

ГІГІЄНА ХІМІЧНИХ ФАКТОРІВ**HYGIENE OF CHEMICAL FACTORS**

<https://doi.org/10.32402/hygiene2019.69.096>

УДК 615.33:678.046.3

**ОЦІНКА БІОЦИДНОЇ ДІЇ КОМПОЗИТІВ
З НАНОЧАСТОК СРІБЛА ТА ПРОТИМІКРОБНИХ ПРЕПАРАТІВ**

*Сурмашева О.В., Романенко Л.І., Ніконова Н.О.,
Корчак Г.І., Кистерська Л.Д., Логінова О.Б., Садохін В.П.
ДУ «Інститут громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва НАМН України», м. Київ*

Пошук нових препаратів для подолання резистентності мікроорганізмів та підвищення ефективності антимікробної терапії – актуальна проблема профілактики і лікування інфекційно-запальних захворювань. У вигляді наночастинок срібла дозволяє в сотні разів знизити концентрацію метала при збереженні біоцидних властивостей.

Мета роботи – оцінка біоцидної дії наночастинок срібла та протимікробних препаратів за умови їх комбінованого використання.

Досліджували протимікробну активність композитів, створених на основі концентрованого колоїдного розчину наночастинок срібла у гліцерині («Срібний щит-1000») та протимікробних препаратів різних хімічних груп: стрептоміцином та канаміцином, цефазоліном азитроміцином та офлоксацином. Використані мікробіологічні методи: суспензійний тест за європейськими стандартами та метод серійних розведень у живильному середовищі.

Результати застосування розчину наносрібла у комбінації з антибіотиками груп аміноглікозидів та цефалоспоринів свідчать про перевищення сукупної дії компонентів порівняно з ізольованою дією їх складових, спостерігалось явище синергізму, що дозволило зменшити концентрації складових композиту при збереженні бактерицидних властивостей.

Ключові слова: антимікробна дія, наночастки срібла, протимікробні препарати, комбінована дія.

**ASSESSMENT OF BIOCIDAL ACTION OF THE COMPOSITES
OF SILVER NANOPARTICLES AND ANTIMICROBIALS**

*O.V. Surmasheva, L.I. Romanenko, N.O. Nikonova,
H.I. Korchak, L.D. Kisterska, O.B. Loginova, V.P. Sadokhin
State Institution "O.M. Marzheiev Institute for Public Health, NAMSU", Kyiv*

A search for new drugs to overcome the resistance of microorganisms and increase of the effectiveness of antimicrobial therapy is an urgent problem in the prevention and treatment of infectious-and-inflammatory diseases. Silver, in the form of nanoparticles, allows us to decrease hundreds times the concentration of metal at the conservation of biocidal properties.

The purpose of the work is to evaluate the biocidal action of silver nanoparticles and antimicrobial agents under their combined use. The antimicrobial activity of composites, based on a concentrated colloidal solution of silver nanoparticles in glycerol ("Silver Shield-1000") and antimicrobials of various chemical groups: streptomycin and kanamycin, cefazolin azithromycin and ofloxacin, was studied. We used microbiological methods: suspension test according to the European standards and method of batch dilution in nutrient medium.

The results of the application of nanosilver solution in the combination with antibiotics of the groups of aminoglycosides and cephalosporin indicate the excess of the cumulative effect of the components in comparison with the isolated effect of their components, a phenomenon of synergism was observed, which allowed to reduce the concentrations of the composite components at the preservation of the bactericidal properties.

Keywords: antimicrobial action, silver nanoparticles, antimicrobials, combined effect.

Наразі для лікування та профілактики інфекційно-запальних процесів мікробного походження в першу чергу використовуються антибіотики. Проте, активність антибіотиків знижується у часі в зв'язку з розвитком резистентності мікроорганізмів. Це біологічне явище, яке реєструється вже через 1-3 роки після початку застосування нових препаратів, особливо часто відбувається в умовах стаціонару. Проблемами антибіотикорезистентності у багатьох країнах займаються на державному рівні.

В умовах зниження імунологічної резистентності організму, збільшення числа стійких до протимікробних препаратів штамів мікроорганізмів для профілактики і лікування інфекційно-запальних захворювань необхідні нові підходи і нові лікарські засоби, які відрізняються більш високою ефективністю. Пошук нових препаратів для подолання резистентності – шлях, направлений на попередження та подолання поширення антибіотикостійких штамів бактерій.

