к различным классам бактерий (грамотрицательные палочки и грамположительные кокки). Тестовые микроорганизмы культивировали в бульоне Мюллера-Хинтона. После этого проводили дополнительное культивирование на одноименном агаре с добавлением наночастиц окисленного графена. Для этого после распределения бульонной культуры по поверхности агара в чашке Петри в его толще производили отверстия стерильным пробойником диаметром 5 мм, в которые вносили 0,1 мл тестового образца коллоидного раствора наночастиц окисленного графена. Тинкториальные свойства микроорганизмов оценивали по результатам окраски по Граму.

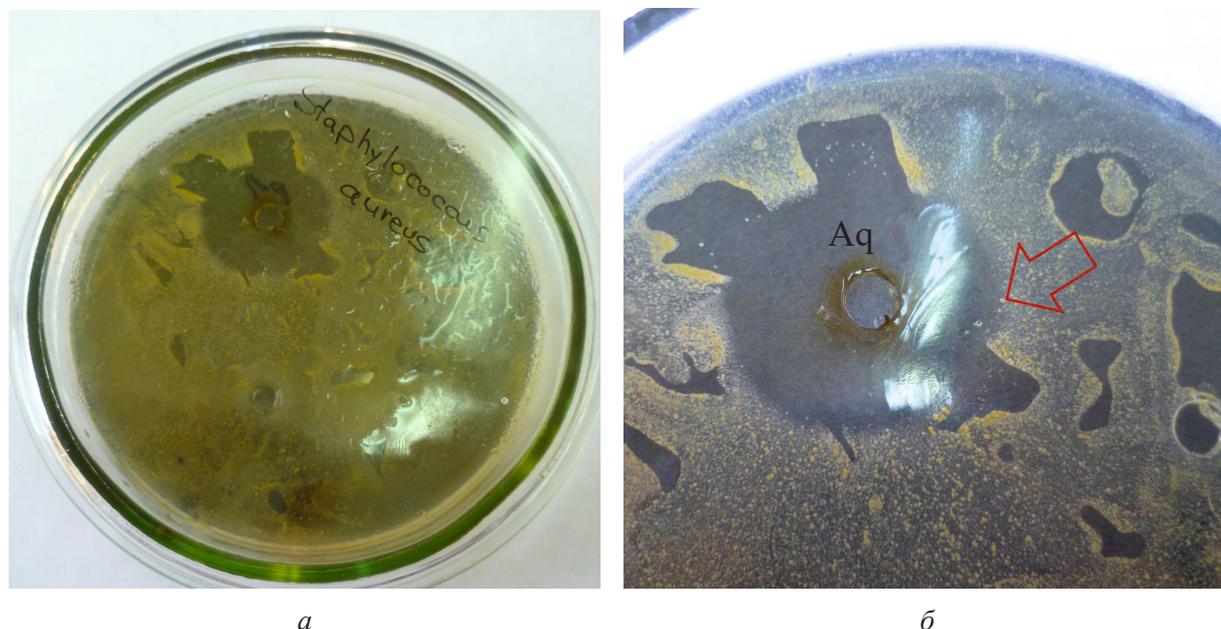
Для атомно-силовой микроскопии (АСМ) проводили фиксацию бульонных бактериальных культур на блюде, тончайший слой которой приготавливали путем прикладывания скотча. До нанесения на поверхность подложки испытуемые бактериальные культуры подвергли воздействию коллоидных растворов окисленного графена в течение 30 и 90 мин, после чего проводили их осаждение на блюду путем капельной преципитации в количестве 5 мкл методом микропипетирования. Высушивание исследуемого

образца осуществляли путем естественного испарения. Приготовленные микропрепараты помещали в атомно-силовой микроскоп, подключенный через интерфейс с функциональным компьютером, на котором была установлена рабочая версия программы визуализации АСМ. В атомно-силовой микроскопии визуально оценивали целостность бактериальной клетки, композицию ее поверхности, а также структуру бактериальной популяции.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

После первоначального культивирования тестовых микроорганизмов на агаре Мюллера-Хинтона с добавленным в вырубленную лунку раствором наночастиц окисленного графена проводили отбор колоний на границе зоны ингибиции роста бактерий, где ожидалась субингибирующая концентрация наночастиц (см. рис. 1). В качестве контроля отбирали колонии микроорганизмов на максимальном удалении от места внесения наночастиц, где ожидалось их минимальное количество. После отбора бактериальной культуры приготавливали микропрепараты, фиксировали их химическим путем и окрашивали по методу Грама в стандартной методике. Изучение морфо-тинкториальных характеристик культур тестовых микроорганизмов позволило оценить характер цитотоксического действия наночастиц окисленного графена при концентрации, близкой к бактериоингибирующей (на границе зоны ингибирования роста) в сравнении с ее минимальным значением (на периферии роста).

