

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

ИССЛЕДОВАНИЕ МИКРОБИОЦЕНОЗА КИШЕЧНИКА КРЫС В ОТВЕТ НА ВВЕДЕНИЕ В ИХ РАЦИОН НАНОЧАСТИЦ МЕДИ И ЦИНКА

Е.С. Алешина¹, Е.А. Дроздова¹, Е.И. Тарасова¹, И.А. Гавриш^{1,2}

¹ Оренбургский государственный университет, г. Оренбург, Россия

² Федеральный научный центр Биологических систем и агротехнологий РАН, г. Оренбург, Россия

РЕЗЮМЕ. В настоящее время для восполнения дисбаланса микроэлементов в организме предлагается вариант использования препаратов на основе нанопорошков металлов. Целью настоящей работы явилось исследование влияния наночастиц меди и цинка, применяемых в качестве источника микроэлементов, на микрофлору кишечника крыс. Все использованные наночастицы имели сферическую форму. Суспензии наночастиц металлов вводились однократно путем добавления в корм, концентрация NPsCu составляла 0,51 мг/мл, NPsZn – 0,43 мг/мл. На всем протяжении эксперимента зафиксировано резкое снижение представителей семейств *Bifidobacteriaceae* и *Lactobacillaceae*. Вначале под воздействием наночастиц происходит активное развитие условно-патогенной микрофлоры и на фоне снижения иммунных сил макроорганизма начинают свое развитие представители семейства *Staphylococcaceae*. Однако уже на 14-е сутки происходит адаптация организма животного к внесенным элементам, и попытка восстановления нормальной микрофлоры кишечника, которая отражается в предупреждении избыточного роста патогенной микрофлоры. Таким образом, наночастицы меди и цинка даже в низких концентрациях приводят к изменению структуры микробного сообщества, стимулируя размножение отдельных групп микроорганизмов и подавляя нормофлору кишечника.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: наночастицы, медь, цинк, микрофлора кишечника, эссенциальные микроэлементы.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время все большее распространение получают различные пищевые добавки, позволяющие сбалансировать микроэлементный состав рациона питания (Сердюк и др., 2010). Среди эссенциальных микроэлементов особое место в жизни человека занимают, например, медь и цинк.

Цинк присутствует во всех клетках организма и участвует в различных метаболических процессах в составе активных центров более 200 ферментов (Скальный, 2001). Медь принимает активное участие в процессах антиоксидантной защиты и прооксидантной активности, формировании структуры супероксиддисмутазы (Klotz et al., 2003). Ввиду неоспоримой биологической роли меди и цинка в организме продолжается поиск наиболее эффективных источников этих элементов для восполнения их дисбаланса (Prasad et al., 2003). Например, предлагается ис-

пользовать препараты на основе нанопорошков металлов (Badru et al., 2006) в связи с их уникальной формой введения в организм, пролонгированным действием и высокой биологической активностью (Вишняков и др., 2011).

Однако специфические особенности наноматериалов, в том числе наночастиц металлов, могут оказывать и неблагоприятное воздействие (Богословская и др., 2009), способствующее развитию патологического процесса, что в первую очередь отразится на нормальной микрофлоре кишечника (Глушенко и др., 2002). Микрофлора желудочно-кишечного тракта необходима для полноценной жизнедеятельности макроорганизма (Макаров и др., 2003), так как его онто- и филогенетическое развитие происходит в тесном взаимодействии с биоценозом микроорганизмов и при нормальном физиологическом состоянии взаимоотношения макроорганизма и микрофлоры.

* Адрес для переписки:

Алешина Елена Сергеевна

E-mail : esaleshina@mail.ru

ры носят синергетический характер, и микрофлора при этом выполняет ряд весьма существенных функций макроорганизма.

Так, нормальная микрофлора подавляет патогенные микроорганизмы и предупреждает инфицирование макроорганизма (Авцын и др., 1991), отвечает за поддержание гомеостаза, то есть постоянство внутренней среды организма, ее физиологических, биохимических и других процессов, протекающих в организме, недопущение проникновения патогенных факультативно-транзиторных микроорганизмов в желудочно-кишечный тракт макроорганизма, тем самым создавая барьер для развития эндогенных бактериальных инфекций. Нарушение нормальной микрофлоры нередко влечет за собой осложнения, вызываемые бурным размножением в кишечнике дрожжей, стафилококка (Chen et al., 1977), протей и других микроорганизмов.

