

Спосіб ґрунтується на спороцидних властивостях наночастинок (НЧ) Арґентуму та Купруму, хелатованих харчовими кислотами розміром від 10 до 50 нм, щодо штаму *Bacillus anthracis* (В. anthracis) "СБ". Винахід належить до сфери гуманної та ветеринарної медицини, нанотехнологій, а саме до використання НЧ як спороцидних речовин. НЧ Арґентуму та Купруму мають високу спороцидну активність щодо спор збудника сибірки, а цей винахід може бути використаний для розроблення способу дезінфекції місць захоронення тварин, загинувших від сибірки та деконтамінації об'єктів навколишнього середовища, розроблення спороцидних дезінфікуючих та лікувальних протимікробних препаратів.

Відомо, що на основі наночастинок арґентуму та купруму розроблено дезінфікуючий засіб "Шумерське срібло" (ШС) [1, 2, 3]. Встановлено антимікробну активність ШС стосовно *E. coli* та *S. aureus*. Привертає увагу той факт, що препарат інактивує тест-об'єкти на металевих, пластикових та дерев'яних поверхнях. Встановлено чітку залежність результату дезінфекції від концентрації препарату та експозиції. Проте, спороцидні властивості як наночастинок арґентуму та купруму, так і дезінфікуючого засобу "Шумерське срібло" досліджені не в повній мірі. Зокрема не вивчались свластивості ШС щодо спор збудника сибірки (*B. anthracis*).

Пошук нових речовин із бактерицидними та спороцидними властивостями й розроблення сучасних дезінфікуючих та протимікробних засобів є одним із найважливіших завдань мікробіології.

Сучасні наукові досягнення у галузі нанотехнологій відкривають широкі перспективи для виробництва та використання композитних НЧ. З літературних джерел відомо, що НЧ арґентуму та купруму мають широкий спектр протимікробних властивостей. Відомо про їх бактерицидні властивості [4, 5, 6].

Відомим аналогом є препарат па основі композитних наночастинок арґентуму та купруму, розроблений авторським колективом Лопатько К.Г. та ін. [7]. Однак, у даного препарату не досліджена спороцидна активність та не визначено розміри наноматеріалів.

Нами вперше встановлено спороцидні властивості хелатованих органічними кислотами НЧ Арґентуму та Купруму розміром 10-50 нм у концентрації 50-500 мкг/см³ щодо штаму бактерій *B. anthracis* "СБ".

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб інактивації бактерій *Bacillus anthracis* полягає у застосуванні колоїдного розчину хелатованих харчовими кислотами наночастинок Арґентуму та Купруму розміром 10-50 нм зі спороцидними властивостями у концентрації 50-500 мкг/см³ за експозиції від 2 годин.

Спосіб виконується наступним чином.

Матеріали та методи:

1. Хелатовані наночастинок арґентуму та купруму розміром 10-50 нм неправильної форми. Наночастинок отримані шляхом абляції гранул срібла та міді у деонізованій воді [8]. Препарат містить колоїдний розчин НЧ арґентуму та купруму у рівному співвідношенні у кількості 500±25 мг/дм³ кожного елемента та лимону кислоту у концентрації від 20 до 50 г/дм³.

2. Штам *B. anthracis* "СБ", який є клонуваним варіантом штаму 55 [6]. Реєстраційний номер в депозитарії 072. Використано штам з Національної колекції штамів мікроорганізмів (НЦШМ) Державного науково контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів (ДНКІБШМ).

Хід випробування:

До суспензії спор *B. anthracis* вносили в співвідношенні 1:1 колоїдний розчин НЧ арґентуму та купруму у концентрації 500 мг/л кожного. Як контроль використовували стерильну дистильовану воду також у співвідношенні 1:1. Експозиція 2 години за температури 22±0,5 °С. Посіви проводили на чашки Петрі з трипосоєвим агаром.

Для визначення мінімальної спороцидної активності НЧ арґентуму та купруму проводили випробування різних розведень (від 1:10 до 1:1000) з внесенням безпосередньо у пробірку зі спорами *B. anthracis* у концентрації 10³ або 10² КУО в 1 см³ в рівних об'ємах з наступним інкубуванням протягом 2, 6, 12 та 24 годин за температури 22±0,5 °С.

Облік результатів проводили через 24 години інкубування за температури 37±0,5 °С.

Кількість колонійутворюючих одиниць (КУО) визначали візуально шляхом підрахунку колоній *B. anthracis* на агарі з подальшим обрахунком результатів за формулою:

$$A = \frac{X}{0,1} \times 10^n$$

де А - кількість КУО в 1 см³ досліджуваної культури,

Х - кількість колоній, що утворилися на твердому поживному середовищі після посіву,

п - ступінь розведення суспензії.

Статистичну обробку проводили в програмі Excel (Microsoft Windows), достовірність розбіжностей визначали за допомогою критерія Стюдента (р<0,05).

Ефективність способу розкривається в прикладах.

Приклад 1.

Визначення спороцидної активності НЧ арґентуму та купруму щодо спор *B. anthracis* на МПА, за експозиції 2 год. та температури $22 \pm 0,5$ °C, n=4 (табл. 1).

