

## ПРОТИБАКТЕРІАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ НАНОАКВАХЕЛАТНОГО КОМПЛЕКСУ «ШУМЕРСЬКЕ СРІБЛО» ПО ВІДНОШЕННЮ ДО ЗБУДНИКА ЄВРОПЕЙСЬКОГО ГНИЛЬЦЮ БДЖІЛ

*В. О. Постоєнко<sup>1</sup>, д-р с.-г. наук, професор,  
О. І. Гордієнко<sup>2</sup>, канд. с.-г. наук,  
О. О. Салганська<sup>2</sup>, старший науковий співробітник,  
В. Г. Каплуненко<sup>3</sup>, д-р техн. наук, професор,  
А. Г. Пащенко<sup>4</sup>, заступник директора,  
Т. М. Єфіменко<sup>1</sup>, канд. біол. наук,  
О. А. Воробій<sup>1</sup>, науковий співробітник*

<sup>1</sup>Національний науковий центр «Інститут бджільництва імені П. І. Прокоповича»,  
вул. Заболотного, 19, м. Київ, 03143, Україна

<sup>2</sup>Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів  
вул. Донецька, 30, м. Київ, 03151, Україна

<sup>3</sup>ТОВ «Наноматеріали і нанотехнології»  
вул. Васильківська, 27, м. Київ, 03027, Україна

<sup>4</sup>ТОВ «Інститут нанобіотехнологій»  
вул. Васильківська, 27, м. Київ, 03027, Україна

*Виділено і охарактеризовано польовий ізолят збудника європейського гнильцю бджіл - *Streptococcus pluton*, який використано для відпрацювання методики визначення *in vitro* протибактеріальних властивостей препаратів, що містять наноматеріали. Виявлено *in vitro* протибактеріальні властивості нанопрепарату «Шумерське срібло», який містить у своєму складі надчисті цитрати активних срібла з концентрацією 500 мг/л і міді - 500 мг/л. Показано, що діаметр зони затримки росту *Streptococcus pluton* складає 21 мм при застосуванні засобу у початковій концентрації і 18 мм – у розведенні 1:1. Обґрунтовано необхідність спрямування подальших досліджень на встановлення не токсичних концентрацій для бджіл та оптимальних доз протимікробної активності засобу «Шумерське срібло» по відношенню до збудників бактеріальних хвороб бджіл.*

**Ключові слова:** НАНОЧАСТИНКИ МЕТАЛІВ, «ШУМЕРСЬКЕ СРІБЛО», ПРОТИБАКТЕРІАЛЬНІ ВЛАСТИВОСТІ, ЄВРОПЕЙСЬКИЙ ГНИЛЕЦЬ БДЖІЛ, БАКТЕРІАЛЬНІ ХВОРОБИ БДЖІЛ

Нині застосування антибіотиків для лікування бактеріальних хвороб бджіл наносить суттєвої шкоди їх здоров'ю та забруднює отриману продукцію. Тому сучасним напрямом досліджень є розроблення і впровадження у практику бджільництва ефективних, екологічно безпечних препаратів з протимікробними властивостями. До них відносять засоби, що містять наноматеріали. Вони використовуються в значно менших дозах, порівняно з аналогами неорганічної і органічної природи, що спрощує завдання підбору не токсичних концентрацій, володіють біодоступністю і пролонгованістю дії [1].

Відомо про проведені дослідження стосовно застосування мікроелементів, одержаних на основі нанотехнологій, у бджільництві. Виявлено позитивний вплив підгодовлі борошном сої з додаванням наноцитрату хрому на репродуктивну здатність бджолиних маток [2], цитратів германію та селену – на мінеральний склад і ліпідні компоненти тканин медоносних

бджіл [3, 4]. Проте, в літературних джерелах практично відсутні дані про протимікробні властивості нанозасобів і їх застосування для профілактики і лікування інфекційних хвороб бджіл.