Ц е л ь р а б о т ы – исследование влияния наночастиц меди и цинка, применяемых в качестве источника микроэлемента, на микрофлору кишечника крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использованные наночастицы металлов (NPs) получены методом высокотемпературной конденсации с последующей модификацией кислородом на установке «МиГен» (ИНЭПХФ РАН, Россия). Данные наночастицы оценивали с помощью электронного микроскопа JSM-740 IF (JEOL, Япония).

Морфометрические характеристики наночастиц определяли методом атомно-силовой микроскопии в контактном режиме с использованием мультимикроскопа SMM-2000 (ОАО ПРОТОН-МИЭТ, Россия). Результаты данных исследований представлены в табл. 1.

Таблица 1. Характеристика использованных наночастиц металлов

Наночастицы металлов	Средний размер, нм	Форма частиц	Состав
NPsCu	50–100	Сферическая с огранкой	Cu (90%), CuO (9%), сорбированные газы* (1%)
NPsZn	150–200	Сферическая	Zn (98%), ZnO (1%), сорбированные газы* (1%)

П р и м е ч а н и е : * – сорбированные газы – CH₄, CO₂, Ar, N₂.

В связи с тем, что при помещении наночастиц металлов в водную фазу происходит образование крупных конгломератов, предварительно было проведено их трехкратное диспергирование в изотоническом растворе на ультразвуковом диспергаторе УЗДН-2Т (ОАО SELMI, Украина) в течение 1 мин с перерывом 3 мин.

Исследование микробиоценоза толстого кишечника осуществляли на крысах-самцах линии Wistar в соответствии с «Правилами проведения работ и использования экспериментальных животных» (приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 г). Масса животных в среднем составляла от 180 до 200 г. Животных содержали в лабораторных условиях при искусственном освещении (12-часовой световой день) на стандартном рационе ПК-120 (ООО «Лабораторкорм», Москва). Животные также имели неограниченный доступ к чистой бутилированной воде.

Суспензии наночастиц металлов вводили однократно путем добавления в корм, в концентрации, соответствующей необходимой суточной

дозе определенного элемента для человека с пересчетом на массу животного. Таким образом, концентрация NPsCu составляла 0,51 мг/мл, NPsZn – 0,43 мг/мл. В соответствии с вводимыми наночастицами все лабораторные животные были распределены на три группы ($n=6$). Первым двум группам крыс в рацион вводили наночастицы металлов, контрольную группу составляли интактные животные.

Экспериментальное исследование микрофлоры толстого кишечника крыс выполняли на 7-е и 14-е сутки после перорального введения наночастиц металлов. Материалом для бактериологического исследования служили фекалии крыс. Пробу для исследования брали из средней или последней порции фекалий. Сбор фекалий производили в стерильную, герметически закрывающуюся посуду стерильным шпателем. Время от момента взятия материала до его обработки в лаборатории не превышало 5 ч. В промежутке между взятием пробы и посевом материал хранили при температуре +4 °C.

Отобранную навеску фекалий взвешивали, вносили в стерильный физиологический раствор (ОАО «Фирма Медполимер», Россия) и встряхивали до получения гомогенной взвеси. Содержимое тщательно перемешивали стеклянной палочкой и оставляли при комнатной температуре на 10–15 мин. Далее готовили десятикратные разведения, из которых проводили дозированные посевы на питательные среды для культивирования различных групп микроорганизмов.

Для определения общего числа аэробных микроорганизмов производили посев на мясопептонный агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия), бактерии семейства *Enterobacteriaceae* исследовали на дифференциально-диагностической среде ЭНДО (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия), селективную среду висмут-сульфит агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия) применяли для определения бактерий рода *Salmonella*. Лецитиназопозитивных бактерий, относящихся к семейству *Staphylococcaceae*, дифференцировали на желточно-солевом агаре (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия). Для определения численности грибов применяли среду Чапека–Докса (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия). При высевах данных микроорганизмов использовали метод поверхностного посева. Для идентификации бактерий, относящихся к семейству *Lactobacillaceae*, производили высева на Рогоза агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия), используя метод глубинного посева. Бактерии семейства *Bifidobacteriaceae* выращивали в питательной среде Бифидум (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск, Россия), разлитой высокими столбиками в пробирки.