При световой микроскопии микропрепаратов отмечали сохранение типичных морфологических свойств *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* (короткие палочки и кокки соответственно). Тем не менее, при окраске по Граму отмечали необычный феномен тинкториальной трансверсии культуры стафилококка, в которой он менял свою принадлежность с грамположительной частично в грамотрицательную. Данный феномен имел кластерный несплошной характер, который отмечен только в микропрепаратах культур, отобранных на границе зоны ингибирования роста бактерий, где ожидалась па-



a

б

Рис. 1. Ингибция роста культуры *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 на среде Мюллера-Хинтона: *a* – колония культуры микроорганизма при локальном добавлении водного раствора наночастиц окисленного графена (лунка обозначена буквами Аq); *б* – колония культуры микроорганизма, отобранная для микроскопического исследования

Fig. 1. Growth inhibition of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 culture on Muller-Hinton agar:

a - microbial culture colony with local addition of an aqueous solution of oxidized graphene nanoparticles (the well is marked with the letters Aq); *б* - microbial culture colony, selected for microscopic study

ралетальная концентрация наночастиц. В культуре кишечной палочки подобного феномена не отмечено, однако данный микроорганизм принадлежит к числу грамотрицательных.

На рис. 2 представлены микрофотографии препаратов колоний золотистого стафилококка, отобранные на границе зоны ингибирования роста, в котором очевидны массивные кластеры бактерий с измененными тинкториальными свойствами. При этом в контроле подобная тинкториальная диссоциация не была заметна, а отмечена типичная морфологическая картина, свойственная типовым штаммам *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (см. рис. 3).

Следует отметить, что подобный феномен изменения тинкториальных свойств у грамположительных микроорганизмов под действием цитолитических токсинов мало описан в литературе, что отражает недостаточное внимание исследователей к световой микроскопии как к инструменту оценки биологических свойств бактерий.

Как известно, окраска по Граму является базовым методом исследования в микробиологии, в котором микроорганизмы делят-

ся на две группы в зависимости от состава клеточной стенки и содержания в ней пептидогликана. Пептидогликан является основным компонентом бактериальной клеточной стенки как у грамположительных, так и у грамотрицательных бактерий. Этот мунопептид может быть модифицирован под действием бактериальных гликолитических и пептидолитических ферментов (гидролаз) либо цитотоксических веществ, называемых аутолизинами. Модификации или вариации базовой структуры пептидогликана встречаются среди всех видов микроорганизмов, но наиболее очевидны среди грамположительных бактерий, исходя из гораздо более высокого его содержания. Многие модификации являются специфичными из-за действия уникальных модифицирующих или лизирующих ферментов.

Кроме того, структура пептидогликана также может нарушаться в ответ на изменения условий культивирования, в частности, при наличии токсических веществ, особенно тех, механизм действия которых нацелен на клеточную стенку [11]. В любом случае,

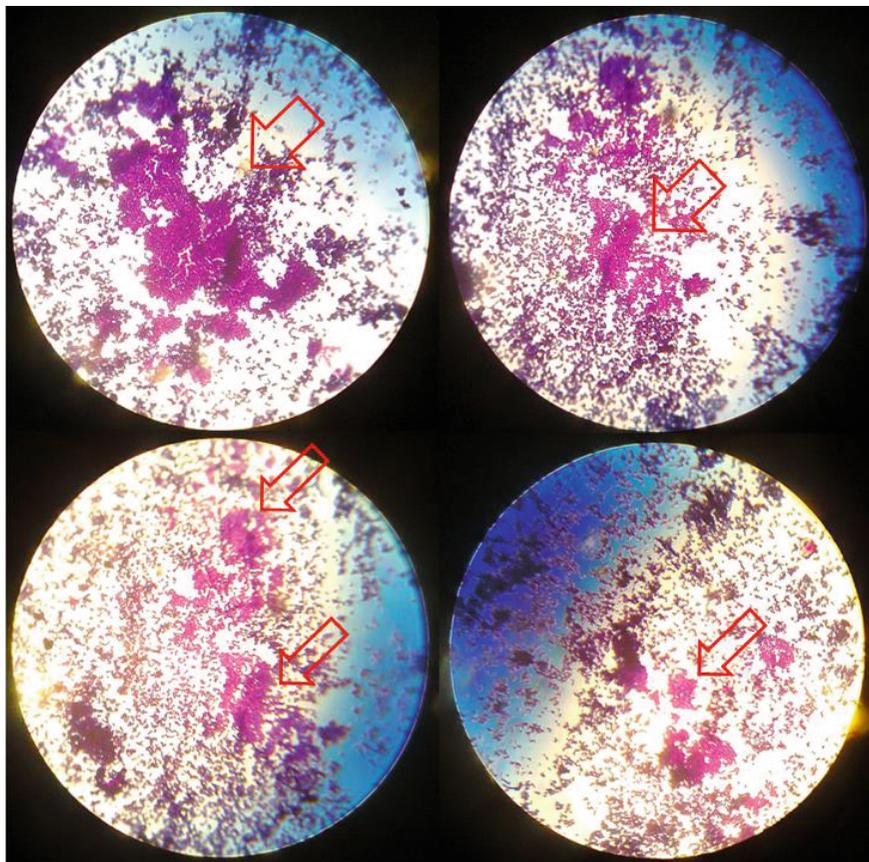


Рис. 2. Тинкториальная диссоциация культуры *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 при действии паралетальных концентраций наночастиц окисленного графена (окраска по Граму, увеличение 800, кластерный эффект тинкториальной трансверсии бактериальных клеток с грамположительной окраски на грамотрицательную — отмечен стрелками)