Раніше розроблено, затверджено в установленому порядку і виробляється ТОВ «Наноматеріали і нанотехнології» (м. Київ) наноаквахелатний комплекс «Шумерське срібло». Діючими речовинами засобу є надчисті цитрати активних срібла з концентрацією 500 мг/л і міді – 500 мг/л. При цьому засіб не містить вільних (не зв'язаних) металевих наночастинок, що виключає проблему токсичності. Рекомендовані робочі розчини препарату відносяться до 4 класу небезпеки і не проявляють побічної дії – алергенної, мутагенної, канцерогенної, ембріостатичної, гонадотоксичної, тератогенної. Показано, що «Шумерське срібло» має широкий спектр протимікробної дії по відношенню до багатьох патогенних мікроорганізмів різних видів тварин [1, 5, 6]. Разом з тим, його протимікробні властивості по відношенню до збудників інфекційних хвороб бджіл залишаються не вивченими.

Метою роботи є дослідження *in vitro* протимікробних властивостей наноаквахелатного комплексу «Шумерське срібло» до збудника європейського гнильцю бджіл.

**Матеріали і методи.** З патологічного матеріалу – 3-4 денних личинок відкритого розплоду з характерними ознаками європейського гнильцю бджіл виділено польовий ізолят збудника – *Melissococcus (Streptococcus) pluton*. Для цього з патологічного матеріалу робили змиви фізіологічним розчином або м'ясо-пептонним бульйоном (МПБ). Для отримання добової культури змиви інкубували на поживному середовищі МПБ в термостаті при 37°С протягом 24 годин. При висіванні на м'ясо-пептонний агар (МПА) спостерігали ріст культури у вигляді матового сіро-білого газону через добу з неприємним специфічним запахом. Видову ідентифікацію виділеного ізоляту визначали відомими методами за культурально-морфологічними, мікроскопічними та біохімічними показниками (на діагностичних середовищах з цукрами Гіса) [7]. Отримані нами основні диференційні ознаки досліджуваного ізоляту наведено у табл. 1, які дозволили попередньо ідентифікувати його як збудника європейського гнильцю бджіл – *Streptococcus pluton*.

Таблиця 1

Видові ознаки *Streptococcus pluton*

Морфологія колоній	Морфологія клітин	Біохімічні ознаки	Примітка
Дрібні, круглі, випуклі, зернисті, матового білого кольору діаметром 1-1,6 мкм.	Коки подовженої, ланцетовидної або коротких паличок форми, зібрані в неправильні розетки, при фарбуванні за Грамом - грам-позитивні клітини.	Ферментує: глюкозу, фруктозу без утворення газу. Не ферментує: сахарозу, галактозу, лактозу, мальтозу, рафінозу, рамнозу, маніт, сорбіт, інозит, ксилозу, гліцерин, крохмаль.	При культивуванні в рідкому середовищі через дві доби випадає аморфний осад.

Відпрацьовано методику визначення *in vitro* протибактеріальних властивостей препаратів, що містять наноматеріали. Посівну суспензію *Streptococcus pluton* готували зі змиву культури фізіологічним розчином концентрацією  $1 \times 10^9$  клітин/мл. У чашках Петрі з твердими поживними середовищами робили лунки, наносили по 2 мл / на чашку посівної суспензії *Streptococcus pluton*. Після цього у лунки в чашках Петрі вносили по 0,3 мл фізіологічного розчину (контроль) і досліджуваного препарату різної концентрації – не розведений та у розведеннях: 1:1, 1:5, 1:10, 1:100, 1:250, 1:500. Посіви культивували при 25 °С протягом 2 діб. Досліджувані активності наноаквахелатного препарату «Шумерське срібло» визначали за діаметром зони затримки росту збудника, в мм. Цифрові дані опрацьовували статистично з використанням комп'ютерної програми Microsoft Excel.

**Результати й обговорення.** Встановлено, що засіб «Шумерське срібло», що містить наночастинки срібла і міді, проявив *in vitro* значні протибактеріальні властивості по відношенню до збудника європейського гнильцю бджіл - *Streptococcus pluton* (рис. 1, 2).

