

**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА «ІНСТИТУТ ГРОМАДСЬКОГО ЗДОРОВ'Я
імені О.М. МАРЗЄЄВА НАМН УКРАЇНИ»**

РОМАНЕНКО ЛЮДМИЛА ІВАНІВНА

УДК 613: 579.63:615.28:544.77

**ГІГІЄНІЧНА ОЦІНКА АНТИМІКРОБНОЇ ДІЇ КОМПОЗИТІВ З
НАНОЧАСТКАМИ СРІБЛА**

14.02.01 – гігієна та професійна патологія
(біологічні науки)

АВТОРЕФЕРАТ
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата біологічних наук

Київ – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в ДУ «Інститут гігієни та медичної екології імені О.М. Марзєєва НАМН України»

Науковий керівник: Доктор медичних наук
Сурмашева Олена Василівна, ДУ «Інститут громадського здоров'я імені О.М. Марзєєва НАМН України», завідувач лабораторії мікробіології

Офіційні опоненти: Доктор медичних наук, професор
Білецька Елеонора Миколаївна, ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», завідувач кафедри загальної гігієни

Доктор біологічних наук
Рибальська Алла Петрівна, ДУ «Інститут гематології та трансфузіології НАМНУ», завідувач лабораторії мікробіології та проблем антиінфекційного імунітету

Захист відбудеться «28» грудня 2016 р. о 10⁰⁰ годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.604.01 в ДУ «Інститут громадського здоров'я імені О.М. Марзєєва НАМН України» за адресою: 02660, м. Київ-94, вул. Попудренка, 50.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Інституті громадського здоров'я імені О.М. Марзєєва НАМН України» за адресою: м. Київ, вул. Попудренка, 50.

Автореферат розісланий «25» листопада 2016 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради, д.б.н.

О.М. Литвиченко

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. В останнє десятиріччя важливим направленням наукових досліджень є вивчення властивостей наноматеріалів, які на теперішній час вже знаходять широке практичне застосування у різних галузях, в тому числі і медицині (Чекман І.С., 2014).

Одним із перспективних напрямків вдосконалення лікарських засобів є дослідження в сфері нанобіотехнології, наноконструювання продуктів нового покоління із заданими властивостями. До таких належать наночастки (НЧ) і наноматеріали. Фізичні, хімічні властивості і біологічна дія НЧ радикально відрізняються від властивостей цієї речовини у формі суцільних фаз або макроскопічних дисперсій (Масычева В.И., 2008; Білецька Е.М. та інш., 2013).

Наразі йде активна розробка нових препаратів в нанорозмірному діапазоні, що володіють біоцидними властивостями. Це, в першу чергу, препарати наночасток срібла (НЧ Ag) завдяки їх високій антимікробній активності та значному уповільненню утворення стійкості мікроорганізмів до срібла. Серед НЧ металів значну увагу приділяють також вивченню наночасток міді (НЧ Cu), бактерицидна активність якої досить висока. Насьогодні хімічний і фізичний методи є найбільш поширеними для отримання НЧ різних сполук. (Мовчан Б.А. та інш., 2007; Еременко А.М. та інш., 2010; Садохин В.В. та інш., 2013). Нанорозмірний діапазон часток дозволяє в сотні разів зменшити концентрацію металу при збереженні всіх його бактерицидних властивостей (Lara H.H., 2010; Андрусишина И.Н. та інш., 2011).

В умовах зниження імунологічної реактивності організму людини, збільшення розповсюдженості інфекцій, викликаних антибіотикорезистентними штамми мікроорганізмів, для профілактики і лікування інфекційно-запальних захворювань, і тим самим охорони здоров'я населення, необхідні нові підходи і нові лікарські засоби, які відрізняються більш високою ефективністю.

Активно розвивається конструювання комбінованих препаратів, у складі яких використовуються НЧ, зокрема, поєднання антибіотиків з наночастками срібла та міді. Антибіотики належать до класу лікарських засобів, активність яких знижується у часі в зв'язку з розвитком резистентності мікроорганізмів. Враховуючи мінливість чутливості мікроорганізмів до антибіотиків, їх токсичну дію на організм людини, отримання комбінованих препаратів НЧ з антибіотиками дозволяє зменшити бактерицидну концентрацію антибіотика, та отримати сполуку, до якої сповільнений час розвитку резистентної мікрофлори. За даними досліджень, використовуючи математичне моделювання, можливо описати процес у вигляді математичних функцій, отримати прогноз результату при зміні рівня факторів і часу їх впливу, провести аналіз властивостей моделі комбінованих препаратів та отримати нові результати без проведення додаткових експериментів (Антомонов М.Ю., 2006).

Ще одним напрямком є створення імпрегнованих наночастками тканин, які можуть використовуватись для запобігання або мінімізації інфікування організмів патогенними мікроорганізмами (Anisha B.S. et al., 2013).

З часом до складу нанокомпозитів стали залучати все більше різновидів сполук, найбільш прийнятними вважаються мінерали. Серед них відома з давніх часів біла глина (каолін). Бактерицидна дія наносрібла в мінеральному композиті призводить до швидкого подолання інфекційного процесу. Сорбційні та іонообмінні якості мінералів забезпечують видалення токсичних продуктів деградації тканин, мікробних клітин, ексудатів (Сердюк А.М. та інш., 2011; Жилиякова Е.Т. та інш, 2013; Корчак Г.І., 2014).

Подібні розробки мають чимале гігієнічне значення: попередження та стримання розповсюдження в оточуючому середовищі антибіотикорезистентних штамів. Синергічна дія комбінованих препаратів зменшує необхідність застосування високих доз лікарських засобів та мінімізує побічні ефекти на організм людини.

Незважаючи на чисельні публікації недостатньо досліджена порівняльна оцінка антимікробної ефективності нанопрепаратів. Мають місце суперечливі результати досліджень нанопрепаратів. Практично відсутні дані щодо порівняльної оцінки антимікробної дії нанопрепаратів, отриманих різними методами.

Таким чином, наведені відомості вказують на перспективність вивчення антимікробної дії композитів на основі наночасток. Цей напрямок має вагомий науковий потенціал в багатьох країнах, проте не одержав належного розвитку в Україні.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано в рамках науково-дослідної роботи в ДУ «Інститут гігієни та медичної екології імені О.М. Марзєєва НАМН України»: «Наукове обґрунтування антимікробної дії наноматеріалів в композиційних системах» (шифр теми АМН. 25.12, № державної реєстрації (ДР) 0112U001051), яка виконувалась в лабораторії санітарної мікробіології у 2012 – 2014 роках.

Мета і завдання дослідження. Метою роботи була гігієнічна оцінка ефективності антимікробної дії композитів з наночастками срібла, отриманих різними методами.

Відповідно до поставленої мети дослідження вважали за доцільне вирішення наступних завдань:

1. Визначити ефективні методи дослідження антимікробної активності наночасток срібла та композитів на їх основі.
2. Вивчити антимікробну активність в комбінації з наночастками срібла антимікробних препаратів різних хімічних груп.
3. Встановити антимікробну дію тканин, імпрегнованих наночастками срібла та міді.
4. Вивчити антимікробну дію та фізичні параметри композиту на основі каоліну та наночасток срібла.
5. Надати гігієнічну оцінку ефективності антимікробної дії композитів з наночастками срібла та міді, отриманих різними методами.

Об'єкт дослідження: антимікробна активність композитів з наночастками срібла та наночастками міді (НЧ Ag та НЧ Cu).

Предмет дослідження: складові композитів (концентрований колоїдний розчин наночасток срібла у гліцерині «Срібний щит-1000»; антимікробні препарати «Стрептоміцин», «Канаміцин», «Офлоксацин», «Цефазолін»); бавовняні тканини, імпрегновані НЧ або іонами Ag та/або Cu; препарат каоліну «Кремневіт» з наночастками срібла; азотнокисле срібло (AgNO_3); тест-штами умовно-патогенних мікроорганізмів.