Fig. 2. Tinctorial dissociation of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 culture in the presence of para-lethal concentrations of graphene oxide nanoparticles (Gram stain, magnification 800, cluster effect of tinctorial transversion of bacterial cells from Gram-positive to Gram-negative staining is indicated by arrows)

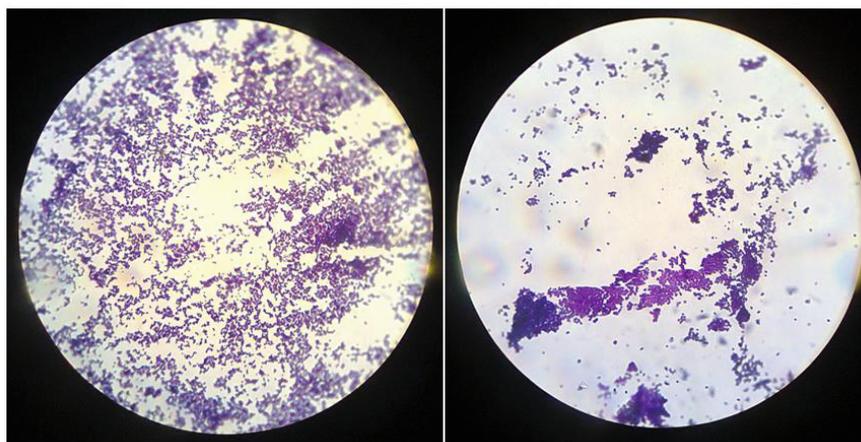


Рис. 3. Контрольные образцы *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 при действии минимальных концентраций наночастиц окисленного графена (окраска по Граму, увеличение 800, сплошная грамположительная окраска клеток всей бактериальной культуры)

Fig. 3. Control samples of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 in the presence of minimal concentrations of graphene oxide nanoparticles (Gram stain, 800 magnification, continuous gram-positive staining of cells of the entire bacterial culture)

мы не ставили перед собой цель установить истинный механизм тинкториальной трансверсии в культуре золотистого стафилококка, однако учитывая то, что грампринадлежность бактерии определяется составом клеточной стенки, можно заключить, что наночастицы окисленного графена воздействуют на эту клеточную структуру, а его сублетальные концентрации существенно нарушают ее состав.

Атомно-силовая микроскопия позволила визуально оценить характер морфологических изменений в бактериальных клетках и всей бактериальной популяции, обусловленных токсическим действием наночастиц окисленного графена. Контрольные образцы бактериальных культур при АСМ визуально соответствовали типичной морфологии и размерам кокковых и палочковидных микроорганизмов (см. рис. 4)

