



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **141550** (13) **U**  
(51) МПК (2020.01)  
**C12Q 1/00**  
**G01N 1/28** (2006.01)  
**C12R 1/19** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ

**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**

<p>(21) Номер заявки: <b>u 2019 11033</b></p> <p>(22) Дата подання заявки: <b>08.11.2019</b></p> <p>(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: <b>10.04.2020</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.04.2020, Бюл.№ 7</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Фаустова Марія Олексіївна (UA), Лобань Галина Андріївна (UA), Ананьєва Майя Миколаївна (UA), Басараб Ярослав Олексійович (UA)</b></p> <p>(73) Власник(и): <b>УКРАЇНСЬКА МЕДИЧНА СТОМАТОЛОГІЧНА АКАДЕМІЯ, вул. Шевченка, 23, м. Полтава, 36011 (UA)</b></p>
---	--

**(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ НАНОЧАСТИНОК СРІБЛА ВІДНОСНО ДО ESCHERICHIA COLI**

**(57) Реферат:**

Спосіб визначення антибактеріальної активності наночастинок срібла відносно до Escherichia coli включає розведення, засів та інкубацію Escherichia coli. Для антибактеріальної дії використовують рідкі дисперсні системи на основі конденсату наночастинок срібла розміром 10 нм, що осаджені на кристали натрію хлориду шляхом електронно-променевої технології у вакуумі. Масова частка срібла (Ag) складає 23,4 %. Як стабілізатор наночастинок срібла у водному середовищі використовують субстанцію 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинату (мексидол) та 6 % розчину полівінілпіролідону (ПВП) низькомолекулярного (Неогемодез).

UA 141550 U



Корисна модель належить до медицини, а саме до медичної мікробіології, та може бути призначена для визначення ступеня антибактеріальної активності наночастинок срібла до *Escherichia coli* та використана у фармацевтичній промисловості.

Кишкова паличка (лат. *Escherichia coli*; загальноприйняте скорочення *E. coli*) - вид грамнегативних паличковидних бактерій, факультативних анаеробів, що входить до складу нормальної мікрофлори шлунково-кишкового тракту людини. Вид ешерихія коли (*E. coli*) включений в рід ешерихії (лат. *Escherichia*), сімейство ентеробактерії (лат. *Enterobacteriaceae*), порядок ентеробактерії (лат. *Enterobacteriales*), клас гамма-протеобактерії (лат. *Gamma*proteobacteria), тип протеобактерії (лат. *Proteobacteria*), царство бактерії. Патогенні серотипи кишкової палички можуть бути причиною ешерихіозів - різних інфекційних захворювань, що протікають з інтоксикацією, лихоманкою, зазвичай з ураженням шлунково-кишкового тракту, рідше - сечовивідних, жовчовивідних шляхів, інших органів або з розвитком сепсису. Ешерихіози частіше зустрічаються у дітей раннього віку. Механізм поширення ешерихіозів ШКТ - фекально-оральний. Найчастіше зараження відбувається через забруднену їжу або воду.

Відомо, що різноманітні сполуки срібла мають антимікробні властивості і широко використовуються у медицині. Хімічно чисте срібло не має виражену бактерицидну дію і може набувати її лише при поверхневому окисненні чи взаємодії з іншими сполуками. Тому останнім часом все частіше використовуються колоїдні системи металічного срібла, стабілізовані різними високомолекулярними продуктами. Потенційно перспективними для цього можуть бути похідні 3-гідроксипіридину з їх значним спектром фармакологічних ефектів. Використання стабілізованих наночастинок срібла (НЧ), завдяки їх малому розміру (менше 100 нм), дозволяє знизити концентрацію металу, не впливаючи на його бактерицидні властивості. Крім того, вони мають значну питому поверхню, що збільшує ділянку контакту наночастинок з бактеріями та підвищує їх антибактеріальний ефект.

В даний час доведено, що срібло має більш виражені антимікробні властивості, ніж пеніцилін, біоміцин та інші антибіотики. Крім того, згубно діє на антибіотикорезистентні штами мікроорганізмів, поява яких обумовлена широким застосуванням відомих препаратів. При використанні з традиційними антибіотиками срібло чинить синергічний ефект, пролонгуючи дію деяких із них у десятки разів. Тому пошук нових препаратів на основі наночастинок срібла є досить перспективним серед сучасних фармакологічних досліджень.