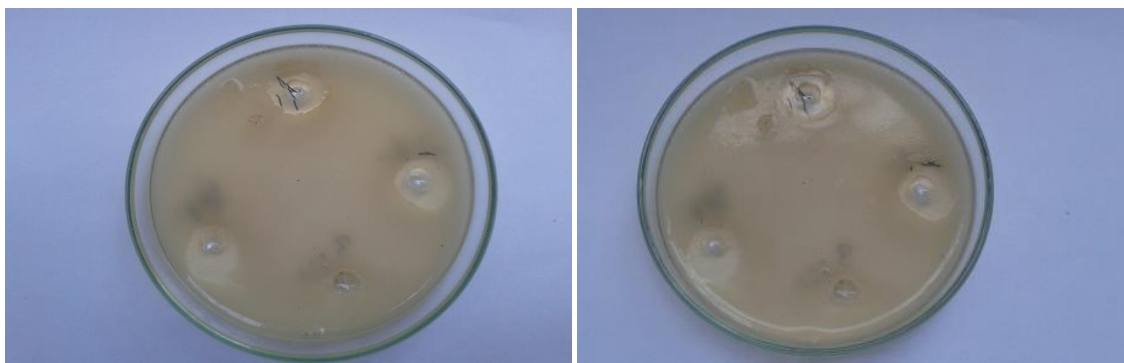


Рис. 1. Діаметр зони затримки росту *Streptococcus pluton* нанозасобом «Шумерське срібло» з концентрацією срібла – 500 мг/л і міді – 500 мг/л

Рис. 2. Діаметр зони затримки росту *Streptococcus pluton* нанозасобом «Шумерське срібло» з концентрацією срібла – 250 мг/л і міді – 250 мг/л

Відомо, що протимікробні властивості наночасток металів залежать, насамперед, від способу одержання та їх фізико-хімічних характеристик [1, 8]. В наших дослідженнях використано наноаквахелатний комплекс надчистих цитратів активних срібла і міді, одержаних за допомогою електронно-імпульсної нанотехнології [1]. Отримані дані свідчать про протимікробну дію засобу «Шумерське срібло» по відношенню до збудника європейського гнильцю бджіл – *Streptococcus pluton* у концентраціях 250–500 мг/л срібла і міді – 250–500 мг/л. Значні протимікробні властивості досліджуваного препарату підтверджено іншими авторами, встановленими при використанні ними широкого кола музейних штамів та ізолятів – збудників інфекційних хвороб інших видів тварин [1, 5, 6].

Як видно з таблиці 2, діаметр зони затримки росту *Streptococcus pluton* складає 21 мм при застосуванні засобу у початковій концентрації і 18 мм у розведенні 1:1.

Таблиця 2

**Протибактеріальні властивості засобу «Шумерське срібло» по відношенню до збудника європейського гнильцю бджіл - *Streptococcus pluton*, n=3**

№ п/п	Концентрація засобу, мг/л	Об'єм в лунці, мл	Діаметр зони затримки росту <i>Streptococcus pluton</i> , мм
1	Контроль	0,3 – фізіологічного розчину	0
2	Початкова	0,3 - засобу	21± 0,7*
3	У розведенні 1:1	0,3 - засобу	18± 0,5*
4	У розведенні 1:5	0,3 - засобу	0

Примітка: \* $p < 0,05$

З літературних джерел відомо, що за спільного впливу наночасток срібла і міді діаметр зони затримки росту для різних культур мікроорганізмів, визначених методом дифузії з лунок, знаходиться в межах 13–25 мм. Порівняльним аналізом встановлено, що наведена активність є значно нижчою за значення, отримані при використанні методу серійних розведень у бульйоні [1].

Таким чином, для встановлення робочих концентрацій протимікробної активності по відношенню до збудника європейського гнильцю бджіл засобу «Шумерське срібло» необхідно продовжити дослідження з використанням методу серійних розведень у бульйоні та визначення його токсичних властивостей.