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

Наукова новизна одержаних результатів. За результатами проведених досліджень вперше в Україні:

- обґрунтовано застосування наноматеріалів у якості антимікробних компонентів композиційних систем, отриманих за допомогою модуля плазмового диспергування, методом електронно-променевої конденсації металевого срібла у вакуумі та термічного відновлення іонів срібла або міді на поверхні бавовняних тканин;
- визначено ефективні мікробіологічні методи дослідження антимікробної активності модифікацій НЧ Ag та композитів на їх основі;
- доведено ефект синергізму при взаємодії НЧ Ag «Срібний щит» і антибіотиків груп аміноглікозидів та цефалоспоринів;
- встановлено антимікробну активність та можливість багаторазового використання бавовняних тканин, імпрегнованих НЧ Ag та НЧ Cu, отриманих методом термічного відновлення іонів металів;
- встановлені фізичні параметри та висока антимікробна дія композиту на основі каоліну та НЧ Ag.

Практичне значення одержаних результатів. За матеріалами дисертації розроблено та впроваджено наступні нормативно-методичні документи:

1. Деклараційний патент на корисну модель «Спосіб одержання бактерицидного матеріалу на основі нанорозмірного композиту срібла і міді» (UA №102532 U, Заявл. 06.03.15, Опубл. від 10.11.15, Бюл. № 21);
2. Деклараційний патент на корисну модель «Спосіб одержання бактерицидного матеріалу на основі нанорозмірного срібла» (UA №101592, заявл. 06.03.15, опубл. від 25.09.15, Бюл. № 18);
3. Деклараційний патент на корисну модель «Композит з антимікробною дією та адсорбційною активністю» (UA №103107; заявл. 06.03.15, опубл. від 10.12.15, Бюл. №23);
4. Інформаційний лист «Метод контролю антимікробної активності розчинів з наночастками срібла» (м. Київ, 2015, № 357).

Результати досліджень можуть бути використані фармакологами, гігієністами, мікробіологами, епідеміологами та іншими спеціалістами, які працюють в області нанотехнологій, з метою розробки антимікробних композитів в різноманітних формах лікарських засобів, перев'язувального матеріалу, одягу для медичного персоналу, пакувального матеріалу тощо.

Матеріали дисертаційної роботи впроваджено в науково-практичну роботу лабораторії медичної мікробіології з музеєм патогенних для людини мікроорганізмів ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України». Матеріали дисертації впроваджені у навчальний процес кафедри гігієни та мікробіології Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пирогова, кафедри мікробіології, вірусології та імунології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України, кафедри гігієни та екології Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика.

Особистий внесок здобувача. Автором особисто здійснено інформаційний пошук та аналіз наукової літератури за даною проблемою, визначено мету та задачі досліджень, обрано методики досліджень, проведено планування експериментів та їх виконання в повному обсязі, здійснено аналіз та узагальнення отриманих результатів, сформульовано висновки.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи викладено та обговорено на наукових форумах різного рівня: XI Международная научно-техническая конференция «Экологическая и техногенная безопасность. Охрана водного и воздушного бассейнов. Утилизация отходов» (Бердянськ. 10-14 червня 2013); науково-практична конференція «Профілактична медицина» (м. Київ, 2014 р.); семінар «Проблеми нанотоксикології і нанобезпеки» (м. Київ, 2015 р.); науково-практична конференція «Актуальні питання гігієни та екологічної безпеки України» (Марзєєвські читання, м. Київ, 2015 р.), семінар «Конструктивні та функціональні наноматеріали для медицини» (Наукова рада з нових матеріалів при комітеті Міжнародної асоціації Національної академії наук України, м. Київ, 2016 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 17 наукових праць, із яких: 5 - у наукових періодичних фахових виданнях України, 1 - у науковому фаховому виданні інших держав, 11 - у матеріалах та тезах науково-практичних конференцій. Матеріали дисертації відображено у 3 деклараційних патентах на корисну модель та інформаційному листі.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 130 сторінках машинописного тексту (обсяг основного тексту 114 сторінок), ілюстрована 40 таблицями, 12 рисунками. Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, розділу, що присвячений опису об'єктів і методів досліджень, 3 розділів власних досліджень, обговорення результатів, висновків і переліку використаних джерел, який включає 150 посилань, з них 45 кирилицею та 105 латиною.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Перший розділ присвячено аналізу вітчизняної та зарубіжної літератури на тему антимікробної активності НЧ Ag металів та їх антимікробної активності у складі композитів із різними компонентами та матрицями. Огляд літератури завершується узагальненням матеріалу, висвітленням невирішених аспектів проблеми, які в цілому сприяли формулюванню мети та завдань досліджень.

Матеріали та методи дослідження. В роботі досліджено антимікробні властивості зразків композитів на основі НЧ Ag та/або НЧ Cu у комбінаціях із різними компонентами чи матрицями.

Як об'єкти дослідження (композити, компоненти композитів) були застосовані:

- концентрований колоїдний розчин НЧ Ag у гліцерині «Срібний щит-1000» - отримано за допомогою модуля плазмового диспергування в Інституті надтвердих матеріалів ім. В.М.Бакуля НАН України;

- бавовняні тканини, імпрегновані іонами та НЧ Ag, іонами та НЧ Cu або їх сумішшю - отримані методом термічного відновлення іонів металів на поверхні бавовняних тканин в Інституті хімії поверхні ім. О.О. Чуйка НАН України;

- композит «Кремневіту» з НЧ Ag, які отримані методом електронно-променевої конденсації НЧ Ag у вакуумі з послідовним осадженням на частинки каоліну в Інституті електрозварювання ім. Є.О. Патона НАН України.

Вивчення антимікробних властивостей композитів та їх компонентів проводили з використанням тест-мікроорганізмів: *Escherichia coli* ATCC 25922 (*E. coli*), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 (*P. aeruginosa*), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (*S. aureus*), *Candida albicans* ATCC 10231 (*C. albicans*).

Мікробіологічні методи. Дані про кількість проведених досліджень наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Предмет та обсяг мікробіологічних досліджень, проведених при виконанні роботи

Предмет досліджень	Кількість серій	Кількість досліджень
Дослід		
Композит на основі НЧ Ag в колоїдному розчині - «Срібний щит-1000» та антимікробних препаратів	3	676
Імпрегновані НЧ або іонами Ag та/або Cu бавовняні тканини	15	90
Композит на основі «Кремневіту» та НЧ Ag	5	830
Контроль		
Антибактеріальні препарати («Офлоксацин», «Стрептоміцин», «Канаміцин», «Цефазолін»)	1	22
Розчини азотнокислого срібла	1	42
«Кремневіт»	1	182
Бавовняна тканина без НЧ срібла	1	10

Для визначення придатного методу щодо скринінгу антимікробної дії розчинів НЧ та композицій на їх основі, на прикладі колоїдного розчину НЧ Ag «Срібний щит-1000», проводили порівняння методу розведення, суспензійного методу, методу дифузії в агар. На підставі отриманих даних та додаткових

експериментів, модифікований суспензійний метод був застосований в наступних дослідженнях дисертаційної роботи для визначення антимікробної дії розчинів наночасток та композицій на їх основі.

Наявність антимікробної дії у імпрегнованих НЧ Ag чи НЧ Cu бавовняних тканин перевіряли методом «агарових пластин».

Паралельно досліджували антимікробну активність контрольних зразків у відповідних концентраціях або об'ємах: розчин нітрату срібла (AgNO_3); антибіотики, які використовували у якості компонентів композиту, «Кремневіт» без НЧ Ag, бавовняні тканини без НЧ Ag та НЧ Cu.

Всього протягом 2014-2016 років проведено 1852 експериментальних мікробіологічних досліджень.

Математичні методи. З метою наукового обґрунтування ефективності дії композиту НЧ Ag «Срібний щит-1000» з антибіотиками, на основі отриманих значень, були побудовані математичні моделі залежності загибелі тест-мікрорганізмів від часу експозиції та концентрації дослідних і контрольних зразків. Для побудови математичних моделей проводили розрахунки параметра швидкості α . Ці значення і їх статистичні характеристики (помилки $-S_\alpha$, коефіцієнти Стюдента - t_α і достовірності - p_α) були розраховані числовими методами (Левенберга-Марквардта) за допомогою ліцензійного програмного продукту STATISTICA 10.0.

Фізичні методи дослідження.

Електронно-мікроскопічне визначення форми та розмірів НЧ Ag, розміри та форма часток каоліну виконано на проникаючому електронному мікроскопі (РЕМ) Tescan Vega 3M за сприяння Міжнародного Центру електронно-променевих технологій при Інституті електрозварювання ім Є.О.Патона НАНУ.

Концентрацію срібла визначали методом атомно-емісійної спектроскопії з індуктивно-зв'язаною плазмою на приладі Optima 2 100 DV за відповідним методом в Інституті медицини праці НАМНУ.

Дослідження фазового складу часток «Кремневіту» здійснювали на рефрактометрі ДРОН-3, гранулометричного - на аналізаторі Zetasizes NanoZS в Національному університеті харчових технологій НАНУ, а сорбційно-структурних властивостей – в Інституті фізичної хімії ім. Л.В.Писаржевського.

Результати дослідження та їх обговорення

Встановлення оптимального мікробіологічного методу, придатного для скринінгу антимікробної дії наночасток та композицій на їх основі.

З метою виявлення оптимального мікробіологічного методу встановлення антимікробної дії, проводили порівняння методів на моделі колоїдного розчину НЧ Ag «Срібний щит-1000» з вихідною концентрацією НЧ Ag 60 мкг/см³.

Порівнювали три методи:

Метод серійних розведень полягає у приготуванні ряду розведень досліджуваного зразку у рідкому поживному середовищі із внесенням в усі розведення певного тест-мікроорганізму.

За узагальнюючими результатами досліджень мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) розчину НЧ Ag «Срібний щит-1000» дорівнювала 30 мкг/см³ для всіх тест-штамів. Той же розчин НЧ Ag володів мінімальною

бактерицидною концентрацією (МБК) відносно тест-штамів *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* за виключенням *C. albicans*. Концентрація 20 мкг/см³ розчину НЧ Ag проявляла лише МІК до всіх вказаних штамів. У ході експериментів виявлено, що антимікробна дія НЧ Ag «Срібний щит-1000» мала нестійкий характер, реєстрували деякі розбіжності. На нашу думку, НЧ Ag інактивувалися при зв'язуванні з хлоридами та білковими компонентами поживного середовища.

Метод дифузії в агар базується на здатності досліджуваного зразку, внесеного в лунки, дифундувати в агар в усіх напрямках. Випробування проводили по відношенню до тест-мікроорганізму *E. coli* у концентрації 30 мкг/см³. Результати випробувань вказують про відсутність зон затримки росту *E. coli*, що на наш погляд свідчить про ускладнення дифундування в агар розчинника НЧ Ag – гліцерину, який має в'язку консистенцію. Тобто, випробуваний метод не придатний для визначення бактерицидної активності колоїдного розчину НЧ Ag «Срібний щит-1000».

Суспензійний метод (модифікований). Суспензійний метод полягає у внесенні тест-мікроорганізмів у відповідні розбавлення дослідного зразку з послідовною експозицією у часі та виявленням після контакту життєздатних мікроорганізмів. Для уникнення інгібуючого впливу хлоридів буферного розчину робочі дворазові розведення НЧ Ag здійснювали з використанням дистильованої води (рН 7,0). У якості моделі також використовували *E. coli*. Результати досліджень показали, що тест-мікроорганізм *E. coli* чутливий до дії нанопрепарату у розведеннях 30 мкг/см³ вже через 5 хвилин. Експозиція протягом 3 годин спричиняла бактерицидну дію на тест-мікроорганізм у концентрації 1,875 мкг/см³.

Порівняльний аналіз отриманих результатів трьох різних методів, на моделі колоїдного розчину з НЧ Ag «Срібний щит-1000» дозволив зробити висновок, що найбільш прийнятним може бути суспензійний метод: він дозволив визначити найменшу концентрацію НЧ Ag за рахунок мінімізації впливу інактивуючих факторів. Це дало підставу використовувати цей метод в подальшому для дослідження антимікробної активності розчинних композитів та їх компонентів.

Вивчення антимікробної дії композицій на основі наночасток срібла та антимікробних препаратів. Дані літератури свідчать, що потенційно придатними для створення композитів є НЧ Ag та антибіотики.

Нами було вивчено антимікробну активність композитів на основі колоїдного розчину срібла в гліцерині «Срібний щит-1000» (вихідна концентрація НЧ Ag не менше 60 мг/л; розмір часток срібла 10–80 нм) з антимікробними препаратами різних хімічних груп. Досліджувані композити готували шляхом змішування препаратів і наносрібла в концентраціях МБК та нижче і послідовних двократних розведеннях отриманих сумішей. Контролем слугували компоненти композиту в усіх досліджуваних розбавленнях.

Аналіз активності композиційної суміші наносрібла «Срібний щит-1000» (МБК 30 мкг/см³) в розведенні 7,5 мкг/см³, поєднаного з антимікробним препаратом «Офлосаксин» (МБК - 0,1 мкг/см³) показав, що через 24 години бактерицидна дія композиційних сумішей і наносрібла співпадали, можна припустити, що антимікробна дія композитів відбувалася за рахунок наносрібла.

Тобто, бажаного ефекта зниження МБК «Офлоксацин» не було виявлено, що свідчило про неперспективність подальшого дослідження цієї композиції.

Чутливими до дії композиту НЧ Ag з антибіотиком «Стрептоміцин» (МБК - 100,0 мкг/см³) виявився тест-штам *S. aureus*. За рахунок комбінування активних складових, вдалося знизити концентрацію антибіотика до 1 мкг/см³. В той же час *E. coli* та *P. aeruginosa* не виявили необхідної активності до композиту.

Поєднання розчину НЧAg «Срібний щит-1000» з антибіотиком «Канаміцин» (МБК -100,0 мкг/см³) дозволило знизити концентрації складових композиту в 5 та 10 раз відповідно, при збереженні бактерицидних властивостей по відношенню до *S. aureus* та *E. coli*.

Високий сукупний антимікробний ефект виявлено у композита з антибіотиком «Цефазолін» (МБК - 25,0 мкг/см³) (табл. 2).

Таблиця 2

Визначення антимікробної активності композита НЧ Ag «Срібний щит-1000» (концентрація 3,75 мкг/см³) з антибіотиком «Цефазолін» по відношенню до тест-мікроорганізма *S. aureus* (КУО/см³)

Час експозиції	Дослід (композит), КУО/см ³				Контроль («Цефазолін»), КУО/см ³				Контроль НЧ Ag, КУО/см ³ (3,75 мкг/см ³)	Контроль культури <i>S. aureus</i> , КУО/см ³
	концентрація антибіотика, мкг/см ³									
	3,12	1,56	0,78	0,39	3,125	1,56	0,7	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

Бактерицидний ефект суміші спостерігався вже через дві години при концентрації антибіотика 0,78 мкг/см³, що в 4 рази нижче МБК самого антибіотика в даному досліді (3,125 мкг/см³). В той же час НЧ Ag через три години не виявили бактериостатичного чи бактерицидного ефекту.

Узагальнюючи результати випробувань антимікробної дії композиційних систем на основі колоїдного розчину НЧ Ag «Срібний щит-1000» з антибіотиками «Стрептоміцин», «Канаміцин», «Цефазолін», можна констатувати перевищення комбінованої дії композитів відносно ефекту дії його окремих складових, тобто явище синергізму. Застосування розчину НЧ Ag в композиційній системі дозволило знизити концентрацію антибіотиків.

Розробка математичної моделі отриманих результатів. На основі отриманих значень антимікробної активності НЧ Ag «Срібний щит-1000» була побудована математична модель залежності загибелі тест-мікроорганізмів від часу експозиції та концентрації антибіотика:

$$y = y(\{a\}, C, t), \quad (1)$$

де: C – концентрація (мкг/см³); t – час (хв.); $\{a\}$ - набір параметрів моделі.

За дією моделлю було розраховано критичне значення концентрації (C^*), за якої відбувається статистично достовірне відмирання мікроорганізмів на п'яту хвилину: $C^* = 45,2$ мкг/см³, що цілком прийнятно, оскільки за мікробіологічними дослідженнями ця концентрація дорівнювала 30 мкг/см³.

Також були розглянуті, з математичної точки зору, результати активності композита НЧ Ag з антибіотиком («Цефазолін»). Був побудований графік, який має вигляд експоненціальної функції:

$$y = y_0(C) \exp[-\alpha(C) t], \quad (2)$$

де $y_0(C)$ – початкове значення функції при $t = 0$; $\alpha(C)$ – швидкість відмирання мікроорганізмів.

За результатами числових розрахунків параметрів моделі та отриманого коефіцієнта ефективності можна стверджувати, що активність композита до десяти разів вище, ніж дія одного антибіотика.

Можна заключити, що побудова моделей подібних процесів дозволяє математичними методами визначити ефективні концентрації діючої речовини.

Вивчення антимікробної активності бавовняних тканин, імпрегнованих НЧ Ag та/або Cu. Базові концентрації водних розчинів для імпрегнації тканин готували з нітрату срібла (для одержання матеріалу з НЧ Ag) або водних розчинів нітрату срібла і сульфату міді (для одержання матеріалу з НЧ Ag/Cu). Концентрація іонів в розчинах складала від 10,79 до 0,01 мг/см³. Імпрегновані тканини були отримані методом термічного відновлення іонів срібла або міді на поверхні бавовняних тканин. Контролем досліду слугували тканини, просочені іонами срібла або міді і зразки тканин, не просочених НЧ та іонами металів.

Антимікробна активність випробуваних бавовняних тканин була не однаковою і напряму залежала від концентрації активних речовин. Зони затримки росту становили до 6,0 мм, що продемонстровано по відношенню до тест-мікроорганізму *P. aeruginosa* на рисунку 1.

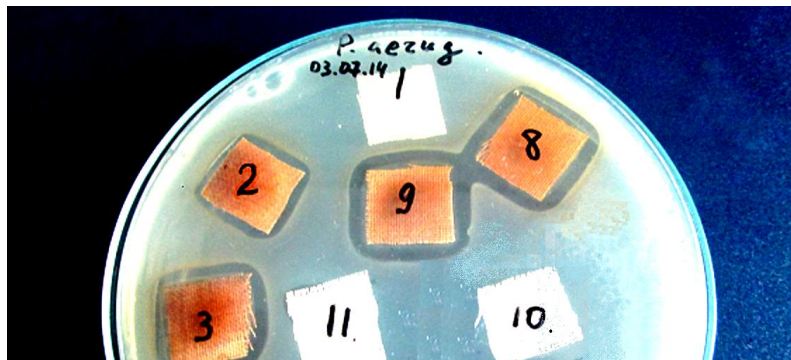


Рис. 1. Зони затримки росту тест-мікроорганізму *P. aeruginosa* під дією НЧ та іонів Ag та/або Cu, імпрегнованих розчинами у концентрації 10,79 мг/см³ (№1 – контроль необробленої тканини, №2 - НЧ Ag, №3 – іони Ag, №8 – НЧ Ag та Cu, №9 – іони Ag та Cu, №10 - НЧ Cu, № 11 – іони Cu).

Таблиця 3

Антимікробні властивості імпрегнованих тканин за термінами зберігання

Імпрегновані тканини (діюча речовина 10,79 мг/см ³)	Зона затримки росту, мм							
	термін спостереження - 1 доба				термін спостереження - 14 тижнів			
	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>C. albicans</i>
НЧ Ag	1,5	2,5	2,0	5,0	2,0	2,0	2,0	5,5
Іони Ag	4,0	4,0	4,0	6,5	3,0	4,0	3,0	6,0
НЧ Ag/Cu	4,5	4,5	4,5	6,0	4,0	3,0	5,0	6,0
Іони Ag/Cu	4,0	4,0	5,0	6,0	5,0	4,0	5,0	6,0
Бавовняна тканина (контроль)	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0

Найбільш активними були тканини, імпрегновані розчинами у концентрації 10,79 мг/см³. В таблиці 3 представлені відповідні результати.

Чутливою до дії як НЧ, так й іонів срібла виявилась *C. albicans*. Чутливість *S. aureus* та *P. aeruginosa* була майже тотожня. Звертає на себе увагу однакова антимікробна дія НЧ та іонів Ag на дослідні збудники інфекцій, а також повна відсутність очікуваного ефекту НЧ та іонів Cu. В той же час, поєднання дії

дозволило виявити найкращий результат (зони затримки росту на рівні 6,0 мм). Спостерігається підвищення антимікробної активності за сумісної дії Ag та Cu. В цій же таблиці наведені результати антимікробної активності тканини через 14 тижнів зберігання при кімнатній температурі, які свідчать, що активність НЧ та іонів Ag з часом (через 14 тижнів) знизилась незначно. Збереглась також висока чутливість *C. albicans* до просоченої металами тканини.

Важливою вимогою до тканин з антимікробною активністю є збереження цієї властивості після багаторазового машинного прання. Такі дослідження були виконані. В результаті встановлено, що антимікробна дія зберігалася лише в тканинах, імпрегнованих НЧ Ag та Cu. Тканини з іонами Ag та Cu втрачали таку активність вже після першого прання.

Таким чином, встановлено, що антимікробні властивості тканин з вмістом в них іонів срібла або іонів срібла та міді показали перспективність розробки матеріалів для зовнішнього використання в медицині як одноразових антимікробних засобів. Матеріали, які містили наночастки срібла або наночастки срібла та міді, володіли антимікробною дією, яка зберігалася протягом тривалого часу (14 тижнів) та після застосування процедури прання, що дає підставу до багаторазового їх використання.

Отримані результати щодо тканин з наночастками вказують на перспективу розробки антимікробних матеріалів багаторазового використання, що актуально для лікування та профілактики патологічних процесів на шкірі та слизових оболонках.

Вивчення властивостей каоліна, як носія НЧ Ag. Останнім часом розвиток наноструктурованих композитів йде у напрямку поєднання наночасток металів з природними матеріалами, особливо – мінералами. Відбувається поєднання фізичних властивостей металів з фізико-хімічними властивостями носія (мінерала). При цьому хімічна чистота отриманого комплексу особливо важлива в медицині. Виходячи з цих вимог, нами було запропоновано НЧ Ag, отримані електронно-променевим випарюванням Ag у вакуумі, осаджувати на препарат білої глини «Кремневіт».

Попередньо була вивчена адсорбційна активність «Кремневіту» щодо умовно-патогенних мікроорганізмів у різних умовах середовища, його гранулометричний, фазовий склад та сорбційно-структурні характеристики.

В таблиці 4 приведені отримані результати адсорбційної активності 0,1 % розчину «Кремневіту» до тест-мікроорганізмів *E. coli* та *S. aureus*, яку можна оцінити, як дуже високу, враховуючи чисельність мікроорганізмів (десятки тисяч) та низьку концентрацію каоліну. При цьому, встановлена більша активність каоліну до *S. aureus*, порівняно з *E. coli*.

Таблиця 4

Адсорбційна активність 0,1 % розчину «Кремневіту» до тест-мікроорганізмів *E. coli* та *S. aureus*

Вихідна концентрація <i>S. aureus</i> (0,1 см ³)	Адсорбція, %	Вихідна концентрація <i>E. coli</i> (0,1 см ³)	Адсорбція, %
32000	99,04	58000	94,22
27000	99,23	43000	94,20
44000	99,12	51000	94,90
M ± m	99,13±0,08	M ± m	94,44±0,33
t = 4,69			

При застосуванні каоліну як профілактичного та лікувального засобу при дисбактеріозах, шлунково-кишкових інфекціях та інтоксикаціях іншої етіології важливим стає вивчення активності препарату при умовах, які є наявними у шлунково-кишковому тракті людини. Тому, вивчено вплив на адсорбцію мікроорганізмів таких факторів як органічне навантаження (0,03 % та 0,3 % альбуміну) та концентрація водневих іонів (рН від 4,0 до 9,0).

Статистична обробка отриманих результатів щодо впливу 0,3 % концентрації альбуміну на адсорбцію *E. coli* та *S. aureus* вказує на наявність різниці між активністю адсорбції мікроорганізмів в розчинах без органічного навантаження та з 0,3 % альбуміну (t = 3,35 та 5,79). Але відсоток адсорбованих мікроорганізмів залишався високим (92,33 - 97,0 %), в абсолютних значеннях кількість адсорбованих мікроорганізмів складала лише десятки КУО/0,1 см³.

Не дивлячись на те, що отримані результати вказують на деяке зниження адсорбції мікроорганізмів в середовищі з альбуміном, ми надаємо високу оцінку каоліну як сорбенту органічних сполук (в даному разі білкової природи).

Одним з факторів, який діє на «Кремневіт» при його застосуванні як ентеросорбента, є вплив концентрації водневих іонів (рН), притаманних шлунково-кишковому тракту: рН шлунку дорівнює – 2,0-4,0; дванадцятипалої кишки – 4,0-6,0, тонкого кишківника – 7,0-8,0, товстого кишківника - 8,0-9,0.

Активність адсорбції *E. coli* зменшувалася по мірі зміни рН з кислотної реакції до лужної. Адсорбція *S. aureus* при всіх значеннях рН проходила з однаковою інтенсивністю: в надосадовій рідині виявлені поодинокі мікроорганізмами (рис. 2).

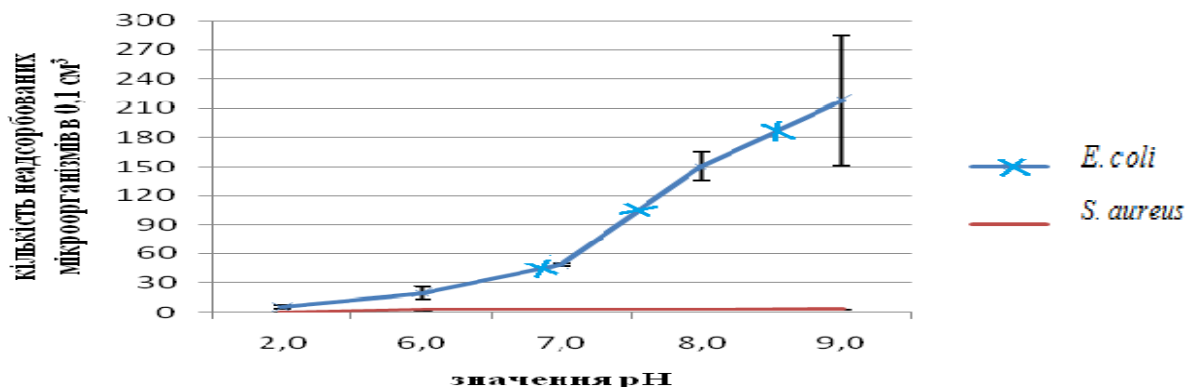


Рис. 2. Адсорбція *E. coli* та *S. aureus* 0,1 % суспензією «Кремневіту» при різних значеннях рН

Виявлене, на наш погляд, пояснюється різною будовою клітинної стінки та різною стійкістю до дії фізико-хімічних факторів *E. coli* та *S. aureus*.

Визначення гранулометричного складу «Кремневіта» та, для порівняння, фармацевтичної білої глини було виконано на аналізаторі Zetasizes (табл. 5).

Таблиця 5

Визначення гранулометричного складу «Кремневіта» та «Фармацевтичної білої глини»

Назва зразка	Методи обробки зразка	Розмір, нм				
		< 100	100 – 200	200 – 500	500 – 1000	>1000
«Кремневіт»	обробка ультразвуком + розбавлення	1,2	14,23 ± 2,45	64,4 ± 12,35	19,83 ± 3,37	0,4 ± 0,008
«Фармацевтична біла глина»		0,0	16,0 ± 3,46	18,3 ± 4,24	58,7 ± 7,99	6,9 ± 0,29

Найбільш характерним для «Кремневіту» був розмір часток від 200 до 500 нм. Частинки з фармацевтичної білої глини здебільшого досягали розміру від 500 до 1000 нм. Виявлені також частинки від 100 до 200 нм, що цілком природньо для каоліну.

Крім гранулометричного складу, визначений також в обох зразках фазовий склад та сорбційно-структурні характеристики (табл. 6).

Таблиця 6

Фазовий склад та сорбційно-структурні характеристики досліджуваних каолінів

Показники	«Кремневіт»	«Фармацевтична біла глина»
Каолініт, мас %	97,64	91,15
Гідрослюда, мас %	0,92	4,03
Кварц, мас %	1,24	4,82
Питома поверхня, м ² /г	18,0	9,0
Сумарний об'єм пор, см ³ /г	0,07	0,02
Розмір пор, нм	8,0	5,0
Кислотність, мкмоль/г	1,29	0,97

Додатково виконано також електронномікроскопічне дослідження препарату «Кремневіт». Відмічені частки розміром від 60 нм до 140 нм, що є характерним для природних наноб'єктів (рис. 3).

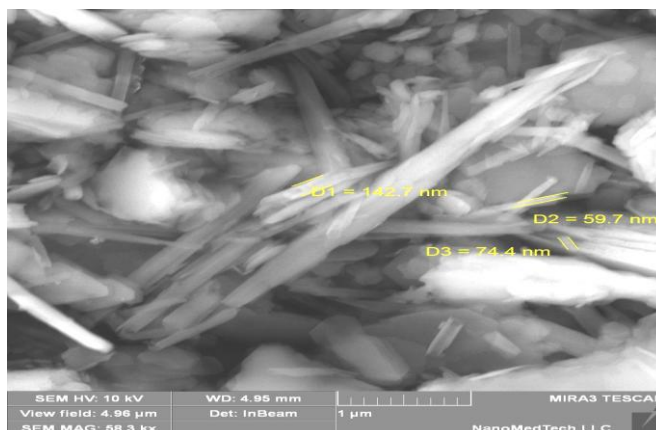


Рис. 3. Електронна мікроскопія «Кремневіту», розмір часток від 60 нм до 140 нм. (масштаб x 58000)

Результати, наведені в табл. 5, надають перевагу препарату каоліна «Кремневіт», що відповідає всім вимогам, які пред'являються до медичних сорбентів. Головним із них вважаємо гранулометричний склад, мінімальну кількість кварцу та гідрослюди, які вважаються агресивними до епітелію людини, високу дисперсність, достатню йонно обмінну ємність та пористість. Це дозволяє «Кремневіту» бути препаратом довготривалого застосування, на відміну від монтморилонітових глин.

Антимікробна активність композиту з НЧ Ag та «Кремневітом». Як відомо, важливим показником наноконтролів є характеристика наноб'єкта: розмір часток, їх форма, розподілення, адсорбція на носії, стабільність отриманої системи, склад та властивості носія наночасток, в даному разі препарату білої глини «Кремневіт». При дослідженні композиту на

електронному мікроскопі встановлено, що НЧ Ag мають сферичну форму розміром від 14 до 60 нм та закріплені на поверхні часток «Кремневіту» (рис. 4).

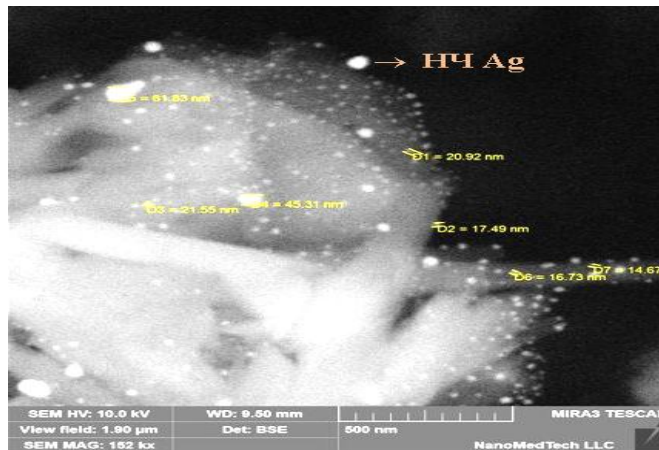


Рис. 4. «Кремневіт» з НЧ Ag (14 нм - 61 нм). Електронна мікроскопія (масштаб x 152000)

За даними літератури, частки такої форми та розміром вище за 10 нм здійснюють найменшу токсичну дію на клітини теплокровних

Враховуючи здатність НЧ до агрегації у водних чи інших розчинах, проводили визначення фактичних розмірів та стабільності структури у водній суспензії часток «Кремневіту» з адсорбованими на них НЧ Ag.

Визначення НЧ Ag у надосадовій рідині після 50 днів відстоювання водних суспензій композиту показало їх наявність у кількості $0,22 \pm 0,012$ та $0,054 \pm 0,011$ мкг/см³ (табл.7).

Таблиця 7

Визначення концентрації НЧ Ag в зразках «Кремневіту» після 50 днів відстоювання методом атомно-емісійної спектроскопії

Статус зразка	Ступінь розбавлення суспензії, %	Концентрація срібла у розбавленні, мкг/см ³	Концентрація срібла у надосадовій рідині, мкг/см ³
Суспензія композиту	0,01	2,7	$0,22 \pm 0,012$
Суспензія композиту	0,001	0,27	$0,054 \pm 0,011$
Вихідний зразок композиту	-	-	$379 \pm 5,12$

З отриманих результатів слідує, що частинки каоліну та НЧ Ag активно взаємодіють. Утворюється стійка стабільна структура, яка не вимагає додаткової стабілізації. Підставою до такого ствердження є також фізична структура каоліну, який складається з декількох шарів різного виду накладання, та має два типи зарядів – позитивний і негативний.

Антимікробну активність композита НЧ Ag на основі «Кремневіту» вивчено на моделі вищевказаних тест-мікроорганізмів. Контролем слугувало азотнокисле срібло (табл. 8).

Таблиця 8

Антимікробна активність композиту («Кремневіт» з НЧ Ag) за 24 год контакту

Концентрація НЧ Ag в композиті, мкг/см ³	Кількість мікроорганізмів, КУО/см ³			
	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>S. aureus</i>
2,7	0	0	0	0
0,27	0	0	0	515
0,13	0	0	0	зливн. ріст
0,07	зливн. ріст	60	0	зливн. ріст
0,035	зливн. ріст	560	13	зливн. ріст
0,017	зливн. ріст	зливн. ріст	зливн. ріст	зливн. ріст
Вихідна кількість м/о $2,4 \cdot 10^6 - 8,1 \cdot 10^6$ КОЕ/см ³				

Як свідчать наведені результати, композит НЧ Ag з «Кремневітом» має високу антимікробну активність до всіх досліджених представників збудників внутрішньолікарняних інфекцій. Бактерицидна концентрація була на рівні 0,035 – 0,27 мкг/см³. За 24 год контакту гинуло $> 5,0$ Іg мікроорганізмів. Відмічено пролонгований ефект бактерицидної дії до 7 діб (кінцевий строк спостереження), за винятком *S. aureus*. Білкове навантаження збільшувало інгібуючу концентрацію від 2 до 10 раз. Композит з НЧ Ag майже у 10 разів активніше за AgNO³.

Результати проведених досліджень антимікробної активності композитів на основі НЧ, отриманих трьома методами, дозволили оцінити їх переваги, а саме, перевищення комбінованої антимікробної дії композитів порівняно з активністю їх складових. Також показана можливість отримання композитів з поєднанням високої антимікробної активності і високими сорбційними властивостями. Враховуючи ці якості, вивчені композити можуть бути перспективними в розробці нових антимікробних засобів як профілактичних, так і лікувальних цілей.

ВИСНОВКИ

В дисертації вирішена актуальна наукова задача – дана гігієнічна оцінка антимікробної дії наночасток срібла, отриманих трьома фізичними методами, та композитів на основі наночасток з антимікробними препаратами, тканинами і препаратом каоліна «Кремневітом».

1. Визначено найбільш чутливий, доступний і достовірний метод для виявлення бактерицидної активності наносрібла у рідкій фазі та композитів на його основі – суспензійний метод, який дозволяє визначити кількісну характеристику рівня антимікробної дії зразку та уникнути впливу інактивуючих

факторів на наночастки срібла (NaCl у розчиннику і білкового навантаження в рідких та щільних поживних середовищах).

2. Доведено наявність ефекту синергізму в отриманих композитах з наночасток срібла «Срібний щит-1000» і антибіотиків груп цефалоспоринів та аміноглікозидів. Найбільш вираженим був антимікробний ефект у комбінації наносрібла з цефазоліном. Бактерицидна концентрація антибіотика в композиті знизилась у чотири рази і складала 0,78 мкг/см³, проти 3,125 мкг/см³ ізольованого антибіотика, що дає можливість послабити побічні токсичні ефекти антибіотикотерапії.

3. Побудована математична модель, за якою визначено антимікробну активність композита в залежності від тривалості дії та його концентрації. За результатами числових розрахунків параметрів моделі отримано коефіцієнт ефективності антимікробної дії композиту, яка до десяти разів вище, ніж дія одного антибіотика. За значеннями параметрів моделі підтверджена оцінка характеру спільної дії розчину наносрібла «Срібний щит -1000» й антибіотика «Цефазолін», яка свідчить про синергічний ефект композиційної системи.

4. Виявлена висока антимікробна активність відносно тест-мікроорганізмів *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* та *C. albicans* зразків бавовняних тканин, імпрегнованих наночастками срібла, срібла та міді, отриманих економічним методом термообробки. Виявлено ефект підвищення антимікробної активності сумісної дії срібла та міді. За концентрації наночасток 1,08 мг/см² у тканині зони затримки росту мікроорганізмів складала до 6 мм. Довготривале зберігання протягом 14 тижнів та автоматичне прання тканин, імпрегнованих наночастками, не зменшувало їх антимікробні властивості, що дозволяє рекомендувати їх для розробки засобів для зовнішнього багаторазового використання та розробки виробів медичного призначення з антимікробною дією. Високі антимікробні властивості тканин з нанесеними на них іонами срібла або у поєднанні іонів срібла і міді дозволяють рекомендувати їх для розробки виробів медичного призначення одноразового використання.