После инкубации при 37 °С в течение 48 ч в аэробных условиях и в условиях анаэробноза в течение 72 ч производили учет выросших микроорганизмов путем подсчета количества колониеобразующих единиц (КОЕ) на поверхности пластинчатого агара и в глубине высокого столбика. Количество микроорганизмов, содержащихся в 1 г фекалий (M), определяли по формуле

$$M = N \times 10^{n+1},$$

где N – число колоний, выросших на поверхности пластинчатого агара и в глубине высокого столбика; n – степень разведения материала.

Выделенные культуры микроорганизмов идентифицировали по характерным культуральным свойствам на агаровых средах, по наличию характерных клеток в мазках, окрашенных по Граму. Окончательный результат количествен-

ного содержания бактерий в грамме фекалий выражали как lg КОЕ/г.

Полученные результаты анализировали с использованием непараметрической статистики по критерию Манна–Уитни (программа Statistica 6.0 для Windows). В описательной статистике для каждого показателя определяли значение Me , 25 и 75 квартилей. Статистически значимыми считали различия между контрольной и опытной группами при значениях $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ бактериологического исследования микрофлоры толстого кишечника животных, в рацион которых были внесены наночастицы металлов, выявил наличие выраженных изменений со стороны как аэробного, так и анаэробного компонентов кишечного биоценоза по сравнению с наблюдаемыми в контрольной группе животными.

На 7-е сутки после введения наночастиц металлов в толстом кишечнике исследуемых животных происходит достоверное ($p < 0,01$) возрастание общего числа аэробных микроорганизмов, значительно превышающего контрольные значения. При воздействии NPsCu десятичный логарифм общего числа аэробных микроорганизмов в 1 г содержимого толстого кишечника увеличивается до $8,12 \pm 0,2$, а при внесении в корм NPsZn – до $8,20 \pm 0,2$ в сравнении с контрольным значением, равным $6,74 \pm 0,1$ (табл. 2).

В результате более длительного времени нахождения наночастиц металлов в организме на 14-е сутки эксперимента происходит угнетение общего числа микроорганизмов, содержащихся в кишечнике животных опытной группы. Так, зафиксировано снижение численности микроорганизмов в толстом кишечнике крыс при внесении в их рацион NPsCu на 62% ($p < 0,05$), NPsZn на 43% ($p < 0,05$) по сравнению с данным параметром, рассчитанным на 7-е сутки эксперимента. Однако данные значения не возвращаются к исходной численности микроорганизмов, зафиксированной в контроле (рис. 1). Такие изменения могут быть объяснены тем, что наночастицы меди и цинка обладают высокой биологической доступностью и пролонгированным действием, что приводит к незначительным изменениям в микрофлоре кишечника и, возможно, для адаптации организма животного и восстановления его нормальной кишечной микрофлоры необходим более длительный период времени.

Таблица 2. Изменения просветной микрофлоры толстого кишечника
под влиянием наночастиц металлов

Использованные наночастицы металлов	Группы микроорганизмов, lg КОЕ/г								
	Время, сутки	Общее число аэробных микроорганизмов	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Staphylococcaceae</i>	Грибы	<i>Bifidobacteriaceae</i>	<i>Lactobacillaceae</i>
Контроль	7	6,74 (6,69–6,80)	6,63 (6,60–6,69)	5,47 (5,45–5,50)	5,00 (4,95–5,05)	–	5,47 (5,42–5,50)	8,55 (8,45–8,63)	7,14 (7,00–7,20)
	14	6,77 (6,70–6,81)	6,67 (6,62–6,70)	5,47 (5,45–5,50)	5,30 (5,25–5,35)	–	5,60 (5,58–5,62)	8,56 (8,46–8,64)	7,08 (6,95–7,15)
NPs Cu	7	8,12*** (8,00–8,20)	5,47*** (5,43–5,5)	5,00 (4,98–5,05)	–	6,69*** (6,62–6,71)	–	7,72*** (7,62–7,80)	6,95** (6,85–7,00)
	14	7,70** (6,60–7,75)	6,38** (6,32–6,40)	5,60* (5,58–5,64)	–	5,60 (5,58–5,62)	–	6,88*** (6,76–6,95)	6,76*** (6,65–6,81)
NPs Zn	7	8,20*** (8,11–8,25)	5,47*** (5,42–5,50)	5,00 (4,98–5,05)	5,00 (4,98–5,05)	6,92*** (6,90–7,00)	–	7,69*** (7,58–7,75)	6,63*** (6,53–6,71)
	14	7,96** (7,85–8,10)	6,04*** (5,98–6,10)	5,69* (5,62–5,71)	–	5,90* (5,87–5,93)	–	6,60*** (6,52–6,69)	5,77*** (5,68–5,81)