## ВИСНОВКИ

1. Виділено і охарактеризовано польовий ізолят збудника європейського гнильцю бджіл *Streptococcus pluton*.

2. Відпрацьовано методику визначення *in vitro* протибактеріальних властивостей препаратів, що містять наноматеріали.

3. Виявлено *in vitro* протибактеріальні властивості нанопрепарату «Шумерське срібло». Показано, що діаметр зони затримки росту *Streptococcus pluton* складає 21 мм при застосуванні засобу у початковій концентрації і 18 мм у розведенні 1:1.

**Перспективи досліджень.** Подальші дослідження необхідно направити на встановлення нетоксичних концентрацій для бджіл та оптимальних доз протимікробної активності засобу «Шумерське срібло» по відношенню до збудників бактеріальних хвороб бджіл.

### ANTI-BACTERIAL PROPERTIES OF THE NANOACQUACHELATE COMPLEX "SHUMERIAN SILVER" AT THE RELEVANCE OF THE EUROPEAN ROT OF BEES

V. O. Postoienko<sup>1</sup>, O. I. Gordienko<sup>2</sup>, O. O. Salganska<sup>2</sup>, V. G. Kaplunenko<sup>3</sup>, A. G. Pashchenko<sup>4</sup>,  
T. M. Efimenko<sup>1</sup>, O. A. Vorobiy<sup>1</sup>

<sup>1</sup>National Scientific Center "Beekeeping Institute named after P. I. Prokopovich",  
19, Zabolotnogo str., Kyiv, 03143, Ukraine

<sup>2</sup>State Scientific Control Institute of Biotechnology and Strains of Microorganisms  
30, Donetska str., Kiev, 03151, Ukraine

<sup>3</sup>Ltd. "Nanomaterials and nanotechnology"  
27, Vasilkovska str., Kiev, 03027, Ukraine

<sup>4</sup>Ltd. "Institute of Nanobiotechnology"  
27, Vasilkovska str., Kiev, 03027, Ukraine

## S U M M A R Y

Selected and characterized files isolate of the pathogen of European rot of bees - *Streptococcus pluton*, which is used for working out the method of *in vitro* determination of antibacterial properties of preparations containing nanomaterials. *In vitro* have been revealed antibacterial properties of nanopreparation "Shumerian silver", which contains in its composition extracts of active silver citrates with a concentration of 500 mg / l and copper - 500 mg / liter. It has been shown that the *Streptococcus pluton* growth retardation diameter is 21 mm when used at initial concentration and 18 mm in dilution 1: 1. The necessity of direction of further researches on establishment of non-toxic concentrations for bees and optimal doses of antimicrobial activity of "Shumerian silver" means in relation to pathogens of bacterial diseases of bees has been substantiated.

**Keywords:** NANOPARTICLES OF METALS, "SHUMERIAN SILVER", ANTI-BACTERIAL PROPERTIES, EUROPEAN ROT OF BEES, BACTERIAL DISEASES OF BEES.

# ПРОТИВОБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА НАНОАКВАХЕЛАТНОГО КОМПЛЕКСА «ШУМЕРСКОЕ СЕРЕБРО» ПО ОТНОШЕНИЮ К ВОЗБУДИТЕЛЮ ЕВРОПЕЙСКОГО ГНИЛЬЦА ПЧЕЛ

В. А. Постоечко<sup>1</sup>, О. И. Гордиенко<sup>2</sup>, Е. А. Салганская<sup>2</sup>, В. Г. Каплуненко<sup>3</sup>, А. Г. Пащенко<sup>4</sup>,  
Т. М. Ефименко<sup>1</sup>, Е. А. Воробий<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Национальный научный центр «Институт пчеловодства имени П. И. Прокоповича»,  
ул. Заболотного, 19, Киев, 03143, Украина