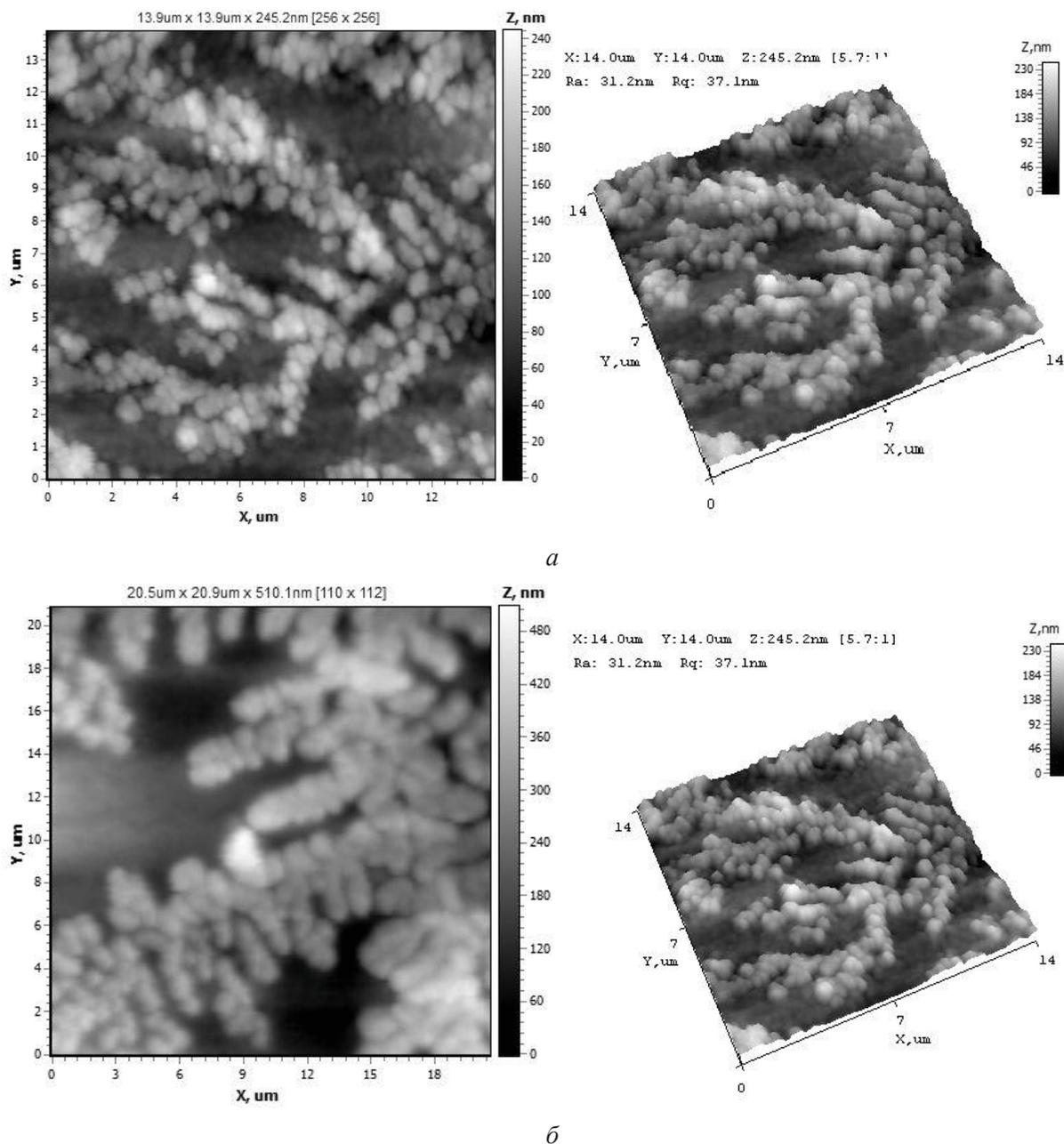


Рис. 4. Атомно-силовая микроскопия (контрольные образцы):
a – *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; *б* – *Escherichia coli* ATCC 25922
Fig. 4. Atomic force microscopy (control samples):
a – *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; *б* – *Escherichia coli* ATCC 25922

В микропрепаратах бактериальных культур, обработанных наночастицами окисленного графена, отмечались морфологические изменения как самих бактериальных клеток, так и композиции всей микробной культуры. Характер изменений в целом был одинаков, и их наличие выявлялось спустя 30 мин по-

сле обработки наночастицами окисленного графена. Первоначальные изменения характеризовались нарушением контуров бактериальных клеток по сравнению с контрольными образцами. В частности, была резко снижена выраженность очертаний бактериальных клеток (см. рис. 5).

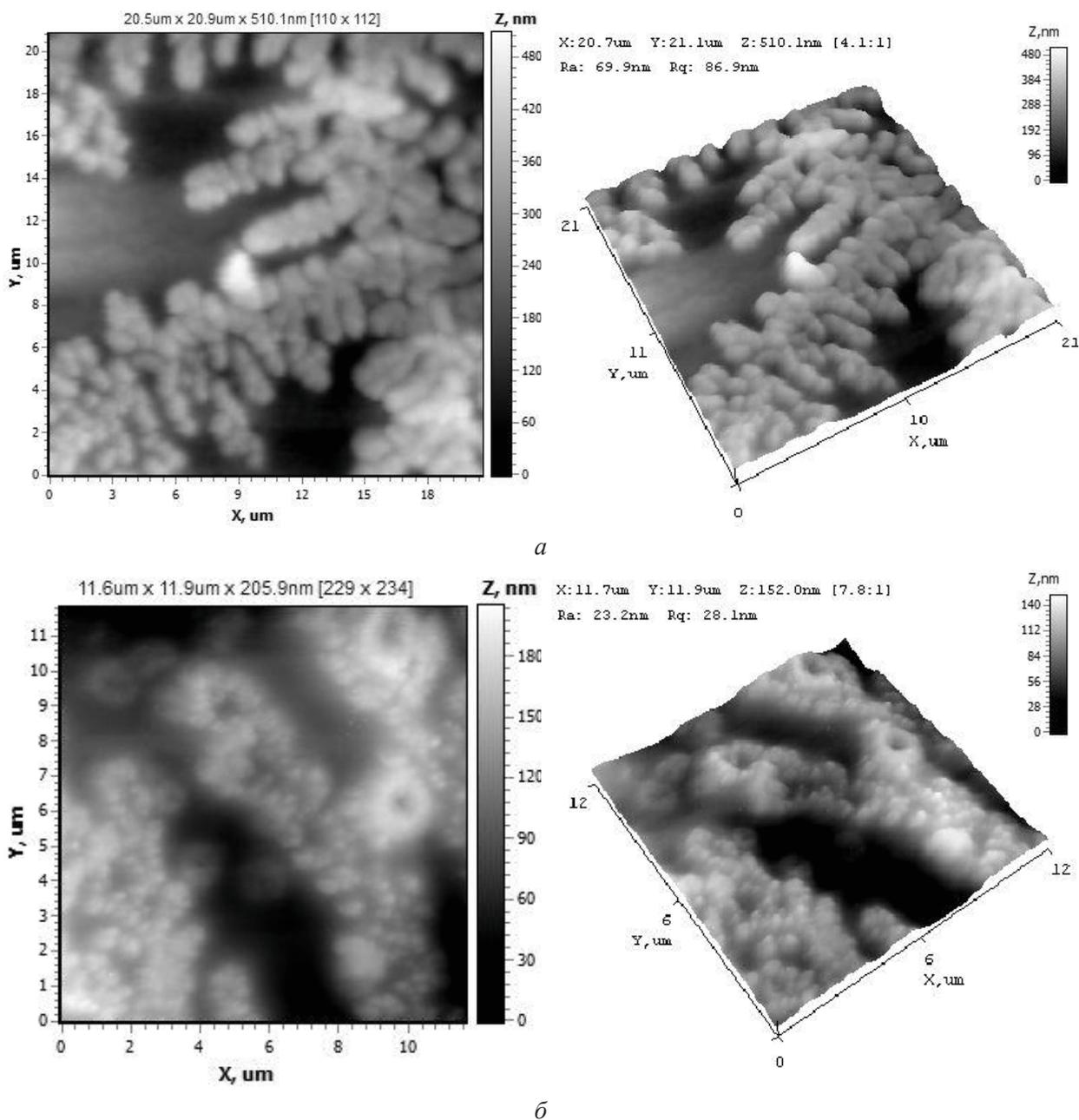


Рис. 5. Морфологические изменения при действии супралетальных концентраций наночастиц окисленного графена в течение 30 мин:

a – *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; *б* – *Escherichia coli* ATCC 25922

Fig. 5. Morphological changes under the action of supra-lethal concentrations of oxidized graphene nanoparticles for 30 min:

a – *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; *б* – *Escherichia coli* ATCC 25922

Несмотря на сохраняемую различимую изолированность отдельных бактериальных клеток, межклеточное пространство было уменьшено, контуры сканируемых объектов теряли свою пространственную контрастность, были очевидны изменения поверхности клеток (заметна шероховатость), отмечен частичный выход цитоплазмы за пределы бактериальных клеток (см. рис. 6).

При увеличении экспозиции наночастиц окисленного графена до 90 мин морфологическая деструкция отмечена не только на уровне отдельных клеток, но и на всей микробной популяции. В частности, контуры клеток становились практически неразличимыми, практически все межклеточное пространство было заполнено биомассой деструктурированных клеток, высота контуров бактерий резко снижена по сравнению с контролем, контраст между максимальными и минимальными точками сканируемой поверхности был резко снижен (см. рис. 7).

Следует отметить, что морфологическая деградация и последующая деструкция бактерий отмечены только при действии наночастиц окисленного графена в концентрациях $75 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$ и выше. В данном случае можно утверждать, что цитотоксическая концентрация этого наноматериала для основных типов бактерий лежит в диапазоне около представленного значения, однако более точное ее выяснение не являлось целью настоящего исследования, поскольку она не тождественна понятию бактериостатической или бактерицидной концентрации, так как последние, как правило, определяются культуральными методами исследования.