Розвиток нанотехнології дозволив відкрити декілька нових аспектів боротьби та попередження хвороб, використовуючи молекулярні якості матеріалів. Було доведено, що срібло виявляє сильну біоцидну дію до більшості мікроорганізмів; за цієї причини срібловмісні препарати використовувалися для обробки опіків і профілактики різноманітних інфекцій [1].

Одним із перспективних напрямків вдосконалення лікарських засобів є дослідження в сфері нанобіотехнології, наноконструювання продуктів нового покоління із заданими властивостями. Наночастки (НЧ) і наноматеріали володіють комплексом фізичних, хімічних властивостей і біологічною дією, які радикально відрізняються від властивостей цієї речовини у формі суцільних фаз або макроскопічних дисперсій [2,3].

Існують препарати металів і неметалів в нанорозмірному діапазоні, що володіють біоцидними властивостями. Це, в першу чергу, препарати наносрібла, які в останні роки знаходять широке застосування в медичній галузі, оскільки срібло у вигляді наночасток дозволяє в сотні разів знизити концентрацію металу при збереженні всіх його бактерицидних та проти-вірусних властивостей [4,5]. Було доведено, що срібло чинить сильну біоцидну дію на більшість мікроорганізмів; за цієї причини срібловмісні препарати використовувалися для обробки опіків і профілактики різноманітних інфекцій. Деякі солі срібла та їх похідні використовувались як антибактеріальні агенти. На сьогодні у цій сфері відомі розробки, направлені на отримання комбінованих препаратів заданої дії. Синергічний або адитивний ефект композитів залежить від фізико-хімічних особливостей компонентів композиту [6,7,8].

Метою даної роботи була гігієнічна оцінка ефективності антимікробної дії композитів з наночастками срібла на основі препарату «Срібний щит» та протимікробних препаратів.

Матеріали та методи досліджень.

Об'єкт дослідження: антимікробна активність композитів на основі препарату «Срібний щит» (наночастками срібла, НЧ Ag) та протимікробних препаратів різних хімічних груп.

Предмет дослідження: складові композитів (концентрований колоїдний розчин наночасток срібла у гліцерині «Срібний щит-1000»; протимікробні препарати «Стрептоміцин», «Канаміцин», «Офлоксацин», «Цефазолін». Препарат «Срібний щит-1000» – концентрований (концентрація срібла 100 ppm), стабільний (не містить стабілізаторів), не токсичний, готовий до вживання виключно чистий (99,99% Ag) колоїдний розчин срібла в харчовому гліцерині. Середній розмір частинок срібла в колоїдному розчині становить 30 nm (65%). Малі розміри і нейтральний (в електрохімічному сенсі) статус наночастинок надає їм високу рухливість в біологічних середовищах, а велика надлишкова поверхнева енергія наночастинок срібла обумовлює їх високу фізико-хімічну і біологічну активність – при розведенні водою наноча-

стинки срібла постійно продукують іони срібла, що обумовлює пролонговану дію препарату. Засіб володіє бактерицидною, антимікробною дією. Через 3 хв його експозиції реєструється загибель мікроскопічних грибів, бактерій і вірусів. З іншого боку, препарат не є токсичним для людини і тварин. Призначений для профілактики і захисту від вірусів герпесу, везикулярного стоматиту та грипу А/М1 / 47 Н1N1 й ін.; для дезінфекції, в тому числі знезараження повітря приміщень, води і рідких розчинів; використовується також для антисептичної обробки взуття, одягу та ін. Концентрований колоїдний розчин наносрібла в гліцерині «Срібний щит-1000», в основі якого – металеве срібло (Ag, ГОСТ 6836-2002), дисперговано за допомогою модуля плазмового диспергування. «Срібний щит-1000» розроблено в Інституті надтвердих матеріалів ім. В.М. Бакуля НАНУ та отримано одностадійним фізичним способом приготування висококонцентрованих колоїдних розчинів ультрадисперсних часток електропровідних матеріалів на основі водорозчинних і неводорозчинних речовин та розчинник гліцерин (C₃H₇O₃) [9]. Концентрований колоїдний розчин «Срібний щит-1000» – темно-сіра прозора рідина з концентрацією наночасток срібла 60 мг/л та розміром часток срібла 10-80 нм. Випуск розчину проводять у відповідності до вимог ТУУ 05417377-13-09. Клас безпеки розчину, за ДСТУ 12.1.007-76, – 4, згідно з Токсиколого-гігієнічним паспортом МОЗ України від 04.06.09 р. (при введенні у шлунок та нанесенні на шкіру не представляє небезпеки).