Серед тих, що відомі, є штам базидіального гриба *Phellinus igniarius* (Fr.) Quel. 29 у формі нативного міцелію та культуральної рідини, що виявляє високу антибактеріальну активність відносно бактерій *Escherichia coli*. Пат. на корисну модель 121324, Україна, МПК С12N 1/14 (2006.01), СІ2Р 1/02(2006.01), А61К 36/06 (2006.01), А61Р 31/04(2006.01), СІ2R 1/645(2006.01). ШТАМ БАЗИДІАЛЬНОГО ГРИБА PHELLINUS IGNIARIUS (FR.) QUEL. 29, ЯКИЙ ПРОЯВЛЯЄ АНТИБАКТЕРІАЛЬНУ АКТИВНІСТЬ ЩОДО БАКТЕРІЙ ESCHERICHIA COLI / Барштейн Віктор Юрійович (UA); Круподьорова Тетяна Анатоліївна (UA); Забейда Олена Федорівна (UA); Зайченко Тетяна Олександрівна (UA); заявник та патентовласник: ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ХАРЧОВОЇ БІОТЕХНОЛОПІ ТА ГЕНОМІКИ НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ", вул. Осиповського, 2-а, м. Київ, 04123 (UA).-№ U201707333; Заявл. 11.07.2017; Опубл. 27.11.2017, бюл. № 22/2017.

Найбільш близьким до запропонованого є спосіб визначення антибактеріальної активності меду відносно до *Escherichia coli*, при якому готують однакові за об'ємом розчини меду в м'ясо-пептонному бульйоні 1:5, 1:10, 1:20, 1:40, 1:80, 1:160, засівають культурою тест-штаму *Escherichia coli*, інкубують протягом 24-48 годин при 37 °С і далі здійснюють перепосів засіяних розчинів меду на тверде живильне середовище, інкубують перепосіви протягом 24-48 годин при 37 °С, і визначають активність меду відносно до *Escherichia coli*, який відрізняється тим, що додатково готують аналогічні за об'ємом розчини меду в м'ясо-пептонному бульйоні 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 та контрольний зразок м'ясо-пептонного бульйону, які засівають культурою тест-штаму *Escherichia coli*, при цьому як тверде живильне середовище використовують агар Ендо, а перепосів засіяних та інкубованих розчинів меду і контрольного зразка м'ясо-пептонного бульйону на агар Ендо та їх наступну інкубацію проводять для кожного розчину меду і контрольного зразка м'ясо-пептонного бульйону, при цьому використовують мед, що зберігався в умовах, які виключають зміни хімічного складу меду та його фізичних і антибактеріальних властивостей, причому кінцеве визначення антибактеріальної активності меду відносно до *Escherichia coli* здійснюють, виходячи з концентрацій меду, що виявляють бактериостатичну дію за критеріями: перепосіви з виявленим слабким ростом колоній мікроорганізмів, вважають пригніченими розчином меду із помірними бактериостатичними властивостями, а перепосіви з виявленим помірним ростом колоній мікроорганізмів, вважають пригніченими розчином меду із

слабкими бактеріостатичними властивостями. Пат. на корисну модель 129963 Україна, МПК А61К 35/00, А01К 59/00, С12Q 1/00, С12R 1/28(2006.01), G01N 1/28(2006.01). СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ МЕДУ ВІДНОСНО ДО *ESCHERICHIA COLI* / Лісогурська Ольга Вікторівна (UA); Лісогурська Діна Володимирівна (UA); Фурман Світлана Володимирівна (UA); Кривий Михайло Миколайович (UA); Шиманська Вікторія Володимирівна (UA); Лисенко Ольга Миколаївна (UA); Діхтяр Олена Олександрівна (UA); Андрійчук Валерій Федорович (UA); Ковальчук Ігор Васильович (UA); Кураченко Наталя Миколаївна (UA); Дорохов Віктор Іванович (UA); П'ясківський Володимир Марцинович (UA); Шуляр Альона Леонідівна (UA); Шуляр Аліна Леонідівна (UA); заявник та патентовласник: ЖИТОМИРСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРОЕКОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, бульвар Старий, 7, м. Житомир, 10008 (UA).-№ u201804428; Заявл. 23.04.2018; Опубл. 26.11.2018, бюл. № 22/2018.

В основу корисної моделі поставлена задача вивчення чутливості еталонних штамів *E. coli* до дисперсних систем наночастинок срібла.

Поставлену задачу вирішують створенням способу визначення антибактеріальної активності наночастинок срібла відносно до *Escherichia coli*, що включає розведення, засів та інкубацію *Escherichia coli*, згідно з корисною моделлю, для антибактеріальної дії використовують рідкі дисперсні системи на основі конденсату наночастинок срібла розміром 10 нм, що осажені на кристали натрію хлориду шляхом електронно-променевої технології у вакуумі, причому масова частка срібла (Ag) складає 23,4 %, а як стабілізатор наночастинок срібла у водному середовищі використовують субстанцію 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинату (мексидол) та 6 % розчину полівінілпіролідону (ПВП) низькомолекулярного (Неогемодез).

Дослідження проводили у об'ємі 1 мл розведення робочого розчину з остаточною концентрацією досліджуваного мікроорганізму  $5 \times 10^5$  КУО/см<sup>3</sup>. За допомогою мікропіпетки зі стерильним наконечником 0,5 мл робочого розчину вносили в першу пробірку з 0,5 мл поживного бульйону. Після ретельного змішування 0,5 мл розчину, що утворився, переносили в наступну пробірку, в якій містилося 0,5 мл поживного бульйону. Дану процедуру повторювали доки не був приготований необхідний ряд розведень, але не менше 10 пробірок. Із останньої пробірки 0,5 мл розчину видалялося. Як інокулюм готували мікробну суспензію досліджуваної культури, використовуючи стандарт МакФарланда. В кожну пробірку з готовим подвійним розведенням робочого розчину і в одну пробірку з 0,5мл поживного бульйону ("негативний" контроль) вносили по 0,5 мл шойно приготованого інокулюма. Всі пробірки, окрім "негативного" контролю, інкубувалися у звичайній атмосфері при температурі 35 °С протягом однієї доби. Пробірка з "негативним" контролем зберігалася при температурі 4 °С до обліку результатів.

Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) визначали за найменшою концентрацією робочого розчину, що була здатна пригнічувати видимий ріст досліджуваної культури мікроорганізму, наявність якого оцінювали шляхом огляду пробірки у прохідному світлі, порівнюючи з "негативним" контролем. Як препарат порівняння використовували 0,05 % розчин хлоргексидину біглюконату.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програми Microsoft Excel. Аналіз достовірності - за критерієм Ст'юдента.

За результатами досліджень музейні штами мікроорганізмів виявилися чутливими до досліджуваних розчинів. Дисперсна система НЧАг з дистильованою водою (H<sub>2</sub>O) викликала незначну затримку росту мікроорганізмів. Комбінація наночастинок срібла з мексидолом та ПВП виявила значну протимікробну активність відносно досліджуваних музейних штамів мікроорганізмів, порівняно з розчином, що містив Ag+H<sub>2</sub>O. Бактеріостатична дія 0,05 % розчину хлоргексидину біглюконату, бактеріостатична не перевищувала досліджувані зразки розчинів на основі наночастинок срібла.

МІК розчинів наночастинок срібла (n=5)

	Ag+мексидол+ПВП, мкг/мл M±m	Ag+H <sub>2</sub> O, мкг/мл M±m	Хлоргексидину біглюконат, мкг/мл M±m
<i>E.coli</i>	2,32±0,72*	21,99±0,23	1,95±0,13

Примітка: \* - достовірність різниці показників МІК розчину Ag+мексидол+ПВП до показників МІК розчину Ag+H<sub>2</sub>O, p< 0,05.

Отримані дані розширяють уявлення про чутливість *E. coli* до дисперсних систем наночастинок срібла. Використання отриманих результатів в медицині підвищить

антибактеріальну дію традиційних антибіотиків, так як срібло чинить синергічний ефект, пролонгуючи дію деяких із них у десятки разів.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

5

Спосіб визначення антибактеріальної активності наночастинок срібла відносно до *Escherichia coli*, що включає розведення, засів та інкубацію *Escherichia coli*, який **відрізняється** тим, що для антибактеріальної дії використовують рідкі дисперсні системи на основі конденсату наночастинок срібла розміром 10 нм, що осаджені на кристали натрію хлориду шляхом електронно-променевої технології у вакуумі, причому масова частка срібла (Ag) складає 23,4 %, а як стабілізатор наночастинок срібла у водному середовищі використовують субстанцію 2-етил-6-метил-3-гідроксипіридину сукцинату (мексидол) та 6 % розчину полівінілпіролідону (ПВП) низькомолекулярного (Неогемодез).

10

---

Комп'ютерна верстка Л. Ціхановська

---

Міністерство розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України,  
вул. М. Грушевського, 12/2, м. Київ, 01008, Україна

---

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601