П р и м е ч а н и е : * – достоверные различия ($p < 0,1$) с контрольной группой; ** – достоверные различия ($p < 0,05$) с контрольной группой; *** – достоверные различия ($p < 0,01$) с контрольной группой.

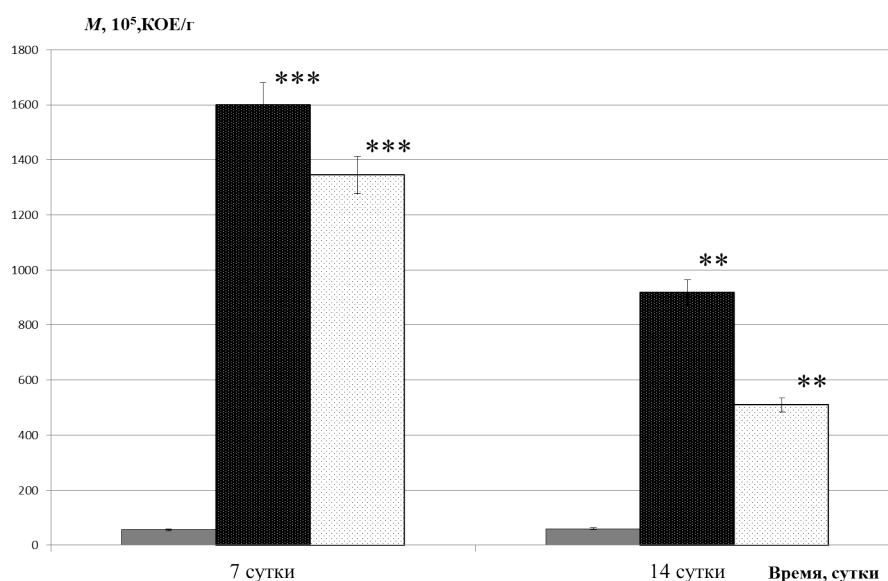


Рис. 1. Общая численность аэробных микроорганизмов, населяющих кишечник крыс до (■) и после введения в их рацион NPsCu (■), NPsZn (□):

** – достоверные различия ($p < 0,05$) с контрольной группой;
*** – достоверные различия ($p < 0,01$) с контрольной группой

Сравнительный анализ микробиоты кишечника на уровне семейств позволил выявить определенные различия в контрольной и опытных группах. Так, однократное внесение наночастиц металлов в рацион крыс привело к значительному снижению численности бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, на 7-е сутки эксперимента их число составило всего 7% ($p < 0,01$) от контрольных значений, на 14-е сутки начинает происходить постепенное восстановление микробио-

ценоза кишечника крыс, и рассчитанные значения достоверно ($p < 0,01$) возрастают, составляя 51 и 23% от контрольных значений в случае с NPsCu и NPsZn соответственно. В отношении NPsZn происходит заметное увеличение условно-патогенной микрофлоры кишечника, что видно при расчете показателей для бактерий *Escherichia coli*. Так, на 14-е сутки их численность возрастает на 66% ($p < 0,1$) в сравнении с контрольным значением (рис. 2).