<sup>2</sup>Государственный научно-контрольный институт биотехнологии и штаммов  
микроорганизмов  
ул. Донецкая, 30, г. Киев, 03151, Украина

<sup>3</sup>ООО "Наноматериалы и нанотехнологии"  
ул. Васильковская, 27, г. Киев, 03027, Украина

<sup>4</sup>ООО «Институт нанобиотехнологий»  
ул. Васильковская, 27, г. Киев, 03027, Украина

## А Н Н О Т А Ц И Я

Выделен и охарактеризован полевой изолят возбудителя европейского гнильца пчел – *Streptococcus pluton*, который использован для отработки методики определения *in vitro* противобактериальных свойств препаратов, содержащих наноматериалы. Выявлены *in vitro* противобактериальные свойства нанопрепарата «Шумерское серебро», который содержит в своем составе сверхчистые цитраты активных серебра с концентрацией 500 мг/л и меди – 500 мг/л. Показано, что диаметр зоны задержки роста *Streptococcus pluton* составляет 21 мм при использовании средства в начальной концентрации и 18 мм при разведении 1:1. Обоснована необходимость дальнейших исследований, направленных на подбор не токсических концентраций для пчел и оптимальных доз противомикробной активности средства «Шумерское серебро» по отношению к возбудителям бактериальных болезней пчел.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** НАНОЧАСТИЦЫ МЕТАЛЛОВ, «ШУМЕРСКОЕ СЕРЕБРО», ПРОТИВОБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА, ЕВРОПЕЙСКИЙ ГНИЛЕЦ ПЧЕЛ, БАКТЕРИАЛЬНЫЕ БОЛЕЗНИ ПЧЕЛ.

## Л І Т Е Р А Т У Р А

1. Наноматериалы и нанотехнологии в ветеринарной практике / [Борисевич В. Б., Каплуненко В. Г., Косинов Н. В. и др.] : под ред. В.Б. Борисевича, В.Г. Каплуненко. – К.: ВД «Авіцена». 2012. – 512 с.

2. Романів Л. І. Репродуктивна здатність бджолиних маток за підгодівлі борошном сої з додаванням хрому / Л. І. Романів, Р. С. Федорук // Вісник аграрної науки Причорномор'я. – 2013. – Т. 4, № 76. – С. 2 – 7.

3. Вплив цитратів германію та селену на вміст ліпідів і важких металів в організмі медоносних бджіл / Р. С. Федорук, І. І. Ковальчук, Л. І. Романів [та ін.] // Біологія тварин. – 2014. – Т.16, № 2. – С. 141 – 147.

4. Ковальчук І. І. Мінеральний склад тканин медоносних бджіл за умов згодовування цитрату германію / І. І. Ковальчук, Р. С. Федорук, А. Г. Пащенко // Фізіологічний журнал. — 2014. – Т.60, №3. – С.229.

5. Ефективність застосування комплексного дезінфікуючого засобу «Шумерське срібло» у свинарстві / В. Б. Борисевич, В. Г. Каплуненко, Л. М. Ковальчик [та ін.] // Науково-

технічний бюлетень Інституту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. – 2012. - Вип.13, № 3-4. – С. 107 – 113.

6. Застосування дезінфікуючого засобу «Шумерське срібло» у птахівництві / В. Б. Борисевич, В. Г. Каплуненко, Л. М. Ковальчик [та ін.] // Науково-технічний бюлетень Інституту біології тварин і ДНДКІ ветпрепаратів та кормових добавок. – 2012. - Вип.13, № 3-4. – С. 114 – 121.

7. *Галатюк О. Є.* Хвороби бджіл та основи бджільництва / Галатюк О. Є. – Житомир: Полісся, 2017. – 300 с.

8. *Theivasanthi T.* Studies of silver nanoparticles effects on microorganisms / T. Theivasanthi, M. Alagar // Ann. Biol. Res. – 2011. –V. 2, № 3. – P. 82–87.

**Рецензент** – В. В. Чумаченко, д. вет. н., Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів.