

4. ЯКІСТЬ І БЕЗПЕЧНІСТЬ ПРОДУКЦІЇ ТВАРИННИЦТВА. ВЕТЕРИНАРНО-САНІТАРНА ЕКСПЕРТИЗА. ВЕТЕРИНАРНА ФАРМАКОЛОГІЯ ТА ТОКСИКОЛОГІЯ

УДК 619:615.28:579:576.895.132:[546.57+546.47+546.56]-022.532 DOI [10.36016/VM-2024-110-22](https://doi.org/10.36016/VM-2024-110-22)

ВИВЧЕННЯ БІОЦИДНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ СУМІШЕЙ БІНАРНИХ НАНОЧАСТИНОК МЕТАЛІВ (СРІБЛО, ЦИНК, МІДЬ)

**Палій А. П., Завгородній А. І., Сумакова Н. В., Ярошенко М. О.,
Кольчик О. В., Корнєйков О. М., Коваленко Л. В.**

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: paliy.dok@gmail.com

Бєліков К. М., Варченко В. В., Буніна З. Ю.

НТК «Інститут монокристалів» НАН України, Харків, Україна

Одним з актуальних напрямів наукового супроводу галузі ветеринарної медицини є розробка та всебічна оцінка ефективності протимікробних засобів відповідно до чинних вимог та з урахуванням поширення антибіотикорезистентних штамів збудників. На сьогодні серед перспективних шляхів розширення асортименту дезінфекційних засобів для забезпечення ефективних загальних ветеринарно-санітарних та протиепізоотичних заходів у тваринництві можна назвати використання сучасних хімічних та біотехнологій, зокрема на основі наночастинок металів. Метою роботи було вивчення спектру протимікробної дії суміші бінарних наночастинок металів Ag, Zn, Cu. Біоцидні властивості наноконструкції з концентрацією за металами Ag — 367,2 мг/л, Zn — 287,76 мг/л та Cu — 4,8 мг/л вивчали на моделі культур ентеробактерій *Escherichia coli* та *Staphylococcus aureus*, мікроміцетів *Aspergillus flavus* та личинок гельмінтів *Toxocara canis* з використанням загальноприйнятих методів. За проведення мікробіологічних досліджень встановлено, що наноконструкція Ag-Zn-Cu проявляє бактерицидні властивості щодо тест-культур *S. aureus* і *E. coli* та знезаражує на 100 % контаміновані ними тест-об'єкти (кахель, дерево, батист) у концентрації 5,0 % за експозиції 3 год та концентрації 10,0 % за експозиції 1 год. Наноконструкція Ag-Zn-Cu у 5,0 %-й концентрації за експозиції 1 год діє на *S. aureus* та *E. coli* бактеріостатично: на кахлі було інактивовано у середньому 98,2 та 99,4 % клітин, на дереві — 95,3 і 97,5 % та на батисті — 98,4 та 99,1 % відповідно. Наноконструкція у дослідних концентраціях (10,0–75,0 % розчини) за умов $20 \pm 0,5$ °C упродовж 60, 120 і 180 хв виявив фунгіцидні властивості щодо тест-культури *A. flavus*. Також встановлено істотну фунгістатичну дію щодо *A. flavus* 8,0 %-го розчину; за застосування 6,0 %-го розчину спостерігали незначне пригнічення росту. Наноконструкція у 3,0 та 5,0 %-х розчинах за вище перелічених умов не виявив а ні фунгіцидних, а ні фунгістатичних властивостей. Обробка тест-культури розчинами у концентрації 5,0 та 10 % упродовж 9, 12, 24 та 48 год вплинула на розвиток яєць *T. canis* та спричиняла їх загибель на стадії формування личинки (у личинок припинився рух та почалась їх руйнація). Установлено, що за експозиції 48 год та концентрації 10,0 % наноконструкція проявив дезінвазійну активність, затримуючи ембріогенез та інвазійну здатність личинок, а також знезаражував контаміновані яйцями гельмінтів тест-об'єкти з високою ефективністю (до 88,3–95,9 %). Наноконструкція Ag-Zn-Cu проявляє бактерицидні властивості щодо тест-культур ентеробактерій *S. aureus* і *E. coli* та знезаражує контаміновані ними тест-об'єкти у концентрації 5 % за експозиції 3 год та концентрації 10,0 % за експозиції 1 год. Найменшою концентрацією наноконструкції, яка забезпечила повну інактивацію тест-культури *A. flavus* за умов $20 \pm 0,5$ °C є 10 %. Наноконструкція у концентрації 10,0 % впродовж 24 та 48 год знезаражує тест-об'єкти,

контаміновані яйцями гельмінтів *T. canis* та знижує інвазивну здатність личинок гельмінтів. Таким чином, нові дані щодо спектру біоцидної дії наночастинок металів дають можливість покращити розробку інноваційних напрямів щодо контролю рівня патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів у навколишньому середовищі

Ключові слова: наночастинок металів, концентрація, експозиція, тест-культура, протимікробні властивості

Розробка та всебічна оцінка протимікробних засобів відповідно до існуючих вимог є актуальним завданням ветеринарної науки та практики. За останні роки на ринку України з'явилась ціла низка ветеринарних засобів, які різняться між собою за спектром протимікробної дії, діючими речовинами, фізико-хімічними та токсикологічними властивостями [1–3]. Кожен з існуючих препаратів має як позитивні характеристики, так і деякі недоліки [4–6]. Отже, удосконалення лікарських засобів з урахуванням результатів сучасних біотехнологій та хімії має ключове значення у найближчій перспективі.