Методи дослідження. При виконанні роботи застосовувалися мікробіологічні, гігієнічні, статистичні і математичні методи дослідження. Обробка результатів проводилася з використанням програм Microsoft Excel 2007, «STATISTICA 10.0».

Оцінку антимікробної активності наночасток срібла з різними сполуками проводили на моделі різних за фізико-хімічними і біологічними властивостями зразках композитів, а саме: композитах на основі концентрованого колоїдного розчину наносрібла в гліцерині «Срібний щит-1000», отриманого за допомогою модуля плазмового диспергування, та протимікробних препаратів.

Визначення бактерицидної активності колоїдного розчину наносрібла «Срібний щит-1000» здійснювали суспензійним методом. Суспензійний метод використовується для визначення специфічної активності дезінфекційних засобів відносно тест-мікроорганізмів [10]. Приготування робочих двократних розведень наносрібла здійснювали з використанням буферного розчину рН 7,0. В якості тест-мікроорганізму для визначення антимікробної дії колоїдного розчину наносрібла «Срібний щит-1000» використовували стандартний штам *E. coli* ATCC 8739 у кількості клітин мікроорганізмів 10⁴ КУО/см³. Тривалість експозиції складала 5 хв, 1, 2, 3 години. При проведенні випробування по 0,1 см³ суспензії тест-мікроорганізму вносили у 5 см³ кожного робочого розведення препарату. Зразки із розчинами інкубували за (20±1)°С. Після закінчення часу експозиції робили висів по 0,5 см³ з кожного розведення на дві чашки Петрі з щільним поживним середовищем (соєво-казеїновим агаром), які інкубували за 36°С протягом 24 годин. Для кожного розведення розраховували кількість КУО/см³. Результати випробувань колоїдного розчину наносрібла порівнювали з результатами контролю культури *E. coli*.

Досліджували антимікробну дію композитів засобу «Срібний щит-1000» з протимікробними препаратами різних хімічних груп: аміноглікозидами стрептоміцином та канаміцином, цефалоспорином цефазоліном, макролідом азитроміцином та фторхінолоном – офлоксацином.

Визначення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) та мінімальної бактерицидної концентрації (МБК) протимікробних препаратів проводили загальноприйнятим методом серійних розведень [11,12], а також суспензійним методом. Тест-штамами в експериментах були стандартні музейні культури *E. coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, отримані з Української колекції мікроорганізмів Інституту мікробіології та вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України.

Результати дослідження. Результати досліджень з встановлення антимікробної дії засобу «Срібний щит-1000» суспензійним методом по відношенню до тест-мікроорганізму *E. coli* представлені в табл. 1.

Таблиця 1. Визначення антимікробної активності розчину «Срібний щит-1000» до тест-мікроорганізму *E. coli* суспензійним методом, КУО/см³.

Тривалість експозиції	Концентрація наносрібла (мкг/см ³)					Контроль культури <i>E. coli</i>
	30,0	15,0	7,5	3,75	1,875	
5 хв	0	55	58	46	52	65
1 год	0	15	27	30	33	61
2 год	0	13	24	18	19	62
3 год	0	0	6	10	12	63

Проведені експериментальні дослідження показують, що тест-мікроорганізм *E. coli* чутливий до дії нанопрепарату у концентраціях 30 мкг/см³. Експозиція протягом 3 годин спричиняла бактерицидну дію на тест-мікроорганізм.

Результати визначення антимікробної дії протимікробних препаратів – складових композитів методом серійних розведень представлені в табл. 2-5.

Як свідчать дані табл. 2, МБК антибіотика «Стрептоміцин» складала 100 мкг/см³ по відношенню до всіх використаних в експерименті тест-штамів, а МІК – на рівні 25 мкг/см³.

Таблиця 2. Визначення протимікробної дії антибіотика «Стрептоміцин».

Концентрація антибіотика, мкг/см ³	Тест-мікроорганізми					
	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
	МІК	МБК	МІК	МБК	МІК	МБК
100,0	-*	-	-	-	-	-
25,0	-	***	-	+	-	+
10,0	+	+	+	+	+	+
5,0	+	+	+	+	+	+
1,0	+	+	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+	+
0,1	+	+	+	+	+	+

Примітки: 1) * – відсутність росту тест-культури; 2) ** + наявність росту тест-культури.

Таблиця 3. Визначення антимікробної дії антибіотика «Канаміцин».

Концентрація антибіотика, мкг/см ³	Тест-мікроорганізми							
	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>		<i>C. albicans</i>	
	МІК	МБК	МІК	МБК	МІК	МБК	МІК	МБК
100,0	-*	-	-	-	-	-	-	-
25,0	-	+	-	+	-	+	-	+
10,0	***	+	+	+	+	+	+	+
5,0	+	+	+	+	+	+	+	+
1,0	+	+	+	+	+	+	+	+
0,5	+	+	+	+	+	+	+	+
0,1	+	+	+	+	+	+	+	+

Примітки: 1) * – відсутність росту тест-культури; 2) ** + наявність росту тест-культури.

З результатів, представлених в табл. 3, видно, що МБК антибіотика «Канаміцин» складала 100 мкг/см³ по відношенню до всіх використаних в експерименті тест-штамів, а МІК – на рівні 25,0 мкг/см³. Тобто, протимікробна дія обох антибіотиків групи аміноглікозидів була рівнозначною.

Таблиця 4. Антимікробна дія препарату «Офлоксацин».

Концентрація зразка, мкг/см ³	Протимікробний препарат/тест-мікроорганізми			
	«Офлоксацин»			
	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
	МІК	МБК	МІК	МБК
200,0	-*	-	-	-
20,0	-	-	-	-
2,0	-	-	-	-
0,2	-	-	-	-
0,1	-	-	-	-
0,05	-	+**	-	+
0,025	-	+	-	+
0,0125	+	+	+	+

Примітки: 1) * – відсутність росту тест-культури; 2) ** + наявність росту тест-культури.

Наведені в табл. 4 дані свідчать, що МБК препарату «Офлоксацин» реєструвалася на рівні 0,1 мкг/см³ по відношенню до використаних тест-штамів, а МІК – на рівні 0,025 мкг/см³.

Наведені в табл. 5 дані свідчать, що МБК антибіотика «Цефазолін» визначалася на рівні 25,0 мкг/см³ по відношенню до всіх використаних тест-штамів, а МІК – на рівні 1,56 мкг/см³ по відношенню до тест-мікроорганізму *S. aureus*, та 3,125 мкг/см³ – до тест-мікроорганізму *E. coli*. У досліджуваного антибіотика «Азитроміцин» не встановлено МБК, оскільки за найбільшої з досліджених концентрацій (200,0 мкг/см³) ще спостерігався ріст тест-мікроорганізмів. Тому ми вважаємо, що даний лікарський засіб не придатний для використання у якості компонента композиту з наносріблом.

Таблиця 5. Протимікробна дія антибіотиків «Азитроміцин» та «Цефазолін».

Концентрація антибіотика, мкг/см ³	Антибіотики / тест-мікроорганізми							
	«Азитроміцин»				«Цефазолін»			
	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
	МІК	МБК	МІК	МБК	МІК	МБК	МІК	МБК
200,0	-*	+**	-	+	-	-	-	-
100,0	-	+	-	+	-	-	-	-
25,0	-	+	-	+	-	-	-	-
12,5	-	+	-	+	-	+	-	+
6,25	-	+	-	+	-	+	-	+
3,125	-	+	+	+	-	+	-	+
1,56	+	+	+	+	-	+	+	+
0,78	+	+	+	+	+	+	+	+
0,39	+	+	+	+	+	+	+	+

Примітки: 1) * – відсутність росту тест-культури; 2) ** + наявність росту тест-культури.

За результатами досліджень створювали композиційні суміші, до складу яких входили колоїдний розчин наносрібла «Срібний щит-1000» та антимікробні препарати «Стрептоміцин», «Канаміцин» «Офлоксацин» і «Цефазолін». Антимікробні препарати та колоїдний розчин срібла «Срібний щит-1000» поєднували у концентраціях на рівні МБК та нижчих.

Результати визначення антимікробної активності створених композитів наведено в табл. 6-10.

Згідно отриманих результатів, представлених в табл. 6, встановлено, що композиційна система на основі колоїдного розчину наносрібла «Срібний щит-1000» з антибіотиком «Стрептоміцин» проявляє антимікробний ефект по відношенню до тест-штамів *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* при використанні менших концентрацій вихідних інгредієнтів.

Таблиця 6. Антимікробна дія композиту колоїдного розчину «Срібний щит-1000» та антибіотика «Стрептоміцин».

Концентрація розчину «Срібний щит-1000», мкг/см ³	Концентрація антибіотика, мкг/см ³	Тест-мікроорганізми					
		<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
		МІК	МБК	МІК	МБК	МІК	МБК
30,0	25,0	_*	-	-	-	-	-
20,0		-	-	-	-	-	-
15,0		-	-	-	+/-	-	-
12,0		-	-	-	+/-	-	-
30,0	10,0	-	-	-	-	-	-
20,0		-	+**	+	+	+/-	+/-
15,0		+	+	+	+	+	+
12,0		+	+	+	+	+	+
30,0	5,0	-	-	+/-***	+	+	+
20,0		-	+	+	+	+	+
15,0		+	+	+	+	+	+
12,0		+	+	+	+	+	+
30,0	1,0	-	-	+/-	+	+	+/-
20,0		-	+	+	+	+	+
15,0		+	+	+	+	+	+
12,0		+	+	+	+	+	+

Примітки: 1) * – відсутність росту тест-культур;
 2) ** + наявність росту тест-культур;
 3) *** +/- ріст стійких колоній в незначній кількості.

Найбільш чутливими до дії композиту виявились тест-штами *S. aureus* та *P. aeruginosa*. МІК для цих мікроорганізмів реєструвалася у композиційній суміші із вмістом антибіотика 10,0 мкг/см³ та розведенням наносрібла у два рази (30,0 мкг/см³) по відношенню до тест-штаму *P. aeruginosa* і у три рази (20,0 мкг/см³) по відношенню до тест-штаму *S. aureus*. Також нижчою була МБК композиту у порівнянні із антимікробною дією складових компонентів суміші. Так, у відношенні *S. aureus* і *P. aeruginosa* суміш із вмістом антибіотика 10,0 мкг/см³ та розведенням наносрібла у два рази (30,0 мкг/см³) проявляла мінімальний бактерицидний ефект.

Щодо тест-штаму *E. coli*, МІК композиту зафіксовано із вмістом антибіотика 10,0 мкг/см³ та розведенням наносрібла у два рази (30,0 мкг/см³); МБК – із вмістом антибіотика 25,0 мкг/см³ та розведенням наносрібла у три рази (20,0 мкг/см³) та вмістом антибіотика 10 мкг/см³ і розведенням наносрібла у два рази (30 мкг/см³).

За результатами досліджень (табл. 7) антимікробної активності композиційної системи на основі колоїдного розчину наносрібла «Срібний щит-1000» з антибіотиком «Канамі-

цин», межу антимікробної дії відносно тест-штамів *S. aureus* та *E. coli* ми не встановили, тобто композити виявилися надзвичайно ефективними за бактерицидним ефектом.

Таблиця 7. Антимікробна дія композиту колоїдного розчину «Срібний щит-1000» в комбінації з антибіотиком «Канаміцин».

Концентрація розчину «Срібний щит-1000», мкг/см ³	Концентрація антибіотика, мкг/см ³	Тест-мікроорганізми					
		<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>		<i>P. aeruginosa</i>	
		МІК	МБК	МІК	МБК	МІК	МБК
30,0	25,0	_*	-	-	-	-	-
20,0		-	-	-	-	-	-
15,0		-	-	-	-	+/-***	+/-
12,0		-	-	-	-	+/-	+/-
30,0	10,0	-	-	-	-	-	-
20,0		-	-	-	-	-	-
15,0		-	-	-	-	+/-	+/-
12,0		-	-	-	-	+**	+/-
30,0	5,0	-	-	-	-	-	-
20,0		-	-	-	-	-	-
15,0		-	-	-	-	+/-	+/-
12,0		-	-	-	-	+/-	+/-
30,0	1,0	-	-	-	-	-	-
20,0		-	-	-	-	-	-
15,0		-	-	-	-	+/-	+/-
12,0		-	-	-	-	+/-	+/-

Примітки: 1) * – відсутність росту тест-культур;
 2) ** + наявність росту тест-культур;
 3) *** +/- ріст стійких колоній в незначній кількості.

З аналізу активності композиційної суміші (табл. 8) «Срібний щит-1000» в концентрації 7,5 мкг/см³ у поєднанні з антимікробним препаратом «Офлоксацин» слідує, що повне незараження від *E. coli* у досліді відбувалося за концентрації антимікробного препарату від 0,1 до 0,025 мкг/см³ через 24 години дії випробуваного зразка. Такий же ефект здійснювало наносрібло (відсутність росту).

Таблиця 8. Антимікробна активність розчину «Срібний щит-1000» у поєднанні з препаратом «Офлоксацин» по відношенню до тест-мікроорганізму *E. Coli*.

Час експозиції	Дослід («Срібний щит-1000» 7,5 мкг/см ³ + «Офлоксацин»), КУО/см ³			Контроль «Офлоксацину», КУО/см ³			Контроль розчину «Срібний щит-1000», КУО/см ³ (7,5 мкг/см ³)	Контроль культури <i>E. coli</i> , КУО/см ³
	концентрація препарату, мкг/см ³			концентрація препарату, мкг/см ³				
	0,1	0,05	0,025	0,1	0,05	0,025		
5 хв	62	87	94	77	109	96	90	88
2 год	26	32	35	30	98	115	44	113
4 год	23	18	20	20	55	96	14	99
24 год	0	0	0	1	2	4	0	> 330

За ізольованої дії «Офлоксацина» через 24 години був зафіксований бактеріостатичний ефект (виявлені поодинокі колонії *E. coli*). Оскільки рівень концентрацій інгредієнтів в композиційній суміші й наносрібла співпадали при бактерицидній дії, можна припустити, що антимікробна дія композиту відбувалася за рахунок наносрібла. Тобто ефекту зниження МБК не виявлено, що свідчить про безперспективність подальшого дослідження композиції.

За результатами випробувань розчину «Срібний щит-1000» в концентрації 7,5 мкг/см³ у поєднанні з антибіотиком «Цефазолін» (табл. 9), відсутність росту тест-мікроорганізму *S. aureus* у досліді виявлена через 4 години експозиції за концентрації 0,78 мкг/см³, що в 4 рази нижче за МБК антибіотика (3,125 мкг/см³). В той же час, розчин наносрібла через чотири години не виявив бактеріостатичного чи бактерицидного ефекту. Такі результати дозволяють говорити про взаємодію складових композиту, що оцінюється нами як наявність синергізму.

Таблиця 9. Антимікробна активність розчину «Срібний щит-1000» у поєднанні з антибіотиком «Цефазолін» по відношенню до *S. Aureus*.

Час експозиції	Дослід («Срібний щит-1000» 7,5 мкг/см ³ + «Цефазолін»), КУО/см ³				Контроль «Цефазоліну», КУО/см ³				Контроль розчину «Срібний щит-1000», КУО/см ³ (7,5 мкг/см ³), КУО/см ³	Контроль культури <i>S. aureus</i> , КУО/см ³
	концентрація антибіотика, мкг/см ³				концентрація антибіотика, мкг/см ³					
	3,125	1,56	0,78	0,39	3,125	1,56	0,78	0,39		
5 хв	0	4	58	51	0	26	50	57	54	70
4 год	0	0	0	1	0	20	42	52	32	69
24 год	0	0	0	0	0	0	4	5	0	27

Більш детальний аналіз результатів (табл. 9) засвідчив щодо необхідності продовжити дослідження, зокрема, у визначенні ефективності за більш короткі проміжки часу (1, 2, 3 години) та зменшення концентрації наночастинок срібла до 3,75 мкг/см³. Отримані результати наведені в табл. 10.

Таблиця 10. Визначення антимікробної активності колоїдного розчину «Срібний щит-1000» у поєднанні з антибіотиком «Цефазолін» по відношенню до *S. aureus*.