Таблиця 1

Дослідження спороцидної активності НЧ арґентуму та купруму щодо спор *B. anthracis* без розведення (експозиція 2 год. за температури 22 ± 1 °C, n=4)

Контроль	НЧ арґентуму та купруму
73,25 $\pm$ 1,38	0*

Примітки: *p<0,05 відносно контролю

Таким чином, колоїдний розчин НЧ арґентуму та купруму має високу спороцидну активність щодо спор *B. anthracis*. За експозиції 2 години життєздатність спор не спостерігається.

Приклад 2.

Визначення мінімальної активної концентрації НЧ арґентуму та купруму (табл. 2).

Таблиця 2

Визначення мінімальної спороцидної активності НЧ арґентуму та купруму щодо спор *B. anthracis* за розведень 1:10, 1:100, 1:1000 (експозиція 2 год. за температури 22 ± 1 °C, n=4)

Контроль	НЧ арґентуму та купруму		
	1:10	1:100	1:1000
59,25 $\pm$ 3,04	13,5 $\pm$ 1,76**	52,75 $\pm$ 1,38*	60,25 $\pm$ 1,93

Примітки: *p<0,05, **p<0,005 відносно контролю

Визначено, що в розведенні 1:10 (50 мкг/см³) НЧ арґентуму та купруму виявили високу спороцидну активність щодо *B. anthracis*, знижуючи життєздатність спор в 4,4 рази.

Приклад 3.

Визначення ефективності НЧ арґентуму та купруму у розведенні 1:10 за умов різних термінів експозиції (табл. 3).

Таблиця 3

Вплив препарату НЧ арґентуму та купруму на життєздатність спор *B. anthracis* за розведення 1:10 та експозиції 2, 6, 12, 24 годин та температури 22 ± 1 °C (n=4)

Розведення НЧ арґентуму та купруму	Кількість життєздатних спор за різних режимах експозиції, год.			
	2	6	12	24
1:10	13,50 $\pm$ 1,55*	12,75 $\pm$ 1,49*	18,0 $\pm$ 3,63*	10,0 $\pm$ 2,2*
Контроль	75,75 $\pm$ 4,85			

Примітка: *p<0,05 відносно контролю

При визначенні ефективності препарату НЧ арґентуму та купруму в концентрації 50 мкг/см³ (по 25 мкг/см³ кожного елемента) встановлено високу його спороцидну активність. Кількість життєздатних спор у досліджуваних зразках знижувалась від 76 до 86,8 % залежно від експозиції.

Таким чином, можна зробити висновок, що препарат НЧ арґентуму та купруму має високу спороцидну активність відносно штаму *B. anthracis* "СБ", а цей винахід може бути використаний для розроблення способу санації ґрунту й об'єктів навколишнього середовища та розробки дезінфікуючих та лікувальних протимікробних засобів.

Джерела інформації:

1. Патент на корисну модель 26843 Україна, МПК C02F 1/50, B22F 9/16. Металовмісний препарат з біоцидними властивостями "Шумерське срібло"/Косінов М.В., Каплуненко В.Г.

2. Патент на корисну модель 46624. Україна: C02F1/50, B22F9/16. Дезінфікуючий засіб "Шумерське срібло". Косінов М.В., Каплуненко В.Г. № u200908031; заявл. 30.07.2009; опубл. 25.12.2009; Бюл. № 24.

3. Хомин Н.М., Гайдюк М.Б., Кушнір І. М, Борисевич В.Б., Каплуненко В.Г., Косінов М.В. Вивчення дезінфекційних властивостей шумерського срібла. Науковий вісник ветеринарної медицини. Збірник наукових праць. Біла Церква 2011. Випуск 7 (83). С 118-121.

4. Holubnycha, M., Butsyk, A., Boren, T., Banasiuk, R., Ramanavicius, A., & Pogorielov, M. (2024). Antimicrobial Activity of Two Different Types of Silver Nanoparticles against Wide Range of Pathogenic Bacteria. *Nanomaterials.*, 14(2), 137. <https://doi.org/10.3390/nano14020137>.

5. Naika H. R., Lingaraju K., Manjunath K. et al. Green synthesis of CuO nanoparticles using *Gloriosa superba* L. extract and heir antibacterial activity. *Journal of Taibah University for Science*. 2015. Т. 9. №. 1. Р. 7-12.

6. Лопатько К.Г., Афтанділянц Є.Г., Мирончук В.Г., Олішевський В.В., Маринін А.І., Гончар О.М. Вивчення бактерицидної дії колоїдних частинок срібла, отриманих електроіскровим методом. Наукові праці [Одеської національної академії харчових технологій]. 2013. Вип. 43(2). С 151-154.

7. Пат. 53252 Україна. С02F 1/50, А61L 2/16. Спосіб отримання бактерицидного засобу з сріблом і міддю/Лопатько Костянтин Георгійович, Афтанділянц Євген Григорович, Коваленко Вячеслав Леонідович, Засекін Дмитро Адамович, Соломон Вячеслав Віталійович; Заявлено 27.04.2010; Опубл. 27.09.2010, Бюл. № 18.

8. Патент 23550 України, МПК В22F 9/14 Спосіб ерозійно-вибухового диспергування металів/Косінов М.В., Каплуненко В.Г. Заявл. 09.02.2007; опубл. 25.05.2007. Бюл. № 7.