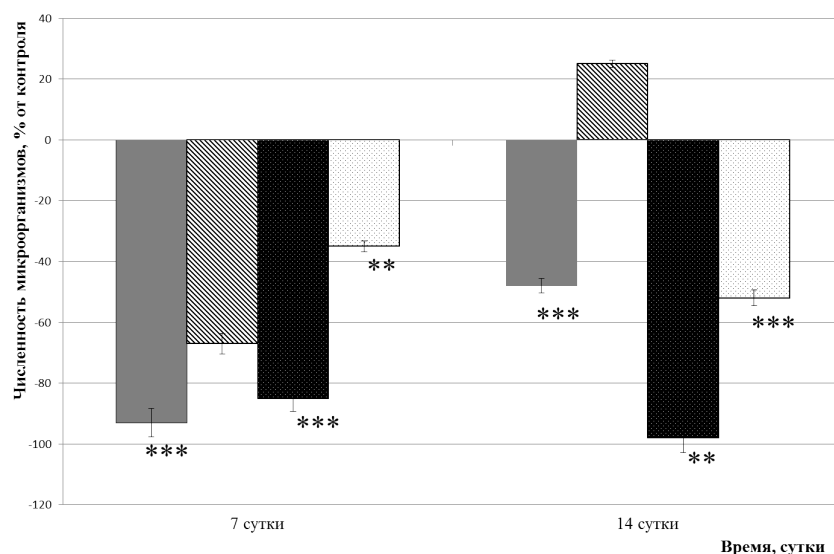


Рис. 2. Изменение в численности представителей различных семейств микроорганизмов, населяющих микробиоценоз кишечника крыс, при внесении в корм NPsCu:

■ – бактерии семейства Enterobacteriaceae; ▨ – *Escherichia coli*; ■ – бактерии семейства Bifidobacteriaceae; ▤ – бактерии семейства Lactobacillaceae;
 ** – достоверные различия ($p < 0,05$) с контрольной группой;
 *** – достоверные различия ($p < 0,01$) с контрольной группой

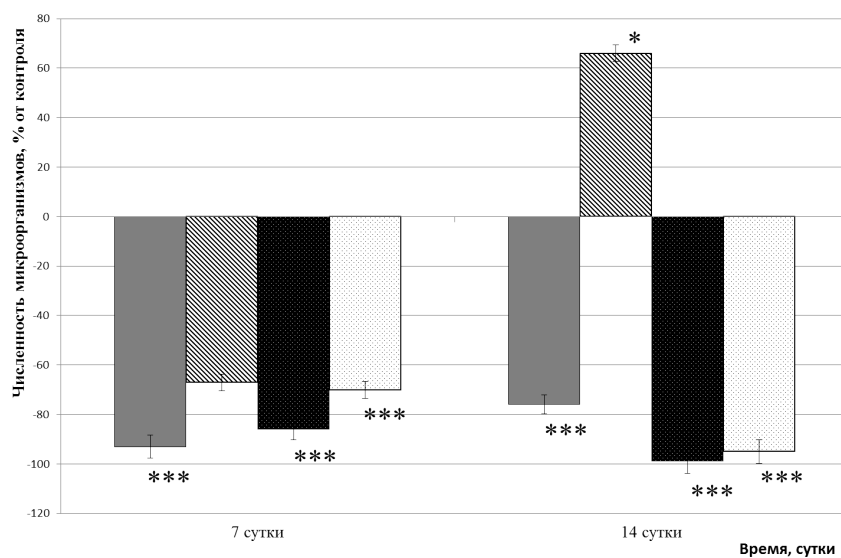


Рис. 3. Изменение в численности представителей различных семейств микроорганизмов, населяющих микробиоценоз кишечника крыс, при внесении в корм NPsZn:

■ – бактерии семейства Enterobacteriaceae; ▨ – *Escherichia coli*; ■ – бактерии семейства Bifidobacteriaceae; ▤ – бактерии семейства Lactobacillaceae
 * – достоверные различия ($p < 0,1$) с контрольной группой;
 *** – достоверные различия ($p < 0,01$) с контрольной группой

К 14-м суткам трансформация микробиоценоза сводится к достоверному ($p < 0,1$) сокращению численности патогенных бактерий семейства *Staphylococcaceae* в группе с NPsCu на 78%, с NPsZn на 90% в сравнении с их количеством, подсчитанным на 7-е сутки исследования. При этом в случае с применением NPsZn фиксируется численность бактерий рода *Salmonella*, соответствующая контрольным значениям. В других опытных группах рост сальмонелл, а также грибов полностью подавляется.