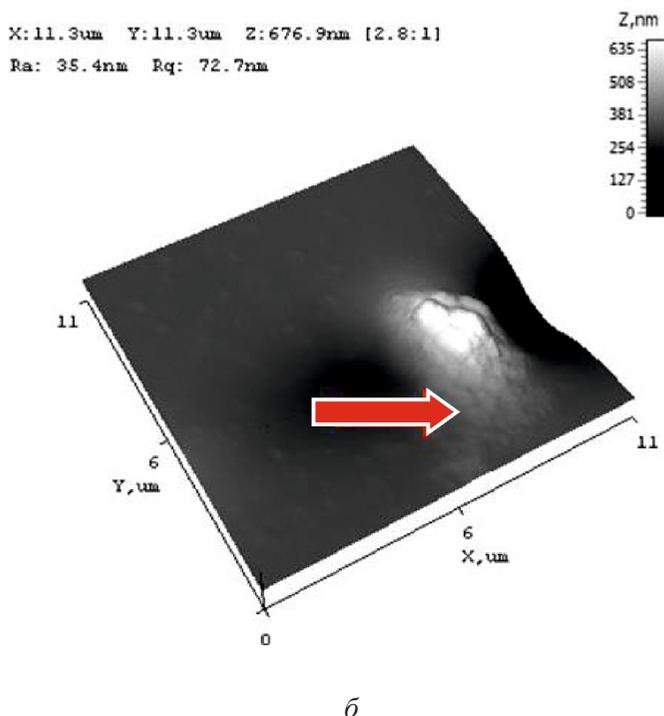
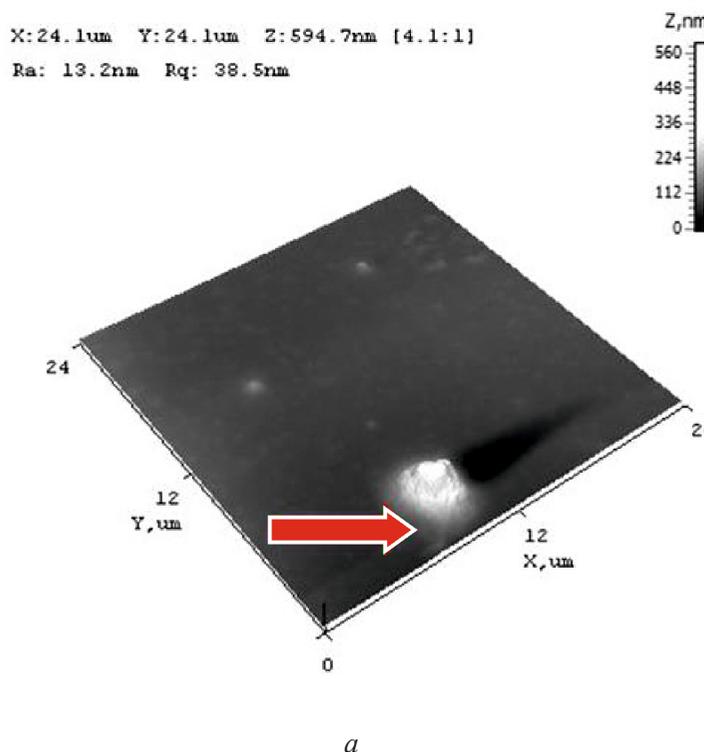


Рис. 6. Деградация морфологии бактериальных клеток при действии супралетальных концентраций наночастиц окисленного графена в течение 30 мин:

а – *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *б* – *Escherichia coli* ATCC 25922), частичный выход цитоплазмы (отмечены стрелкой)

Fig. 6. Degradation of bacterial cell morphology when exposed to supra-lethal concentrations of oxidized graphene nanoparticles for 30 min:

а – *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *б* – *Escherichia coli* ATCC 25922, partial exit of the cytoplasm (marked with an arrow)