Час експозиції	Дослід («Срібний щит-1000» 3,75 мкг/см ³ + «Цефазолін»), КУО/см ³				Контроль «Цефазоліну», КУО/см ²				Контроль розчину «Срібний щит-1000», КУО/см ³ (3,75 мкг/см ³), КУО/см ³	Контроль культури <i>S. aureus</i> , КУО/см ³
	концентрація антибіотика, мкг/см ³				концентрація антибіотика, мкг/см ³					
	3,125	1,56	0,78	0,39	3,125	1,56	0,78	0,39		
5 хв	0	20	40	48	0	21	25	33	55	57
1 год	0	5	6	7	0	18	30	37	17	55
2 год	0	0	0	2	0	11	28	26	10	54
3 год	0	0	0	2	0	10	24	30	5	50

Як слідує з даних табл. 10, активність композиційної суміші була вищою, ніж ізольована дія розчину «Срібний щит-1000» у концентрації $3,75 \text{ мкг/см}^3$ та антибіотика «Цефазолін» у визначених раніше концентраціях. Бактерицидний ефект суміші спостерігався вже за 2 год за концентрації антибіотика $0,78 \text{ мкг/см}^3$. Цей результат підтверджує наявність синергічного ефекту за сукупної дії колоїдного розчину «Срібний щит-1000» у поєднанні з антибіотиком «Цефазолін» та уточнює параметри щодо можливості використання нижчої концентрації наносрібла і отримання бажаного результату вже за 2 год експозиції.

Висновки

Узагальнюючи результати випробувань антимікробної дії композиційних систем на основі колоїдного розчину срібла «Срібний щит-1000» з антибіотиками груп аміноглікозидів та цефалоспоринів відносно тест-мікроорганізмів, можна констатувати перевищення сукупної дії композитів порівняно з ізольованою дією їх складових, тобто спостерігалось явище синергізму. В експерименті *in vitro* застосування розчину наносрібла у комбінації з антибіотиками вказаних груп дозволило зменшити концентрації складових композиту при збереженні всіх його бактерицидних властивостей.

ЛІТЕРАТУРА

1. Halawani E. M. Nanomedicine Opened New Horizons for Metal Nanoparticles to Treat Multi-Drug Resistant Organisms. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2016. Vol. 5 (2). P. 397-414.
2. Масычева В.И., Даниленко Е.Д., Белкина А.О. и др. Наноматериалы. Регуляторные вопросы. *Ремедиум.* 2008. №9. С. 12-23.
3. Білецька Е.М., Чекман І.С., Онул Н.М. та ін. Біопротекторна дія цинку в макро- і наноаквахелатній формі на ембріогенез щурів за умови свинцевої інтоксикації. *Медичні перспективи.* 2013. №2. С. 114-119.
4. Lara H.N., Ayala-Nunes N.V., Ixtapan-Turrent L., Rodriguez-Padilla C. Mode of antiviral action of silver nanoparticles against HiV-1. *J. Nanobiotechnology.* 2010. №8. P. 1-10.
5. Чекман І.С., Марієвський В.Ф., Рибалко та інші. Протівірусна активність наночасток металів: погляд на проблему. *Український мед. часопис.* 2015. №5. С. 45-48.
6. Еременко А.М., Смирнова Н.П., Муха Ю.П., Яшан Г.Р. Наночастицы серебра и золота в кремнеземных матрицах: синтез, свойства и применение. *Теор. эксперим. химия.* 2010. Т. 46, №2. С. 67-86.
7. Садохин В.В., Логинова О.Б., Кистерская Л.Д. Управление физико-химическими свойствами наночастиц металлов в процессе получения коллоидных растворов методом ионно-плазменной диспергации. *Перспективы науки.* 2013. №11(50). С. 104-107.
8. Мовчан Б.А. Электронно-лучевая нанотехнология и новые материалы в медицине – первые шаги. *Вісн. фармакології і фармації.* 2007. №12. С. 5-13.
9. Пат. UA 80513 С2 Одностадійний спосіб приготування висококонцентрованих суспензій нанорозмірних часток електропровідних матеріалів на основі водорозчинних і водо нерозчинних рідин та пристрій для його здійснення / Д.А. Дудко, В.П. Садохін, Л. Кістерська. Опубл. 25.09.2007; Бюл. №15, 2007.
10. ДСТУ EN 1276:2019 Средства химические дезинфицирующие и антисептики. Количественный суспензионный метод оценки для определения бактерицидной активности химических дезинфицирующих средств и антисептиков, используемых в учреждениях питания, промышленности, домашнем хозяйстве и общественных заведениях. Метод испытания и требования (этап 2, шаг 1) (EN 1276:2009, IDT). С поправкой №1: 2019.
11. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: методичні рекомендації / МОЗ України; Державний фармакологічний центр. Київ, 2004. 38 с.
12. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования. Под ред. М.О. Биргера. М. : Медицина, 1982. С. 172-180.