Наночастицы цинка и меди оказывают негативное воздействие на представителей нормальной микрофлоры кишечника, которая имеет тенденцию к увеличению по мере накопления микроэлемента в организме животного. Так, на 7-е сутки как для NPsCu, так и для NPsZn зафиксировано достоверное ($p < 0,01$) сокращение численности бактерий семейства *Bifidobacteriaceae* на 85%, а на 14-е сутки – на 98% от контрольного значения. Значительное воздействие оказывают внесенные в корм NPsZn и на молочнокислые бактерии. На 7-е сутки их количество падает на 70% ($p < 0,01$) от контрольного значения, на 14-е сутки – на 95%, ($p < 0,01$), тогда как при воздействии NPsCu зафиксировано не столь явное сокращение числа бактерий семейства *Lactobacillaceae*, и по сравнению с контрольными значениями изменение показателя КОЕ составляет 35% на 7-е сутки, и 52% – на 14-е сутки (рис. 3).

Увеличение численности аэробной микрофлоры толстого кишечника крыс на фоне попадания в их организм наночастиц металлов свидетельствует об ослаблении активности эндогенного анаэробного компонента нормофлоры и активного развития условно-патогенных микроорганизмов.

Разница во влиянии NPsCu и NPsZn на макроорганизм в общем и на микробиоценоз кишечника крыс в частности объясняется их химическими особенностями. Так, медь и цинк являются «химическими близнецами» и их способность к образованию ионных и ковалентных связей выражается одними и теми же числами, но цинк всегда двухвалентен, а медь легко меняет свои возможные состояния от Cu^+ до Cu^{2+} (Samman et al., 1987). Таким образом, медь имеет более низкий окислительно-восстановительный потенциал, и данная способность может нанести вред организму, медь образует слишком прочные связи с атомами серы, входящими в состав белков (в

частности, альбумина), с SH-группой аминокислоты цистеина и других молекул (Strickland et al., 1972). Во многих биохимических процессах медь также является антагонистом цинка, так как они синергисты разных простагландинов, имеющих противоположную направленность функционального действия.

ВЫВОДЫ

Результаты настоящего исследования подтверждают данные о том, что поступающие в организм наночастицы влияют на устоявшиеся микробные сообщества и ведут к планомерному изменению количественных характеристик микробиоценоза кишечника (Baek et al., 2012), что в свою очередь оказывает влияние на общее состояние живого организма (Сизова и др., 2012).

Установлено, что внесение наночастиц металлов в корм животных приводит к трансформации микрофлоры кишечника. Так, наночастицы металлов оказывают губительное воздействие на нормофлору кишечника. На всем протяжении эксперимента зафиксировано резкое снижение представителей семейств *Bifidobacteriaceae* и *Lactobacillaceae*. В то же время под воздействием наночастиц активно развивается условно-патогенная микрофлора, и на фоне снижения иммунных сил макроорганизма начинают свое развитие представители семейства *Staphylococcaceae*, что согласуется с данными о том, что в условиях пониженной резистентности макроорганизма определенные виды условно-патогенных микроорганизмов, достигшие популяционного уровня (10^5 – 10^6 КОЕ/мл), формируют ассоциации, объединенные в бактериальные биопленки, способные инициировать инфекционный процесс (Сизова и др., 2010).

Однако в процессе исследования на 14-е сутки происходит постепенная адаптация организма животного к внесенным элементам. Зафиксирована попытка восстановления нормальной микрофлоры кишечника, которая отражается в предупреждении избыточного роста патогенной микрофлоры (Johnson et al., 1988).

Наблюдается угнетение роста бактерий семейства *Staphylococcaceae*, а также условно-патогенных представителей семейства *Enterobacteriaceae*, таких как *E. coli* и *Salmonella*. Однако этого времени оказывается недостаточно для полного восстановления нормальной микрофлоры кишечника.

Исследования выполнены в рамках базовой части государственного задания № 6.6811.2017/БЧ.