Велика кількість сучасних досліджень та публікацій присвячена нанотехнологіям, які знайшли своє місце й у ветеринарії. Так, запропоновано низку дезінфікуючих сполук, які є ефективними при застосуванні у виробничих умовах [7–9].

Проте залишається відкритим питання розробки сучасних протимікробних сполук, які б відповідали всім існуючим вимогам [10, 11]. Так, тривале та безконтрольне застосування протимікробних засобів сприяє формуванню підвищеної резистентності у мікрофлорі, що в свою чергу суттєво знижує ефективність проведення загальних ветеринарно-санітарних та протиепізоотичних заходів [12–14].

Наноконпозити є багатообіцяючою альтернативою антибактеріальним препаратам, оскільки мають ряд антимікробних механізмів, включаючи порушення клітинної мембрани, дифузю та руйнування внутрішніх компонентів клітин, таких як ДНК, РНК і ферменти, а також вивільнення іонів з антимікробною активністю. Відомо, що багато наночастинок металів мають антимікробну дію, наприклад *Ag, Au, Cu, Zn, Fe, Mn* [15, 16].

Найбільш поширеними є наноконпозити з наночастинками срібла, які завдяки своїм ефективним антимікробним властивостям і низькій токсичності для клітин тварин застосовують замість антибіотиків. На *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Proteus vulgaris*, що представляють особливий інтерес для клініцистів, іони срібла мають різну протимікробну дію — від бактерицидної (здатність вбивати мікроби) до бактериостатичної (здатність перешкоджати їх розмноженню). Також успішно пригнічують зростання бактерій наноконпозити з частинками міді. Препарати на основі міді широко використовуються проти цілого ряду мікроорганізмів, що спричиняють захворювання [17]. До того ж, мідь має низьку токсичність в порівнянні з іншими металами, оскільки в низьких концентраціях бере участь у метаболічних процесах [18]. У дослідженні поверхонь із протимікробним покриттям проти *S. aureus, E. coli* та *Listeria monocytogenes* мідь продемонструвала більший антимікробний потенціал, ніж срібло та цинк [19]. Існують дані, що мідь краще діє на *Bacillus subtilis* у порівнянні з наночастинками срібла, але не на *S. aureus* та *E. coli* [20].

Загострення проблеми контамінації мікроскопічними грибами об'єктів навколишнього середовища та кормів спорами мікроміцетів полягає у порушенні екологічної рівноваги, підвищенні вмісту фотооксидантів у атмосфері (повітряне забруднення) та зниженні стійкості до фітопатогенів, незбалансованому застосуванні азотних добрив та пестицидів (фунгіцидів, інсектицидів, гербіцидів). Неприятливі кліматичні умови, ослабленість рослин та зміни технології зберігання кормів приводять до захворювань та загибелі уражених рослин, зниження якості та кількості врожаю [21].

Псування сільськогосподарських культур і тваринницької продукції призводить до значних втрат у галузі виробництва харчових продуктів і напоїв у світовому річному доході. Надмірна контамінація пліснявою є проблемою безпеки харчових продуктів, оскільки може бути джерелом мікотоксинів або алергенів. До основних класів грибів-забруднювачів належать ксерофільні гриби, термостійкі гриби, кондомпротекторні гриби та психрофільні гриби. Відомо, що найбільш поширеними мікроміцетами псування рослинних субстратів є представники родів *Aspergillus, Fusarium, Penicillium* тощо. Наприклад, мікобіота роду *Aspergillus* у повітрі може досягати до

22 % від загальної виділеної кількості спор, а найбільш розповсюдженими є види *A. fumigatus*, *A. flavus* і *A. niger* [22].

Останні епідеміологічні дослідження показують, що патогенні грибові мікроорганізми, зокрема з роду *Aspergillus*, різко підвищили стійкість до фунгіцидів. Представники цього роду надзвичайно стійкі до впливу ззовні — можуть швидко пристосовуватися до змін умов життєдіяльності, рН, рівнів солей та вологості [23]. Крім того, спори мікроміцетів можуть надходити до організму через шкіру, через травний та дихальний шляхи і викликати аспергілотоксикози або аспергільоз [24].

Завдяки широкому застосуванню протигрибкових препаратів проти контамінації мікроскопічними грибами, виникла проблема стійкості до більшості комерційно доступних антифунгальних препаратів, що значно знижувала ефективність знезаражувальних заходів. Вирішення питань у створенні нових біоцидних засобів актуально та потребує сучасного інноваційного підходу, яким і є використання нанотехнологій [25].

Метою досліджень було вивчення спектру протимікробної, фунгіцидної та дезінвазійної дії суміші бінарних наночастинок металів *Ag*, *Zn*, *Cu*.

Матеріали та методи досліджень. Дослідження проводили у профільних лабораторіях Національного наукового центру «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини» (м. Харків, Україна).

Для досліджень використовували суміш наночастинок металів *Ag* — 367,2 мг/л; *Zn* — 287,76 мг/л; *Cu* — 4,8 мг/л. Як стабілізатори були застосовані цитрат *Na* — 7,5 г/л; ДСН — 1,7 %, ОК — 0,8 %. Розчини наночастинок готували на стерильній дистильованій воді.

Вивчення бактерицидних властивостей наноконкомпозиту проводили відповідно до чинних нормативних документів [26, 27]. Фунгіцидну активність вивчали відповідно до методичних рекомендацій [28]. Дезінвазійні властивості вивчали відповідно чинних нормативів [29, 30].

Результати досліджень. За результатами проведених експериментів було встановлено, що антибактеріальна активність досягалась у результаті використання наноконкомпозиту металів *Ag-Zn-Cu* у різних концентраціях.