5. Доведена наявність у складі препарату «Кремневіт» часток розміром 100-500 нм у мас % 79,8. Встановлена висока адсорбційна активність «Кремневіту» до умовно-патогенних мікроорганізмів: 0,1 % суспензія адсорбує 94-99 % мікроорганізмів, ефект зберігається за присутності органічних сполук (0,3 % альбуміну) та при зміні рН середовища від 4,0 до 9,0.

6. Встановлено, що нанокompозит на основі препарату каоліна «Кремневіт» та наночасток срібла сферичної форми розміром 20 – 60 нм має високу антимікробну активність до *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* за концентрації 0,035 – 2,7 мкг/см³. За 24 год контакту кількість мікроорганізмів, що загинула, зменшилась на 5 lg від вихідного рівня. Антимікробна активність мала комбінований характер: спостерігалася бактерицидна дія НЧ срібла по відношенню до негативно зарядженої поверхні бактеріальної клітини. Одночасно каолін міцно адсорбував наночастки срібла та мікроорганізми, що посилювало антимікробний ефект.

7. Показана висока антимікробна активність композитів, складовими яких є наночастки срібла та/або міді і речовини різного хімічного складу. Виявлено

бактерицидний та дріжджецидний ефекти композитів до представників умовно-патогенних мікроорганізмів, які можуть бути збудниками внутрішньолікарняних інфекцій. Доведено ефект синергізму складових у вивчених композитах щодо антимікробної дії.

8. Гігієнічна оцінка антимікробної дії та стабільності композитів, до складу яких входять наночастки металів, дозволяє рекомендувати їх для розробки профілактичних та лікувальних засобів різних форм для зовнішнього і внутрішнього використання.

СПИСОК ОСНОВНИХ РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

- у наукових періодичних фахових виданнях України:

1. Міхійєнкова А.І. Антимікробна активність екологічно безпечного розчину наносрібла, отриманого хімічним методом / А.І. Міхійєнкова, Н.О. Ніконова, Л.І. Романенко // *Annals of Mechnikov Institute*. – 2011. - № 4. – С. 262 – 265. *(Аналіз наукової літератури, узагальнення результатів, підготовка до друку)*.

2. Дослідження дозо-часової залежності антимікробної дії наночасток срібла / О.В. Сурмашева, А.І. Міхійєнкова, Г.І. Корчак, М.Ю. Антомонов, Н.О. Ніконова, З.А. Олійник, Л.І. Романенко // *Довкілля та здоров'я*. - 2012. – № 4. – С. 44-48. *(Аналіз наукової літератури, узагальнення результатів, підготовка до друку)*.

3. Адсорбційна активність каоліну (мікробіологічні дослідження) / Г.І. Корчак, О.В. Сурмашева, Л.І. Романенко, А.І. Маринін, В.В. Олішевський, А.Б. Марченко // *Довкілля та здоров'я*. - 2014. – № 4. – С. 37-41. *(Експериментальні дослідження, збір та обробка матеріалу, участь у написанні та підготовка до друку)*.

4. Антимікробна активність композиту на основі каоліну та наночасток срібла / О.В. Сурмашева, Л.І. Романенко, Г.І. Корчак, Н.А. Ніконова, А.К. Горваль, Г.Г. Дідікін // *Довкілля та здоров'я*, - 2015. – № 4. – С. 13-17 *(Експериментальні дослідження, збір та обробка матеріалу, участь у написанні та підготовка до друку)*.

5. Дія комбінованого застосування наночасток срібла та антибіотиків / О.В. Сурмашева, Л.І. Романенко, М.О. Росада, Н.О. Ніконова, А.Ю. Журба, С.М. Березовчук, З.А. Олійник // *Гігієна населених місць: зб. наук. пр.* - Київ, 2015. – Вип. 66. - С. 126-131. *(Експериментальні дослідження, збір та обробка матеріалу, участь у написанні та підготовка до друку)*.

- у наукових фахових виданнях інших держав та наукометричних виданнях України:

6. Изучение антимикробных свойств наночастиц серебра в виде коллоидного раствора и в матрице высокодисперсного кремнезема / Г.И. Корчак, Е.В. Сурмашева, А.И. Михиенкова, Н.А. Никонова, Л.И. Романенко и др. // *Гигиена и санитария*. - 2012. - №6. - С. 63-67. *(Аналіз наукової літератури, узагальнення результатів, підготовка до друку)*.

- *в інших наукових фахових виданнях та збірках:*

7. Изучение антибактериальных свойств наноматериалов: обоснование методического подхода / Е.В. Сурмашева, Г.И. Корчак, А.К. Михиенкова, Н.А. Никонова, Л.И. Романенко // Матер. XI всероссийского съезда гигиенистов и санитарных врачей РФ (Москва, 2012). – М., 2012.- Т. II. - С. 255 – 257.

8. Сумісна дія наночасток срібла в композиції з антибіотиком / О.В. Сурмашева, Л.І. Романенко, Н.О. Ніконова, А.Ю. Москаленко // Актуальні питання гігієни та екологічної безпеки України: зб. тез. доп. наук.-практ. конф. (Київ, 23– 24 травня 2012 р.) – К., 2012. – Вип. 12. - С. 99-100.

9. Отримання екологічно безпечного розчину наносрібла / О.В. Сурмашева, Г.І. Корчак, А.І. Міхійєнкова, Н.О. Ніконова, Л.І. Романенко // Гігієнічна наука та практика: сучасні реалії: матер. XV з'їзду гігієністів України (Львів, 20 - 21 вересня 2012 р.). – Львів: друкарня Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького, 2012. - С.437-438.

10. Сучасні напрямки науково-дослідних робіт в лабораторії санітарної мікробіології в сфері нанотехнологій / О.В. Сурмашева, А.І. Міхійєнкова, Г.І. Корчак, Л.І. Романенко // Інфекційні хвороби: невичерпні проблеми (діагностика, етіопатогенетичні особливості, лікування, профілактика): зб. тез доп. наук.-практ. конф. 10-11 жовтня 2013 р. – К., 2013. – С. 45-49.

11. Антимикробное действие композитных смесей на основе наносеребра / Е.В. Сурмашева, Г.И. Корчак, Л.И. Романенко, А.И. Михиенкова // Екологічна безпека: проблеми та шляхи вирішення. IX Міжнародна науково-практична конференція: зб. тез доп. - Алушта, 2013.- С. 64-67.

12. Бактерицидна активність наночасток міді в композиційній системі на основі колоїдного кремнезему LUDOX / О.В. Сурмашева, Г.І. Корчак, А.І. Михиенкова, Н.О. Ніконова, Л.І. Романенко, З.А. Олійник, А.Ю. Журба // Екологічна безпека: проблеми та шляхи вирішення. IX Міжнародна науково-практична конференція : зб. тез доп. - Алушта, 2013. - С. 86-88.

13. Бактерицидна активність наночасток срібла та міді / О.В. Сурмашева, А.І. Міхійєнкова, Н.О. Ніконова, Л.І. Романенко, З.А. Олійник // Інфекційні хвороби: невичерпні проблеми (діагностика, етіопатогенетичні особливості, лікування, профілактика): зб. тез доп. наук.-практ. конф., 10-11 жовтня 2013 р. – К., 2013. – С. 32-36.

14. Антимикробное действие нанокompозитов / Е.В. Сурмашева, Г.И. Корчак, Л.И. Романенко, А.И. Михиенкова, З.А. Олийнык, Л.Д. Кистерская, О.Б. Логинова, В.П. Садохин // Экологическая и техногенная безопасность. Охрана водного и воздушного бассейнов. Утилизация отходов : сб. тез. докл. XI Международной науч.-техн. конф., Бердянск, 10-14 июня 2013. - Бердянск, 2013. - С. 275-282.

15. Романенко Л.І. Оцінка придатності мікробіологічних методів при визначенні антимікробних властивостей композицій на основі наносрібла та антибіотиків / Л.І. Романенко, Н.О. Ніконова, О.Б. Логінова // Медичні науки: напрямки та тенденції розвитку в Україні та світі: зб. тез наук. робіт учасників міжнар. наук.-практ. конф., Одеса, 23-24 травня, 2014 р. – Одеса, 2014. - С.17-19.

16. Сурмашева О.В. Антимікробна дія суміші наночасток срібла та антибіотика / О.В. Сурмашева, Л.І. Романенко, О.Б. Логінова // Профілактична медицина. - 2014. – №3-4. - С. 82-84.

17. Stabilization of Cu and Ag Nanoparticles Using Cysteine and the Effect of this Amino Acid on their Bactericidal Activity / I. Petrik, N. Smirnova, A. Eremenko, L. Romanenko et al. // International conference on vacuum microbalance and thermoanalytical techniques (ICVMTT 34). – Kyiv, 2014. – P. 150.

АНОТАЦІЯ

Романенко Л.І. Гігієнічна оцінка антимікробної дії композитів з наночастками срібла. – *Рукопис.*

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.02.01 - гігієна та професійна патологія (біологічні науки). – Державна установа «Інституті громадського здоров'я ім. О.М. Марзєєва НАМН України», м. Київ, 2016 р.

Дисертаційна робота присвячена вивченню та наданню гігієнічної оцінки ефективності антимікробної дії композитів з наночастками срібла та міді, отриманими різними методами.

Визначено модифікований (кількісний) суспензійний метод як найбільш оптимальний для скринінгу антимікробної дії суспензій з наночастками та композицій на основі наночасток.

Досліджено антимікробну активність та вивчено переваги наноматеріалів та композитів на їх основі, отриманих трьома методами. Встановлено, що отримані композиційні системи з розчином наночасток срібла «Срібний щит-1000» та антибіотиками різних груп за антимікробною дією перевищували його складові в декілька разів, що дозволило знизити бактерицидну концентрацію антибіотиків. Виявлено, що антимікробна активність тканин, імпрегнованих наночастками срібла та/або міді, зберігалась після прання та довготривалого зберігання. Обґрунтовано застосування препарату білої глини «Кремневіт» у якості компонента композита з наночастками срібла. Виявлено, що композит на основі препарату «Кремневіт» з наночастками срібла має високу антимікробну та сорбційну дію.

В перспективі вивчені композити можуть бути використані для профілактики розповсюдження антибіотикорезистентних штамів в оточуючому середовищі, створення лікарських засобів, перев'язувальних матеріалів та одягу медичного персоналу.

Ключові слова: наночастки срібла, наночастки міді, імпрегновані наночастками тканини, «Кремневіт», антимікробна активність.

АННОТАЦІЯ

Романенко Л.И. Гигиеническая оценка антимикробного действия композитов с наночастицами серебра. - *Рукопись.*

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.02.01 - гигиена и профессиональная патология

(биологические науки) - Государственное учреждение «Институт общественного здоровья им. А.Н. Марзеева НАМН Украины», г. Киев, 2016 г.

Диссертация посвящена изучению эффективности антимикробного действия композитов с наночастицами серебра и меди, полученными различными методами.

Определен модифицированный суспензионный метод как наиболее оптимальный для скрининга антимикробного действия растворимых композиций на основе наночастиц. Он позволяет наиболее точно определить наименьшую концентрацию наночастиц серебра за счет минимизации влияния инактивирующих факторов в виде хлоридных компонентов и белковой нагрузки.

Исследована антимикробная активность и изучены преимущества наноматериалов, и композитов на их основе, полученных тремя методами: диспергированных с помощью модуля плазменного диспергирования, термического восстановления ионов серебра или меди на поверхности хлопчатобумажных тканей и методом электронно-лучевой конденсации металлического серебра в вакууме.

Установлено, что полученные композиционные системы с коллоидным раствором наночастиц серебра «Серебряный щит-1000» и антибиотиками «Стрептомицин», «Канамицин», «Цефазолин» по антимикробному действию превышали его составляющие в несколько раз. Применение раствора НЧ Ag в композиционной системе позволило снизить концентрацию антибиотиков при сохранении бактерицидных свойств композита.

Выявлена высокая антимикробная активность хлопковых тканей, импрегнированных наночастицами или ионами серебра и / или меди. Как лучший результат антимикробной активности импрегнированных тканей (зоны задержки роста на уровне 6,0 мм) установлен в сочетании действия Ag / Cu. Установлено, что антимикробная активность тканей, импрегнированных наночастицами серебра и/или меди, в отличие тканей, импрегнированных ионами серебра и / или меди, сохранялась после стирки и длительного хранения. Высокие антимикробные свойства тканей с нанесенными на них ионами серебра или в сочетании серебра и меди позволяют рекомендовать их для внешнего использования в медицине в качестве одноразового материала. Материалы с наночастицами, то есть термически восстановленными ионами серебра или серебра и меди на поверхности хлопковых тканей, могут использоваться многократно, что дает возможность их практического применения в качестве одежды для медицинского персонала и т.д.

На основании исследований адсорбционной активности, гранулометрического и фазового состава, обосновано преимущество препарата каолина «Кремневит» как компонента композита с наночастицами серебра.

Выявлено, что композит на основе препарата «Кремневит» с наночастицами серебра обладает высокой антимикробной активностью и адсорбционными свойствами. Сравнение по результатам исследований относительно действия азотнокислого серебра на тест-микроорганизм *E. coli* свидетельствует, что композит с НЧ Ag почти в 10 раз активнее $AgNO_3$.

Изученные композиты могут быть использованы во всех звеньях гигиенических мероприятий лечебно-профилактических учреждений: для профилактики распространения антибиотикорезистентных штаммов в окружающей среде, создания лекарственных средств, перевязочных материалов и одежды медицинского персонала.

Ключевые слова: наночастицы серебра, наночастицы меди, импрегнированные ткани, «Кремневит», антимикробная активность.

SUMMARY

Romanenko L.I. Hygienic evaluation of antimicrobial effect of silver nanoparticles composites. - Manuscript.

Thesis for the Candidate of Biological Sciences degree in specialty 14.02.01 - hygiene and occupational pathology. - State Institution «Marzeev Institute for Public Health of NAMS of Ukraine», Kyiv, 2016.

The thesis is devoted to investigation and providing hygienic assessment of the effectiveness of antimicrobial action of the composites with nanoparticles of silver and copper obtained by different methods.

Modified suspension method was determined as most suitable for screening antimicrobial activity of soluble nanoparticles and compositions based on them.

The antimicrobial activity was investigated and the benefits of nanomaterials and composites obtained by three methods were studied. It was established, that obtained composite system solution with silver nanoparticles «Silver Shield -1000» and different groups of antibiotics exceeds its components some times as for antimicrobial activity, so bactericidal concentrations of antibiotics were reduced. It was found that the antimicrobial activity of tissue impregnated with silver and/or copper nanoparticles remains high after washing and long-term storage. Usage of the drug white clay «Kremnevit» as a component of composite with silver nanoparticles proved to be reasonable. High antimicrobial activity and sorption action of the composite-based drug «Kremnevit» with silver nanoparticles was revealed.

Studied composites can be used at all levels of hospital hygienic actions - to create medicines, bandages and medical personnel clothing.

Key words: silver nanoparticles, copper nanoparticles, impregnated with nanoparticles fabric, "Kremnevit", antimicrobial activity.