ЛИТЕРАТУРА

- Авцын А.П., Жаворонков А.А., Риш М.А., Строчкова Л.С. Микроэлементозы человека: этиология, классификация, органопатология. М.: Медицина, 1991. 496 с.
- Богословская О.А., Сизова Е.А., Полякова В.С., Мирошников С.А., Лейпунский И.О., Ольховская И.П., Глущенко Н.Н. Изучение безопасности введения наночастиц меди с различными физико-химическими характеристиками в организм животных. Вестник Оренбургского государственного университета. 2009. № 2.С. 124–127.
- Вишняков А.И., Ушаков А.С., Лебедев С.В. Особенности костномозгового кровообращения при введении наночастиц меди *per os* и *intramuscularly*. Вестник мясного скотоводства. 2011. Т. 2. № 64. С. 96–102
- Глущенко Н.Н., Богословская О.А., Ольховская И.П. Физико-химические закономерности биологического действия высокодисперсных порошков металлов. Химическая физика. 2002. Т. 21(4). С. 79–85.
- Макаров П.П., Доценко В.А. Обогащенные продукты – основа улучшения качества питания населения. Вестник Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова. 2003. № 3. С. 101–104.
- Сердюк А.М., Гуліч М.П., Каплуненко В.Г., Косінов М.В. Нанотехнологии микронутриентов: проблемы, перспективы и пути ликвидации дефицита макро- и микроэлементов. Журнал академии медицинских наук Украины. 2010. № 1. С. 107–114.
- Сизова Е.А., Лебедев С.В., Полякова В.С., Глущенко Н.Н. Структурно-функциональная реорганизация селезенки крыс при внутримышечном введении наночастиц меди типа Cu10x. Вестник Оренбургского государственного университета. 2010. № 2. С. 129–133.
- Сизова Е.А., Мирошников С.А., Лебедев С.В., Глущенко Н.Н. Влияние многократного введения наночастиц меди на элементный состав печени крыс. Вестник Оренбургского государственного университета. 2012. № 6. С. 1–3.
- Скальный А.В. Микроэлементозы человека (диагностика и лечение). Изд-е 2-е. М.: Изд-во КМК, 2001. 96 с.
- Badru A.A., Kukoyi B.I., Ukponmwan O.E. Some effects of zinc on maternal and fetal integrity in pregnancy. Nigerian Journal of Physiological Sciences. 2006, 21(1-2): 91–97.
- Back M., Chung H.E., Yu J. et al. Pharmacokinetics, tissue distribution, and excretion of zinc oxidenanoparticles. Int. J. Nanomedicine. 2012, 7:3081–3097.
- Chen R.W., Vasey E.J., Whanger P.D. Accumulation and depletion of zinc in rat liver and kidney metallothioneins. J. Nutr. 1977, 107(5):805–813.
- Johnson M.A., Murphy C.L. Adverse effects of high dietary iron and ascorbic acid on copper status in copper deficient and copper-adequate rats. Am J Clin Nutr. 1988, 47:96–101.
- Klotz L., Kronche K., Buchzyk D. et al. Metabolism of copper. J. Nutr. 2003, 133:1448–1451.
- Prasad A.S. Zinc deficiency. Br. Med. J. 2003, 326:409–410.
- Samman S., Roberts D.C. The effect of zinc supplements on plasma zinc and copper levels and thereported symptoms in healthy volunteers. Med. J. Aust. 1987, 146(5):246–249.
- Strickland G.T., Beckner W.M. Absorption of copper in homozygotes and heterozygotes for Wilson's Disease and controls: Isotope tracer studies with ⁶⁷Cu and ⁶⁴Cu. Clin. Sci. 1972, 43:617–625.

RESEARCH OF RICE MICROBIOCENOSIS OF RATS IN RESPONSE TO INTRODUCTION IN THEIR RATIONAL NANOPARTICLES OF COPPER AND ZINC

E.S. Aleshina¹, E.A. Drozdova¹, E.I. Tarasova¹, I.A. Gavrish^{1,2}

¹ Orenburg State University, Victory ave. 13, Orenburg, 460018, Russia

² Federal Scientific Centre of Biological Systems and Agrotechnologies of Russian Academy of Science, 9 Janvarja str. 29, Orenburg, 460000, Russia

ABSTRACT. At present, to compensate for the imbalance of microelements in the body, a variant of using preparations based on nanopowders of metals is proposed. The purpose of this work was to study the effect of copper and zinc nanoparticles on the intestinal microflora of rats used as a source of a microelement. For the study, spherical nanoparticles were used. NPsCu was 0,51 mg / ml, NPsZn was 0,43 mg / ml. In the course of the study it was found that the introduction of metal nanoparticles into animal feed leads to the transformation of the intestinal microflora. So nanoparticles of metals have a harmful effect on the normoflora of the intestine. Throughout the experimental reduction, a sharp decrease in the representatives of the families *Bifidobacteriaceae* and *Lactobacillaceae*. At the same time, under the influence of nanoparticles, a conditionally pathogenic microflora is actively developing and against the background of a decrease in immune forces.