Бактеріостатичну дію наночастинок металів *Ag-Zn-Cu* демонстрували у концентрації 5,0 і 10,0 % на тест-культури *E. coli* та *S. aureus* з експозицією 30 хв. З підвищенням експозиції до 1, 3 і 5 год відзначали бактерицидну активність наночастинок металів *Ag-Zn-Cu* у концентрації 5,0 і 10,0 %, тобто ріст мікроорганізмів на поживних середовищах пригнічувався.

Дослідні тест-культури проявляли стійкість до концентрації 1,0, 2,0 і 3,0 % наночастинок металів *Ag-Zn-Cu* з експозицією від 30 хв до 5 год, що підтверджувалось ростом більше 300 КУО/мл на поверхні поживних середовищ (табл. 1).

Таблиця 1 — Бактерицидна активність наноконкомпозиту, n = 9

Експозиція, год	Концентрація розчину, %				
	1,0	2,0	3,0	5,0	10,0
<i>E. coli</i>					
0,5	+++	+++	+++	+	+
1	+++	+++	+++	—	—
3	+++	+++	++	—	—
5	+++	+++	++	—	—
контроль	+++	+++	+++	+++	+++
<i>S. aureus</i>					
0,5	+++	+++	+++	+	+
1	+++	+++	+++	—	—
3	+++	+++	++	—	—
5	+++	+++	++	—	—
контроль	+++	+++	+++	+++	+++

Примітки: «—» — ріст колоній відсутній; «+» — до 100 КУО/мл на поверхні поживного середовища; «++» — від 100 до 300 КУО/мл на поверхні поживного середовища; «+++» — більше 300 КУО/мл на поверхні поживного середовища.

На наступному етапі досліджень проводили визначення ефективної бактерицидної концентрації наноконцентрату суспензійним методом із застосуванням різних тест-об'єктів (кахель, дерево, батист) та біологічного навантаження інактивованою сироваткою ВРХ (табл. 2).

При аналізі результатів, наведених у табл. 2, видно, що наноконцентрат Ag-Zn-Cu повністю знезаражував усі тест-об'єкти, контаміновані *S. aureus* та *E. coli*, у концентрації 5,0 % за експозиції 3 год і при підвищенні концентрації розчину до 10,0 % за експозиції 1 год відповідно.

Таблиця 2 — Бактерицидна дія наноконцентрату на тест-об'єктах, % (M ± m, n = 3)

Тест-культура	Концентрація, %	Експозиція, год	Тест-об'єкт		
			кахель	дерево	батист
<i>E. coli</i>	5,0	1	99,4 ± 0,26	97,5 ± 0,23	99,1 ± 0,12
	10,0		100,0	100,0	100,0
	5,0	3	100,0	100,0	100,0
контроль		1	0	0	0
<i>S. aureus</i>	5,0	1	98,2 ± 0,15	95,3 ± 0,17	98,4 ± 0,31
	10,0		100,0	100,0	100,0
	5,0	3	100,0	100,0	100,0
контроль		1	0	0	0

Наноконцентрат Ag-Zn-Cu у 5,0 %-й концентрації за експозиції 1 год діє на *S. aureus* та *E. coli* бактериостатично: на кахлі було інактивовано у середньому 98,2 та 99,4 % клітин, на дереві — 95,3 і 97,5 % та на батисті — 98,4 та 99,1 % відповідно, разом з цим показники не мали вірогідної різниці між собою. Однак отримані дані свідчать, що застосування 5,0 %-го розчину наноконцентрату недостатньо для повного знезараження жодного з тест-об'єктів.

Визначення фунгіцидних властивостей наноконцентрату у концентраціях 75,0; 50,0; 25,0; 12,5; 10,0; 8,0; 6,0; 5,0 та 3,0 %, провели на найбільш стійкому до впливів та санітарно значущій тест-культурі виду *A. flavus*, стандартизованої за кількістю спор. Витримували за температури 20 ± 0,5°C і експозиції 60, 120 та 180 хв.

Результати визначення фунгіцидних властивостей наноконцентрату у концентраціях 75,0; 50,0; 25,0; 12,5; 10,0; 8,0; 6,0; 5,0 та 3,0 %, на тест-культурі *A. flavus* представлені у табл. 3.

Таблиця 3 — Ступінь фунгіцидної дії наноконцентрату щодо *A. flavus* за температури 20 ± 0,5°C

Концентрації наноконцентрату, %	Терміни обчислення росту колоній <i>A. flavus</i> , діб														
	3			5			7			10			14		
	Експозиція, хв														
	60	120	180	60	120	180	60	120	180	60	120	180	60	120	180
Кількість колоній, що вирости, шт.															
3,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5,0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6,0	±	±	±	99	95	94	100	97	98	101	102	104	+	+	+
8,0	-	-	-	20	19	19	25	24	27	27	26	27	27	27	26
10,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
75,0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Позитивний контроль	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Негативний контроль з ністатиним	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Примітки: «-» — відсутність росту; «+» — суцільний ріст; «±» — ріст культури, яку ще не можливо ідентифікувати.

Отримані результати (табл. 3) вказують, що витримка тест-культури в наноконкомплексі у 10,0–75,0 %-х розчинах за умов $20 \pm 0,5$ °С упродовж 60, 120 і 180 хв виявила фунгіцидні властивості щодо тест-культури — росту колоній *A. flavus* встановлено не було, у порівнянні з позитивним та негативним контролями (рис. 1).

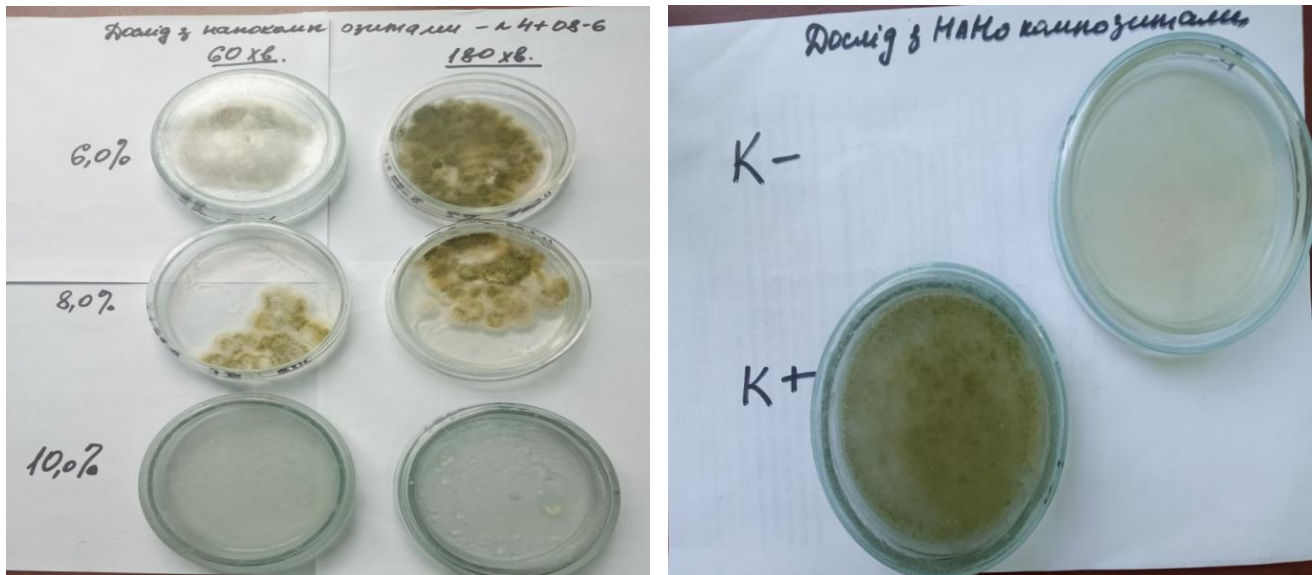


Рис. 1. Визначення фунгіцидних властивостей наноконкомпозиту Ag-Zn-Cu у 10,0; 8,0; та 6,0 % щодо *A. flavus*.

У 8,0 %-му розчині було встановлено фунгістатичну дію щодо *A. flavus* — спостерігали істотну затримку росту мікроміцету та незначне пригнічення росту у 6,0 %-му розчині, у порівнянні з суцільним ростом культури у позитивному контролі (рис. 1).

Наноконкомплекс у 3,0 та 5,0 %-х розчинах за умов $20 \pm 0,5$ °С упродовж 60, 120 і 180 хв не виявили а ні фунгіцидних, а ні фунгістатичних властивостей щодо тест-культури — встановлено суцільний ріст *A. flavus* (рис. 1).

Після аналізу отриманих результатів провели статистичну обробку результатів для 8,0 %-го наноконкомпозиту — розведень, які виявили найбільші фунгістатичні властивості на дослідній тест-культури (табл. 4).

Отже, аналізуючи результати, слід відзначити, що наноконкомплекс у дослідних концентраціях у 10,0–75,0 %-х розчинах за умов $20 \pm 0,5$ °С упродовж 60, 120 і 180 хв виявив фунгіцидні властивості щодо тест-культури *A. flavus*; за дії 8,0 %-го розчину було встановлено істотну фунгістатичну дію щодо *A. flavus*.

Таблиця 4 — Статистична обробка результатів дослідів щодо визначення фунгістатичних властивостей наноконкомпозиту щодо тест-культури *A. flavus* за умов температури $20,0 \pm 0,5$ °С та експозиції 60 хв

Оптимальна концентрація, яка виявила фунгістатичні властивості, %	Варіаційний ряд	Середній показник колоній, що вирости	Медіана
8,0	0; 20; 25; 27; 27	19,8	25,0

За застосування 6,0 %-го розчину спостерігали незначне пригнічення росту.

Грунтуючись на даних попереднього досліді, наступним етапом досліджень було визначення знезаражувальних концентрацій наноконкомпозиту щодо поверхонь тест-об'єктів за експозиції 1 год (табл. 5).

Як свідчать отримані дані (табл. 5) фунгістатичні властивості відносно тест-культури *A. flavus*, нанесеної на тест-об'єкти, наноконкомпозит виявляє у концентрації 8,0 %, а застосування засобу у концентрації 10,0 % за експозиції 1 год зумовлює повну загибель тест-культури.

Таблиця 5 — Фунгіцидна дія наноконкомпозиту на тест-об'єктах, n=3

Концентрація, %	Тест-об'єкт	Строки обчислення росту колоній, діб				
		3	5	7	10	14
		Середня кількість колоній тест-культур, шт.				
8,0	кахель	28	34	38	40	40
	дерево	45	47	49	50	51
	батист	36	37	38	39	39
10,0	кахель	-	-	-	-	-
	дерево	-	-	-	-	-
	батист	-	-	-	-	-
Позитивний контроль	кахель	+	+	+	+	+
	дерево	+	+	+	+	+
	батист	+	+	+	+	+
Негативний контроль	кахель	-	-	-	-	-
	дерево	-	-	-	-	-
	батист	-	-	-	-	-

Примітки: «-» — відсутність росту; «+» — суцільний ріст тест-культури.

Слід зазначити, що прояв фунгістатичних властивостей наноконкомплексу відносно *A. flavus*, нанесеної та тест-об'єкти, залежав від фізичної характеристики його поверхні, тобто чутливість тест-культури до наноконкомпозиту була не однаковою і залежала від характеристики поверхні — чим більш пласка поверхня, тим спостерігали вищу протигрибкову ефективність.

Після аналізу отриманих результатів нами проведено статистичне опрацювання результатів щодо застосування розведень наноконкомпозиту, які виявили найбільший фунгістатичний ефект на всіх дослідних тест-об'єктах (табл. 6).

Таблиця 6 — Статистичне опрацювання результатів дослідження щодо вивчення фунгістатичних властивостей наноконкомпозиту Ag-Zn-Cu, нанесеного на тест-об'єкти за умов температури 20,0 ± 0,5°C та експозиції 60 хв

Концентрація, %	Тест-об'єкт	Варіаційний ряд	Середній показник колоній, що вирости	Медіана
8,0	кахель	28; 34; 38; 40; 40	36,0	38,0
	дерево	45; 47; 49; 50; 51	48,4	49,0
	батист	36; 37; 38; 39; 39	37,8	38,0

Отже, порівнюючи результати дослідження (табл. 4) слід вказати, що для проведення дезінфекційних заходів наноконкомпозитом для суттєвого пригнічення росту мікроскопічних грибів найоптимальнішою є концентрація 8,0 %.

Дезінвазійні властивості наноконкомпозиту визначали щодо культур яєць гельмінтів *T. canis* (табл. 7).

Аналізуючи результати (табл. 7) слід зауважити, що обробка тест-культури розчинами наноконкомпозиту у концентрації 5,0 та 10,0 % упродовж 1–6 год не вплинула на розвиток яєць *T. canis*. Оболонка яєць не змінювалась, не припинялось ділення бластомерів. У яйцях сформувалась личинки в той же термін, що і в позитивному контролі. Обробка тест-культури розчинами у концентрації 5,0 та 10,0 % упродовж 9, 12, 24 та 48 год вплинула на розвиток яєць та спричиняла їх загибель на стадії формування личинки (у личинок припинився рух та почалась їх руйнація). Встановлено, що за експозиції 24 та 48 год та концентрації 10,0 % наноконкомпозит проявив дезінвазійну активність, затримуючи ембріогенез (табл. 8).

Овоцидна ефективність наноконкомпозиту на тест-культурі *T. canis* за концентрації 5,0 % та найвищої експозиції 48 год склала 55,4 %. Наноконкомпозит показав найкращий результат за експозиції 48 год в концентрації 10,0 % — овоцидна ефективність становила 95,3 %.

Таблиця 7 — Дезінвазійна дія наноконкомпозиту Ag-Zn-Cu щодо *T. canis*, n = 3

Експозиція, год	Терміни визначення життєздатності яєць <i>T. canis</i> , діб									
	3		6		14		21		28	
	Концентрація, %									
	5	10	5	10	5	10	5	10	5	10
1										
6	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
9	+++	++-	+++	++-	+++	++-	+++	+-	++-	-
12	+++	+++	+++	++-	+++	++-	++-	+-	+-	-
24	+++	++-	+++	+-	++-	+-	+-	-	+-	-
48	+++	++-	+++	+-	++-	-	+-	-	-	-
Позитивний контроль	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Негативний контроль	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Примітки: «-» — загибель яєць гельмінтів; «+» — розвиток яєць.

Таблиця 8 — Визначення дезінвазійних концентрацій та експозицій наноконкомпозиту щодо тест-культури *T. canis*

Концентрація, %	Експозиція, год	Повна загибель яєць у дослідних культурах, доба	Середня овоцидна ефективність, %
5,0	9	35	36,2
10,0		28	64,2
5,0	12	30	40,4
10,0		28	72,7
5,0	24	30	49,2
10,0		21	94,7
5	48	28	55,4
10		14	95,3

Деструкції яєць (розрив оболонки, її прогинання) під дією наноконкомпозиту не відмічали, зміни були характерні лише для зародку як на стадії ембріогенезу, так і на стадії інвазійної личинки. За мікроскопії яєць було виявлено, що наноконкомпозитний засіб утворює на їх поверхні тонку плівку. В позитивному контролі в яйцях на стадії бластомерів на 11 добу сформувались рухливі, активні личинки.

З урахуванням результатів попередніх дослідів було проведено визначення дезінвазійної дії наноконкомпозиту щодо *T. canis* із застосуванням тест-об'єктів (табл. 9)

Таблиця 9 — Дезінвазійна дія наноконкомпозиту на тест-об'єктах, n = 3

Концентрація, %	Тест-об'єкт	Експозиція, год			
		9	12	24	48
		Середня овоцидна ефективність за 3 дослідями, %			
10,0	кахель	64,2 ± 0,01	72,7 ± 0,01	94,7 ± 0,01	95,3 ± 0,01
	дерево	61,18 ± 0,02	67,8 ± 0,02	85,3 ± 0,02	88,6 ± 0,02
	батист	65,1 ± 0,01	73,1 ± 0,01	95,1 ± 0,01	95,9 ± 0,01
Позитивний контроль	кахель	-	-	-	-
	дерево	-	-	-	-
	батист	-	-	-	-
Негативний контроль	кахель	90,70 ± 0,01	92,44 ± 0,01	96,44 ± 0,01	96,84 ± 0,01
	дерево	53,70 ± 0,02	62,89 ± 0,01	78,89 ± 0,01	78,93 ± 0,01
	батист	93,77 ± 0,01	93,77 ± 0,01	96,77 ± 0,01	96,87 ± 0,01

Примітка. «-» — відсутність овоцидної ефективності.

За отриманими результатами (табл. 9) встановлено, що наноккомпозит у концентрації 10,0 % впродовж 24 год знезаражує контаміновані яйцями гельмінтів тест-об'єкти з високою ефективністю. Але ефективність знезараження зростала при подовженні часу експозиції (48 год) до 88,3–95,9 %.

Отже, за результатами проведених досліджень встановлено, що наноккомпозит суміші Ag-Zn-Cu з концентрацією металів 367,2 мг/л, 287,76 мг/л та 4,8 мг/л відповідно має антимікробні властивості та є перспективним для створення на його основі нових універсальних дезінфекційних засобів.

Висновки. Наноккомпозит Ag-Zn-Cu проявляє бактерицидні властивості щодо тест-культур *S. aureus* і *E. coli* та знезаражує контаміновані ними тест-об'єкти у концентрації 5,0 % за експозиції 3 год та концентрації 10,0 % за експозиції 1 год.

Наноккомпозит у дослідних концентраціях у (10,0–75,0 %-ві розчини) за умов $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$ упродовж 60, 120 і 180 хв виявив фунгіцидні властивості щодо тест-культури *A. flavus*; було встановлено істотну фунгістатичну дію щодо *A. flavus* 8,0 %-го розчину; за застосування 6,0 %-го розчину спостерігали незначне пригнічення росту. Наноккомпозит у 3,0 %-му та 5,0 %-му розчинах за вище перелічених умов не виявили а ні фунгіцидних, а ні фунгістатичних властивостей щодо тест-культури *A. flavus*.

Наноккомпозит у концентрації 10,0 % впродовж 24 та 48 год знезаражує тест-об'єкти контаміновані яйцями гельмінтів *T. canis*.

Нові дані щодо спектру біоцидної дії наночастинок металів дають можливість покращити розробку інноваційних напрямів щодо контролю рівня патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів у навколишньому середовищі.

Фінансування. Ці дослідження профінансовані Національним фондом досліджень України за бюджетні кошти у рамках виконання проекту № 2021.01/0076 «Створення інноваційного дезінфекційного засобу на основі наночастинок металів для знешкодження збудників емерджентних інфекційних хвороб» за конкурсом «Наука для безпеки і сталого розвитку України».

Перспективи подальших досліджень полягають у вивченні бактерицидних властивостей наночастинок оксидів металів.

Список літератури

1. Ponomarenko G. V., Kovalenko V. L., Balatskiy Y. O., Ponomarenko O. V., Paliy A. P., Shulyak S. V. Bactericidal efficiency of preparation based on essential oils used in aerosol disinfection in the presence of poultry. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2021. Vol. 12, No 4. P. 635–641. DOI: <https://doi.org/10.15421/022187>.
2. Rodionova K., Paliy A., Khimych M. Veterinary and sanitary assessment and disinfection of refrigerator chambers of meat processing enterprises. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*. 2021. Vol. 15. P. 616–626. DOI: <https://doi.org/10.5219/1628>.
3. Chechet O. M., Kovalenko V. L. Research on fungicidal impact of «Diolide» disinfectant. *The Animal Biology*. 2022. Vol. 24, No 3. P. 18–21. DOI: <https://doi.org/10.15407/animbiol24.03.018>.
4. Стародуб Є. С. Дезінвазійні властивості сучасних дезінфікуючих засобів відносно яєць нематод *Trichostrongylus Tenuis*. *Вісник Полтавської державної аграрної академії*. 2021. № 2. С. 242–247. DOI: <https://doi.org/10.31210/visnyk2021.02.31>.
5. Paliy A., Zavgorodnii A., Rodionova K., Borovkov S., Pavlichenko O., Dubin R., Ihnatieva T. Resistance of different types of nontuberculous mycobacteria to aldehyde disinfectants. *Veterinarski Arhiv*. 2024. Vol. 94, No 6. P. 499–512. URL: <https://vetarhiv.vef.unizg.hr/papers/2024-94-6-7.pdf?ci=iugekfcqtfurungnhflc>.
6. Paliy A., Pavlichenko O., Berezovskyi A., Fotin A., Kisil D., Panasenکو O. Bakterična svojstva nekih organskih kiselina u odnosu na mikobakterije. *Veterinarska stanica*. 2024. Vol. 55, No 4. P. 375–386. DOI: <https://doi.org/10.46419/vs.55.4.8>.
7. Tenzin S., Ogunniyi A. D., Khazandi M., Ferro S., Bartsch J., Crabb S., Abraham S., Deo P., Trott D. J. Decontamination of aerosolised bacteria from a pig farm environment using a pH neutral electrochemically activated solution (Ecas4 anolyte). *PLOS ONE*. 2019. Vol. 14, No 9. P. e0222765. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222765>.
8. Tishyn O. L., Khomiak R. V., Kopychuk G. T., Danko M. M., Ponomariova S. A. Bactericidal and disinfective properties of disinfectant «GK-10». *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*. 2018. Vol. 20, No 87. P. 3–7. DOI: <https://doi.org/10.15421/nvlvet8701>.
9. Комисарова Д., Бондар А., Лумедзе Т., Лумедзе І. Дезінфекція у тваринницькому приміщенні. *Аграрний вісник Причорномор'я*. 2023. № 108. С. 75–78. DOI: <https://doi.org/10.37000/abbsl.2023.108.10>.
10. Kukhtyn M., Kozhyn V., Horiuk V., Horiuk Y., Boltyk N. Evaluation of disinfectant «Enzidez» according to physical and chemical parameters. *Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies*. 2022. Vol. 24, No 105. P. 3–9. DOI: <https://doi.org/10.32718/nvlvet10501>.

11. Paliy A. P., Kovalenko L. V., Rodionova K. O., Pavlichenko O. V., Khimych M. S., Balta M. P. Pathomorphological changes in laboratory animals exposed to lethal doses of disinfectants. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2024. Vol. 15, No 1. P. 107–112. DOI: <https://doi.org/10.15421/022416>.
12. Jin M., Liu L., Wang D. N., Yang D., Liu W. L., Yin J., Yang Z. W., Wang H. R., Qiu Z. G., Shen Z. Q., Shi D. Y., Li H. B., Guo J. H., Li J. W. Chlorine disinfection promotes the exchange of antibiotic resistance genes across bacterial genera by natural transformation. *The ISME Journal*. 2020. Vol. 14, No 7. P. 1847–1856. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41396-020-0656-9>.
13. Zavgorodnii A. I., Pozmogova S. A., Kalashnyk M. V., Paliy A. P., Plyuta L. V., Paliy A. P. Etiological factors in triggering non specific allergic reactions to tuberculin in cattle. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. 2021. Vol. 12, No 2. P. 228–233. DOI: <https://doi.org/10.15421/022131>.
14. Hadzevych O. V., Paliy A. P., Stehniy B. T., Stehniy A. B., Chechet O. N., Hadzevych D. V., Paliy A. P., Pavlichenko O. V., Severyn R. V., Petrov R. V., Livoshchenko L. P. Antibiotic Resistance of Microbiotas of Fishery Enterprises Hydro Ecosystems. *Mikrobiolohichniy Zhurnal*. 2023. Vol. 84, No 4. P. 77–87. DOI: <https://doi.org/10.15407/microbiolj84.04.077>.
15. Vimbela G. V., Ngo S. M., Frazee C., Yang L., Stout D. A. Antibacterial properties and toxicity from metallic nanomaterials. *International Journal of Nanomedicine*. 2017. Vol. 12. P. 3941–3965. DOI: <https://doi.org/10.2147/ijn.s134526>.
16. Díez-Pascual A. M. Antibacterial Action of Nanoparticle Loaded Nanocomposites Based on Graphene and Its Derivatives: A Mini-Review. *International Journal of Molecular Sciences*. 2020. Vol. 21, No 10. P. 3563. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms21103563>.
17. Mitra D., Kang E.-T., Neoh K. G. Antimicrobial Copper-Based Materials and Coatings: Potential Multifaceted Biomedical Applications. *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2019. Vol. 12, No 19. P. 21159–21182. DOI: <https://doi.org/10.1021/acsami.9b17815>.
18. Tamayo L., Azocar M., Kogan M., Riveros A., Paez M. Copper-polymer nanocomposites: An excellent and cost-effective biocide for use on antibacterial surfaces. *Materials Science and Engineering: C*. 2016. Vol. 69. P. 1391–1409. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.08.041>.
19. Akhidime I. D., Saubade F., Benson P. S., Butler J., Olivier S., Kelly P., Verran J., Whitehead K. A. The antimicrobial effect of metal substrates on food pathogens. *Food and Bioprocess Technology*. 2019. Vol. 113. P. 68–76. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.09.003>.
20. Sánchez-Sanhueza G., Fuentes-Rodríguez D., Bello-Toledo H. Copper Nanoparticles as Potential Antimicrobial Agent in Disinfecting Root Canals: A Systematic Review. *International journal of odontostomatology*. 2016. Vol. 10, No 3. P. 547–554. DOI: <https://doi.org/10.4067/s0718-381x2016000300024>.
21. Maqsood S., Qadir S., Hussain A., Asghar A., Saleem R., Zaheer S., Nayyar N. Antifungal Properties of Copper Nanoparticles against *Aspergillus niger*. *Scholars International Journal of Biochemistry*. 2020. Vol. 03, No 04. P. 87–91. DOI: <https://doi.org/10.36348/sijb.2020.v03i04.002>.
22. Rico-Munoz E., Samson R. A., Houbraken J. Mould spoilage of foods and beverages: Using the right methodology. *Food Microbiology*. 2019. Vol. 81. P. 51–62. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.03.016>.
23. Velazquez-Herrera F. D., Fetter G., Rosato V., Pereyra A. M., Basaldella E. I. Effect of structure, morphology and chemical composition of Zn-Al, Mg/Zn-Al and Cu/Zn-Al hydrotalcites on their antifungal activity against *A. niger*. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 2018. Vol. 6, No 2. P. 3376–3383. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jece.2018.04.069>.
24. Person A. K., Chudgar S. M., Norton B. L., Tong B. C., Stout J. E. *Aspergillus Niger*: An Unusual Cause Of Invasive Pulmonary Aspergillosis. *American Thoracic Society 2010 International Conference, May 14-19, 2010 • New Orleans*. 2010. DOI: https://doi.org/10.1164/ajrccm-conference.2010.181.1_meetingabstracts.a4733.
25. Rubina M. S., Vasil'kov A. Y., Naumkin A. V., Shtykova E. V., Abramchuk S. S., Alghuthaymi M. A., Abd-Elsalam K. A. Synthesis and characterization of chitosan–copper nanocomposites and their fungicidal activity against two sclerotia-forming plant pathogenic fungi. *Journal of Nanostructure in Chemistry*. 2017. Vol. 7, No 3. P. 249–258. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40097-017-0235-4>.
26. Ветеринарна дезінфекція: інструкція та методичні рекомендації / за ред. О. М. Якубчак. Київ : Біопром, 2010. 152 с.
27. Коваленко В. Л. Методи контролю дезінфікуючих засобів: довідник. Київ, 2014. 160 с.
28. Методичні рекомендації. Визначення фунгіцидних властивостей та оптимальних режимів застосування дезінфікуючих засобів на тест-культурах роду *Aspergillus*. Київ : Державний комітет ветеринарної медицини України, 2009.
29. Дахно І. С., Дахно Ю. І. Екологічна гельмінтологія : навчальний посібник. Суми, 2010. 220 с.
30. Луценко Л. І., Веселий В. А., Темний М. В., Сумакова Н. В. Методичні рекомендації. Визначення дезінвазійних властивостей та оптимальних режимів застосування дезінфікуючих засобів на тест культурі *Ascaris suum*. Затв. наук-метод. радою Держ. комітету вет. медицини України (протокол № 1 від 23.12.2010 р.). Харків, 2011. 16 с.