REFERENCES

1. Halawani E. M. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 2016 ; 5 (2) : 397-414.
2. Masysheva V.I., Danilenko E.D., Belkina A.O. et al. *Remedium.* 2008 ; 9 : 12-23 (in Russian).
3. Biletska E.M., Chekman I.S., Onul N.M. et al. *Medychni perspektyvy.* 2013 ; 2 : 114-119 (in Ukrainian).
4. Lara H.H., Ayala-Nunes N.V., Ixtapan-Turrent L., Rodriguez-Padilla C. *J. Nanobiotechnology.* 2010 ; 8 : 1-10.
5. Chekman I.C., Mariievskiy V.F., Rybalko S.L., Davtian L.L., Didikin H.H. et al. *Ukrainskyi medychnyi chasopys.* 2015 ; 5 : 45-48 (in Ukrainian).
6. Eremenko A.M., Smirnova N.P., Mukha Yu.P. and Yashan G.P. *Teoreticheskaya I eksperimentalnaya khimiya.* 2010 ; 46 (2) : 67-86 (in Russian).
7. Sadokhin V.V., Loginova O.B. and Kisterskaya L.D. *Perspektivy nauki (Science prospects).* 2013 ; 11(50) : 104-107 (in Russian).
8. Movchan B.A. *Visnyk farmakolohii I farmatsii.* 2007 ; 12 : 5-13 (in Russian).
9. Dudko D.A., Sadokhin V.P., Kisterski L. Patent UA 80513 C2 Odnostadiyni sposib pryhotuvannya vysokokontsentrovanykh suspensii nanorozmirnykh chastok elektroprovodnykh materialiv na osnovi vodorozchynnykh i vodo nerozchynnykh ridyn ta prystrii dlia yoho zdiisnennia [One-Step Method for the Preparation of High-Concentrated Suspensions of Nanosize Particles of Conductive Materials Based on Water-Soluble and Water-Insoluble Liquids and Device for its Implementation]. Publ. 25.09.2007; Bull. №15, 2007 (in Ukrainian).
10. DSTU EN 1276:2019 Sredstva khimicheskije dezinfitsiruiushchie i antiseptiki. Kolichestvennyi suspensionnyi metod otsenky dlia opredeleniia bakteritsidnoy aktivnosti khimicheskikh dezinfitsiruiushchikh sredstv i antiseptikov, ispolzuemykh v uchrezhdeniyakh pitaniya, promyshlennosti, domashnem khoziaystve i obshchestvennykh zavedeniyakh. Metod ispytaniya i trebuvaniya (etap 2, shag 1) (EN 1276:2009, IDT). S popravkoi № 1:2019. [SSTC EN 1276: 2019 Chemical Disinfectants and Antiseptics. Quantitative Suspension Evaluation Method for the Determination of the Bactericidal Activity of Chemical Disinfectants and Antiseptics Used in Food, Industry, Household and Public Institutions. Test Method and Requirements (Stage 2, Step 1) (EN 1276: 2009, IDT). Amendment No. 1: 2019] (in Russian).
11. Derzhavnyi farmakolohichnyi tsentr MOZ Ukrainy. Vyvchennia spetsyfichnoi aktyvnosti protymikrobnykh likarskykh zasobiv: metodychni rekomendatsii [The Study of the Specific Activity of Antimicrobial Drugs: Guidelines]. Kyiv ; 2004 : 38 p. (in Ukrainian).
12. Birger M.O. (ed.). Spravochnyk po mykrobiolohycheskym y vyrosolohycheskym metodam yslidovanyia [Handbook of Microbiological and Virological Research Methods]. Moscow : Meditsina ; 1982 : 172-180 (in Russian).