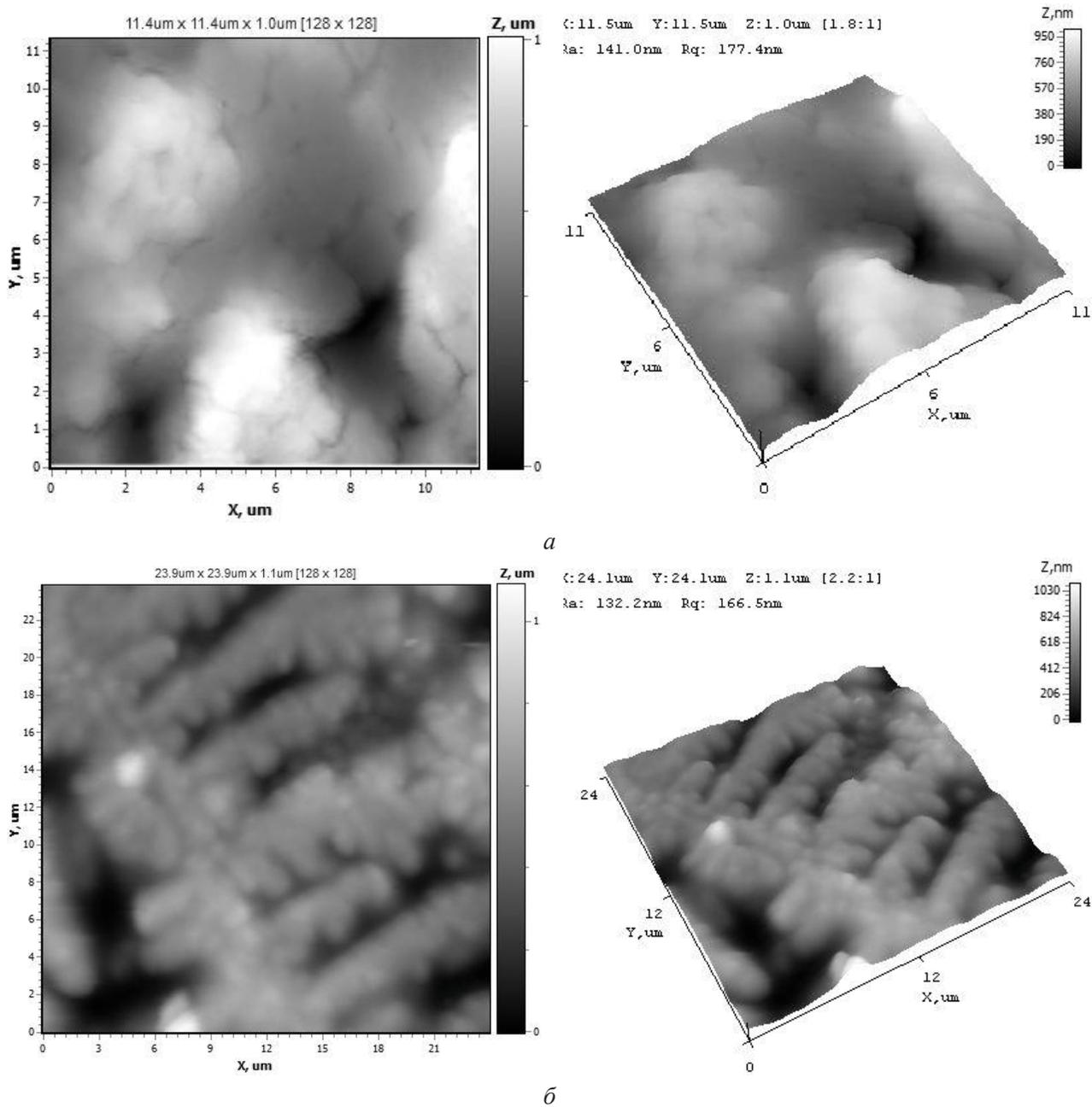


Рис. 7. Морфологическая деградация бактериальных клеток при действии супралетальных концентраций наночастиц окисленного графена в течение 90 мин:

a – *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; *б* – *Escherichia coli* ATCC 25922

Fig. 7. Morphological degradation of bacterial cells under the action of supra-lethal concentrations of oxidized graphene nanoparticles for 90 min:

a – *Staphylococcus aureus* ATCC 6538; *б* – *Escherichia coli* ATCC 25922

ВЫВОДЫ

1. Наночастицы окисленного графена имеют антибактериальные свойства, которые проявляются очевидными цитотоксическими эффектами в отношении прокариотических клеток.

2. При действии токсических концентраций наночастиц окисленного графена на

отдельные грамположительные бактерии (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538) отмечена тинкториальная трансверсия с изменением их грампринадлежности, что указывает на возможное токсическое действие на структуру или состав бактериальной клеточной стенки.

3. Действие токсических концентраций наночастиц окисленного графена в течение

30 мин на основные типы бактерий (кокки, палочки) сопровождается морфологической деградацией клеток.

4. Увеличение экспозиции токсических концентраций наночастиц окисленного графена до 90 мин приводит к полной морфологической деструкции бактериальных клеток и распаду композиции бактериальной популяции.

5. Цитотоксическая концентрация наночастиц окисленного графена лежит в значении более $75 \text{ мкг} \cdot \text{мл}^{-1}$ по результатам микрокопии образцов тестовых культур, однако бактериоингибирующая концентрация требует дальнейшего определения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Beddoes C.M., Casec C. Patrick, Briscoe Wuge H. Understanding nanoparticle cellular entry: A physicochemical perspective // *Advances in Colloid and Interface Science*. 2015. Vol. 218. P. 48–68.
2. Wang, L., Hu C., Shao L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future // *International Journal of Nanomedicine*. 2017. Vol. 12. P. 1227–1249.
3. Kaweeteerawat C., Ivask A., Liu R., Zhang H., Chang C.H., Low-Kam C., Fischer H., Ji Z., Pokhrel S., Cohen Y., Telesca D., Zink J., Madler L., Holden P.A., Nel A., Godwin H. Toxicity of metal oxide nanoparticles in *Escherichia coli* correlates with conduction band and hydration energies // *Environmental Science Technology*. 2015. Vol. 49. P. 1105–1112.
4. Li Y., Zhang W., Niu J., Chen Y. Mechanism of photogenerated reactive oxygen species and correlation with the antibacterial properties of engineered metal-oxide nanoparticles // *ACS Nano*. 2012. Vol. 6. P. 5164–5173.
5. Xiu Z., Zhang Q., Puppala H.L., Colvin V.L., Alvarez P. J.J Negligible particlespecific antibacterial activity of silver nanoparticles // *Nano Letters*. 2012. Vol. 12. P. 4271–4275.
6. Красочко П.А., Корочкин Р.Б., Понаськов М.А. Определение минимальной ингибирующей и бактерицидной концентрации нано- и коллоидных частиц серебра // *Ветеринарный журнал Беларуси*. 2019. № 2 (11). С. 46–50.
7. Красочко П.А., Лещенко В.Г., Мансуров В.А., Красочко И.А., Корочкин Р.Б., Понаськов М.А.

Сравнительная оценка антибактериальной активности антибиотиков и наночастиц диффузионным методом // *Ветеринарный журнал Беларуси*. 2019. № 1 (12). С. 51–56.