INVESTIGATION OF THE BIOCIDAL PROPERTIES OF MIXTURES
OF BINARY METAL NANOPARTICLES (SILVER, ZINC, COPPER)

*Paliy A. P., Zavgorodniy A. I., Sumakova N. V., Yaroshenko M. O.,
Kolchuk O. V., Korneikov O. M., Kovalenko L. V.*

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine", Kharkiv, Ukraine

Belikov K. M., Varchenko V. V., Bunina Z. Yu.

*Scientific and Technical Center "Institute of Single Crystals"
of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kharkiv, Ukraine*

One of the most relevant areas of scientific support in the field of veterinary medicine is the development and comprehensive evaluation of the effectiveness of antimicrobial agents under current requirements and taking into account the spread of antibiotic-resistant strains of pathogens. Today, among the promising ways to expand the range of disinfectants to ensure effective general veterinary and sanitary, and antiepidemiological measures in livestock production is the use of modern chemical and biotechnologies, in particular those based on metal nanoparticles. The study aimed to investigate the spectrum of antimicrobial action of a mixture of binary nanoparticles of Ag, Zn, and Cu metals. The biocidal properties of the nanocomposite with a metal concentration of Ag — 367.2 mg/l, Zn — 287.76 mg/l, and Cu — 4.8 mg/l were studied on the model of cultures of enterobacteria *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, micromycetes *Aspergillus flavus* and larvae of helminths *Toxocara canis* using conventional methods. Microbiological studies have shown that the Ag-Zn-Cu nanocomposite exhibits bactericidal properties against the test cultures of *S. aureus* and *E. coli* and disinfects 100% of the test objects (tile, wood, cambric) contaminated by them at a concentration of 5.0% at an exposure time of 3 h and a concentration of 10.0% at an exposure time of 1 h. The Ag-Zn-Cu nanocomposite at a concentration of 5.0% with an exposure time of 1 h has a bacteriostatic effect on *S. aureus* and *E. coli*: on average, 98.2 and 99.4% of the cells were inactivated on tile, 95.3 and 97.5% on wood, and 98.4 and 99.1% on cambric, respectively. The nanocomposite at experimental concentrations (10.0–75.0% solution) at 20 ± 0.5 °C for 60, 120 and 180 min showed fungicidal properties against the test culture of *A. flavus*. In addition, a significant fungistatic effect against *A. flavus* was found with an 8.0% solution; a slight growth inhibition was observed with a 6.0% solution. The nanocomposite in 3.0 and 5.0% solutions showed neither fungicidal nor fungistatic properties under the above conditions. Treatment of the test culture with 5.0% and 10% solutions for 9, 12, 24, and 48 h affected the development of *T. canis* eggs and caused their death at the larval stage (larvae stopped moving and began to be destroyed). It was found that at an exposure time of 48 h and a concentration of 10.0%, the nanocomposite showed disinfestation activity, delaying the embryogenesis and invasive ability of larvae, and disinfested test objects contaminated with helminth eggs with high efficiency (up to 88.3–95.9%). The Ag-Zn-Cu nanocomposite exhibits bactericidal properties against the test cultures of enterobacteria *S. aureus* and *E. coli* and disinfects the test objects contaminated with them at a concentration of 5% at an exposure of 3 h and a concentration of 10.0% at an exposure of 1 h. The lowest concentration of the nanocomposite ensured complete inactivation of the *A. flavus* test culture at 20 ± 0.5 °C was 10%. The nanocomposite at a concentration of 10.0% for 24 and 48 h disinfects test objects contaminated with *T. canis* eggs and reduces the invasive ability of the larvae. Thus, the new data on the spectrum of biocidal action of metal nanoparticles make it possible to improve the development of innovative directions for controlling the level of pathogenic and opportunistic microorganisms in the environment.

Keywords: metal nanoparticles, concentration, exposure, test culture, antimicrobial properties

УДК 619:615.28:638.143.11

DOI [10.36016/VM-2024-110-23](https://doi.org/10.36016/VM-2024-110-23)

ЕФЕКТИВНІСТЬ ДЕЗІНФЕКЦІЇ ЗА УМОВ ЕКОЛОГІЧНОГО
ВИРОБНИЦТВА ПРОДУКЦІЇ БДЖІЛЬНИЦТВА

*Руденко Є. В., Сумакова Н. В., Руденко О. П.,
Санін Ю. К., Ємельянов А. В., Коваленко О. А.*

*Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної
ветеринарної медицини», Харків, Україна, e-mail: rud.ev.v@gmail.com*

Метою роботи було дослідження ефективності дезінфікуючих засобів з різними активніючими речовинами за екологічного виробництва продукції бджільництва на пасіках різних регіонів України. Дослідження проводили у виробничих умовах Харківської, Дніпропетровської та Полтавської областей у період з 2012 по 2022 рр. Усього в