



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **142948** (13) **U**  
(51) МПК (2020.01)  
**C12Q 1/00**  
**C12R 1/445** (2006.01)  
**G01N 1/28** (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ  
ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА  
СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА  
УКРАЇНИ

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

<p>(21) Номер заявки: <b>u 2019 11022</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>10.07.2020</b></p> <p>(46) Публікація відомостей про видачу патенту: <b>10.07.2020, Бюл.№ 13</b></p>	<p>(72) Винахідник(и): <b>Лобань Галина Андріївна (UA), Фаустова Марія Олексіївна (UA), Басараб Ярослав Олексійович (UA), Ананьєва Майя Миколаївна (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 STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

**(57) Реферат:**

Спосіб визначення антибактеріальної активності наночастинок срібла відносно до *Staphylococcus aureus* включає розведення, засів та інкубацію *Staphylococcus aureus*. 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. При цьому 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 низькомолекулярного.

UA 142948 U



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

Золотистий стафілокок (лат. *Staphylococcus aureus*) - вид кулястих грампозитивних бактерій з роду стафілококів. Приблизно 25-40 % населення є постійними носіями цієї бактерії, яка може зберігатися на шкірних покривах і слизових оболонках верхніх дихальних шляхів. *S. aureus* може викликати широкий діапазон захворювань, починаючи з легких шкірних інфекцій: вугри, імпетиго (може бути викликаний також і *Streptococcus pyogenes*), фурункул, флегмона, карбункул, стафілококовий опікоподібний шкірний синдром та абсцес - до смертельно небезпечних захворювань: пневмонія, менінгіт, остеомієліт, ендокардит, інфекційно-токсичний шок і сепсис. Діапазон захворювань простягається від шкірних, м'яких тканин, респіраторних, кісткових, суглобових і ендovasкулярних до ранових інфекцій. Він до цих пір є однією з чотирьох найбільш частих причин внутрішньолікарняних інфекцій, часто викликаючи післяопераційні ранові інфекції.

Відомо, що різноманітні сполуки срібла мають антимікробні властивості і широко використовуються у медицині. Хімічно чисте срібло не має вираженої бактерицидної дії 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 спосіб визначення протиадгезивних властивостей харчової сталі за показником щільності мікробної біоплівки, що включає вирощування біоплівки на пластинках нержавіючої сталі розміром 3×3 см протягом 12 год. при температурі 37 °С, фіксацію і фарбування біоплівки етиловим спиртом, спектрофотометрію змивного розчину. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що оцінювання нержавіючої сталі за показником щільності мікробних біоплівок при спектрофотометрії проводять наступним чином: до 0,5 од. - сталь проявляє відмінні протиадгезивні властивості; від 0,51 до 1,00 од. добрі протиадгезивні властивості; 1,01-1,30 од. задовільні протиадгезивні властивості; 1,31 од. незадовільні протиадгезивні властивості. Пат. на корисну модель 124201, Україна, МПК G01N 19/04(2006.01), G01N 17/00, G01N 9/00. СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ ПРОТИАДГЕЗИВНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ХАРЧОВОЇ СТАЛІ ЗА ПОКАЗНИКОМ ЩІЛЬНОСТІ МІКРОБНОЇ БІОПЛІВКИ ШТ. *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ATCC 25923 / Кравченко Христина Юріївна (UA); Кухтин Микола Дмитрович (UA); Лазарюк Валерій Володимирович (UA); Шинкарук Оксана Юріївна (UA); заявник та патентовласник: Кравченко Христина Юріївна (UA); Кухтин Микола Дмитрович (UA); Лазарюк Валерій Володимирович (UA); Шинкарук Оксана Юріївна (UA). - № u201710506; Заявл. 30.10.2017; Опубл. 26.03.2018, бюл. № 6/2018.

Найближчим аналогом є спосіб визначення антибактеріальної активності меду по відношенню до *Staphylococcus aureus*, 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 *Staphylococcus aureus*, інкубують протягом 24-48 годин при 37 °С і далі здійснюють перепосів засіяних розчинів меду на тверде живильне середовище, інкубують перепосиви протягом 24-48 годин при 37 °С, і визначають антибактеріальну активність меду по відношенню до *Staphylococcus aureus* за критеріями: перепосиви, в яких не виявили ріст колоній, вважають пригніченими розчином меду із бактерицидними властивостями, перепосиви з виявленим ростом колоній мікроорганізмів, вважають пригніченими розчином меду із бактеріостатичними властивостями, а перепосиви з виявленим інтенсивним ростом колоній мікроорганізмів вважають утвореними розчином меду без антибактеріальної дії, 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 *Staphylococcus aureus*, причому як тверде живильне середовища використовують жовтково-

сольовий агар, а перепосів засіяних та інкубованих розчинів меду і контрольного зразка м'ясо-пептонного бульйону на жовтково-сольовий агар 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 по відношенню до *Staphylococcus aureus* здійснюють, виходячи з концентрацій меду, що виявляють бактеріостатичну дію за критеріями: перепосіви з виявленим слабким ростом колоній мікроорганізмів, вважають пригніченими розчином меду із помірними бактеріостатичними властивостями, а перепосіви з виявленим помірним ростом колоній мікроорганізмів, вважають пригніченими розчином меду із слабкими бактеріостатичними властивостями. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що кожен розчин меду в м'ясо-пептонному бульйоні та контрольний зразок м'ясо-пептонного бульйону готують кількістю 2 мл, а їх засів проводять 1-ю краплею 18-годинної культури тест-штаму мікроорганізму *Staphylococcus aureus* з розведенням м'ясо-пептонним бульйоном до  $10^5$ - $10^6$  м.т./мл. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що як мед, антибактеріальну активність якого визначають, використовують мед, що не піддавався температурному впливу вище  $37^\circ\text{C}$ , та дії хімічних сполук. Спосіб за п. 1, який відрізняється тим, що слабкий ріст колоній мікроорганізмів визначають при кількості колоній від 1 до 10, помірний ріст колоній мікроорганізмів визначають при кількості колоній від 11 до 100, а інтенсивний ріст колоній мікроорганізмів визначають при кількості колоній більше 100. Пат. на корисну модель 129688 Україна, МПК G01N 33/02 (2006.01), G01N 33/554(2006.01), C12Q 1/04. СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОЇ АКТИВНОСТІ МЕДУ ПО ВІДНОШЕННЮ ДО *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* / Лісогурська Ольга Вікторівна (UA); Лісогурська Діна Володимирівна (UA); Фурман Світлана Володимирівна (UA); Кривий Михайло Миколайович (UA); заявник та патентовласник: ЖИТОМИРСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРОЕКОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ, бульвар Старий, 7, м. Житомир, 10008 (UA). - № u201804450; Заявл. 23.04.2018; Опубл. 12.11.2018, бюл. № 21/2018.

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

Поставлену задачу вирішують тим, що спосіб визначення антибактеріальної активності наночастинок срібла відносно до *Staphylococcus aureus*, що включає розведення, засів та інкубацію *Staphylococcus aureus*, 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, при чому, 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 1мл розведення робочого розчину з достатньою 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 0,5мл розчину видалялося. В якості інокулюма 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 щойно приготованого інокулюма. Всі пробірки, окрім "негативного" контролю, інкубувалися у звичайній атмосфері при температурі  $35^\circ\text{C}$  протягом однієї доби. Пробірка з "негативним" контролем зберігалася при температурі  $4^\circ\text{C}$  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. Бактеристатична дія 0,05 % розчину хлоргексидину біглюконату, бактеристатична не перевищувала досліджувані зразки розчинів на основі наночастинок срібла.

5

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
S. aureus	9,30±0,94*	21,99±0,59	3,91±1,49

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 S. aureus 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.

10

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб визначення антибактеріальної активності наночастинок срібла відносно до Staphylococcus aureus, що включає розведення, засів та інкубацію Staphylococcus aureus, 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, при цьому 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).

15

20

---

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