8. Корочкин Р.Б., Красочко П.А., Гвоздев С.Н., Понаськов М.А. Сравнительная оценка биопленкоингибирующей активности наночастиц металлов и биоэлементов // *Ветеринарный журнал Беларуси*. 2020. № 2. С. 29–35.
9. Ranishenka B., Ulashchik E., Tatulchenkov M., Sharko O., Dremova N., Panarin A., Shmanai V. Graphene oxide functionalization via epoxide ring opening in bioconjugation compatible conditions // *FlatChem*. 2021. Vol. 27. P. 100235.
10. Valentini F. Functionalized Graphene Derivatives: Antibacterial Properties and Cytotoxicity // *Journal of Nanomaterials*. 2019. Vol. 2019. P. 14.
11. Humann J., Lenz Laurel L. Bacterial Peptidoglycan-Degrading Enzymes and Their Impact on Host Muropeptide Detection // *Journal of Innate Immunity*. 2009. Vol. 1. P. 88–97.

REFERENCES

1. Beddoes C.M., Casec C. Patrick, Briscoe Wuge H. Understanding nanoparticle cellular entry: A physicochemical perspective. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2015, vol. 218, pp. 48–68.
2. Wang, L., Hu C., Shao L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *International Journal of Nanomedicine*, 2017, vol. 12, pp. 1227–1249.
3. Kaweeteerawat C., Ivask A., Liu R., Zhang H., Chang C.H., Low-Kam C., Fischer H., Ji Z., Pokhrel S., Cohen Y., Telesca D., Zink J., Madler L., Holden P.A., Nel A., Godwin H. Toxicity of metal oxide nanoparticles in *Escherichia coli* correlates with conduction band and hydration energies. *Environmental Science Technology*, 2015, vol. 49, pp. 1105–1112.
4. Li Y., Zhang W., Niu J., Chen Y. Mechanism of photogenerated reactive oxygen species and correlation with the antibacterial properties of engineered metal-oxide nanoparticles. *ACS Nano*, 2012, vol. 6, pp. 5164–5173.
5. Xiu Z., Zhang Q., Puppala H.L., Colvin V.L., Alvarez P. J.J Negligible particlespecific antibacterial activity of silver nanoparticles. *Nano Letters*, 2012, vol. 12, pp. 4271–4275.

6. Krasochko P.A., Korochkin R.B., Ponas'kov M.A. Determination of minimum inhibitory and bactericidal concentration of nano- and colloidal silver particles. *Veterinarnyi zhurnal Belarusi = Veterinary Journal of Belarus*, 2019, no. 2 (11), pp. 46–50. (In Russian).
7. Krasochko P.A., Leshchenko V.G., Mansurov V.A., Krasochko I.A., Korochkin R.B., Ponas'kov M.A. Comparative evaluation of antibacterial activity of antibiotics and nanoparticles by diffusion method. *Veterinarnyi zhurnal Belarusi = Veterinary Journal of Belarus*, 2019, no. 1 (12), pp. 51–56. (In Russian).
8. Korochkin R.B., Krasochko P.A., Gvozdev S.N., Ponas'kov M.A. Comparative assessment of biofilm inhibitory activity of metal nanoparticles and bioelements. *Veterinarnyi zhurnal Belarusi = Veterinary Journal of Belarus*, 2020, no. 2, pp. 29–35. (In Russian).
9. Ranishenka B., Ulashchik E., Tatulchenkov M., Sharko O., Dremova N., Panarin A., Shmanai V. Graphene oxide functionalization via epoxide ring opening in bioconjugation compatible conditions. *FlatChem*, 2021, vol. 27, pp. 100235.
10. Valentini F. Functionalized Graphene Derivatives: Antibacterial Properties and Cytotoxicity. *Journal of Nanomaterials*, 2019, vol. 2019, pp. 14.
11. Humann J., Lenz Laurel L. Bacterial Peptidoglycan-Degrading Enzymes and Their Impact on Host Muropeptide Detection. *Journal of Innate Immunity*, 2009, vol. 1, pp. 88–97.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

✉ **Красочко П.А.**, доктор ветеринарных наук, доктор биологических наук, профессор, заведующий; **адрес для переписки:** 210026, Республика Беларусь, Витебск, ул. 1-я Доватора, 7/11; e-mail: krasochko@mail.ru

Корочкин Р.Б., кандидат ветеринарных наук, доцент

Понаськов М.А., магистр ветеринарных наук, ассистент

Ронищенко Б.В., магистр химических наук, научный работник

Шманай В.В., кандидат химических наук, заведующий лабораторией

AUTHOR INFORMATION

✉ **Petr A. Krasochko**, Doctor of Science in Veterinary Medicine, Doctor of Science in Biology, Professor, Head of Department; **address:** 7/11, 1st Dovatora St., Vitebsk, 210026, Republic of Belarus; e-mail: krasochko@mail.ru

Rudolf B. Korochkin, Candidate of Science in Veterinary Medicine, Associate Professor

Mikhail A. Ponaskov, Master of Veterinary Sciences, Assistant

Bahdan V. Ronishenko, Master of Chemistry Sciences, Researcher

Vadim V. Shmanai, Candidate of Science in Chemistry, Head of Laboratory

Дата поступления статьи / Received by the editors 18.01.2022

Дата принятия к публикации / Accepted for publication 25.03.2022

Дата публикации / Published 25.07.2022