However, in the process of research on day 14, the animal's organism gradually adapts to the elements introduced. An attempt was made to restore normal intestinal microflora, which is reflected in the prevention of excessive growth of pathogenic microflora. The observed inhibition of growth of bacteria of the family *Staphylococcaceae*, as well as conditionally pathogenic communities of the *Enterobacteriaceae* family, such as *E. coli* and *Salmonella*. However, this is not enough to completely restore the normal intestinal microflora.

The obtained results demonstrate that zinc and copper nanoparticles, even at low concentrations, lead to a change in the structure of the microbial community, stimulating the multiplication of individual groups of microorganisms and suppressing the normoflora of the intestine.

KEYWORDS: copper nanopowder, zinc nanopowder, essential trace elements, microbiota.

REFERENCES

- Avtsyn A.P., Zhavoronkov A.A., Rish M.A., Strochkova L.S. Human microelementoses: etiology, classification, organopathology. Moscow, 1991 (in Russ.).
- Badru A.A., Kukoyi B.I., Ukponmwan O.E. Some effects of zinc on maternal and fetal integrity in pregnancy. *Nigerian Journal of Physiological Sciences*. 2006, 21(1–2): 91–97.
- Baek M., Chung H.E., Yu J. et al. Pharmacokinetics, tissue distribution, and excretion of zinc oxide nanoparticles. *Int. J. Nanomedicine*. 2012, 7:3081–3097.
- Bogoslovskaya O.A., Sizova Ye.A., Polyakova V.S., Miroshnikov S.A., Leypunskiy I.O., Ol'khovskaya I.P., Glushchenko N.N. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2009, 2:124–127 (in Russ.).
- Chen R.W., Vasey E.J., Whanger P.D. Accumulation and depletion of zinc in rat liver and kidney metallothioneins. *J. Nutr.* 1977, 107(5):805–813.
- Vishnyakov A.I., Ushakov A.S., Lebedev S.V. *Vestnik myasnogo skotovodstva*. 2011, 2(64):96–102 (in Russ.).
- Glushchenko N.N., Bogoslovskaya O.A., Ol'khovskaya I.P. *Khimicheskaya fizika*. 2002, 21(4):79–85 (in Russ.).
- Johnson M.A., Murphy C.L. Adverse effects of high dietary iron and ascorbic acid on copper status in copper-deficient and copper-adequate rats // *Am. J. Clin. Nutr.* 1988, 47:96–101.
- Klotz L., Kronche K., Buchzyk D. et al. Metabolism of copper. *J. Nutr.* 2003, 133:1448–1451.
- Makarov P.P., Dotsenko V.A. Obogashchennyye produkty – osnova uluchsheniya kachestva pitaniya naseleniya. *Vestnik Sankt-Peterburgskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii im. I.I. Mechnikova*. 2003, 3:101–104 (in Russ.).
- Prasad A.S. Zinc deficiency. *Br. Med. J.* 2003, 326:409–410.
- Samman S., Roberts D.C. The effect of zinc supplements on plasma zinc and copper levels and the reported symptoms in healthy volunteers. *Med. J. Aust.* 1987, 146(5):246–249.
- Serdyuk A.M., Gulich M.P., Kaplunenko V.G., Kosinov M.V. *Zhurnal akademii meditsinskikh nauk Ukrainy*. 2010, 1:107–114 (in Russ.).
- Sizova E.A., Lebedev S.V., Polyakova V.S., Glushchenko N.N. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2010, 2:129–133 (in Russ.).
- Sizova E.A., Miroshnikov S.A., Lebedev S.V., Glushchenko N.N. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta*. 2012, 6:1–3 (in Russ.).
- Skalny A.V. Human microelementoses (diagnostics and treatment). Moscow: Izd-vo KMK, 2001 (in Russ.).
- Strickland G.T., Beckner W.M. Absorption of copper in homozygotes and heterozygotes for Wilson's Disease and controls: Isotope tracer studies with ⁶⁷Cu and ⁶⁴Cu. *Clin. Sci.* 1972, 43:617–625.