

ВЛИЯНИЕ НАНОЧАСТИЦ СЕРЕБРА НА БАКТЕРИЦИДНУЮ АКТИВНОСТЬ И АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ *SALMONELLA ENTERITIDIS* 182

✉ Шкиль Н.Н., Нефедова Е.В.

Сибирский федеральный научный центр агробиотехнологий Российской академии наук

Новосибирская область, р.п. Краснообск, Россия

✉ e-mail: nicola07@mail.ru

Проведены исследования по определению синергетического эффекта применения комбинаций антибактериальных веществ, включающих антибиотики, дезинфектант септабик и AgNPs. Выявлен значительный рост бактерицидной активности в комбинации септабик + AgNPs + нитокс и септабик + AgNPs + цефтиофур. Определение чувствительности *Salmonella enteritidis* 182 к антибактериальным препаратам показало наличие устойчивости к 8 (38,1%) препаратам, малой чувствительности – к 7 (33,3%), чувствительности – к 6 (28,6%) и отсутствие препаратов с высокой чувствительностью. После культивирования *S. enteritidis* 182 с антибактериальными препаратами и их комбинациями установлено увеличение количества лекарственных средств, к которым изучаемый штамм был чувствителен. Наличие чувствительности выявлено к 7–10 препаратам, что на 4,7–19,6% больше, чем в контрольных показателях. Установлена ранее отсутствовавшая высокая чувствительность к 2–8 (9,5–38,0%) антибактериальным препаратам. Культивирование *S. enteritidis* 182 с AgNPs показало наивысший рост антибиотикочувствительности из всех изучаемых комбинаций антибактериальных средств в виде увеличения размера задержки роста. Это дает основание предположить о ведущей роли AgNPs в преодолении антибиотикорезистентности. Инкубирование *S. enteritidis* 182 после контакта с септабиком и арговитом вызвало максимальное увеличение диаметра задержки роста микроорганизма без снижения показателя к отдельным видам препаратов (за исключением септабика, где установлена утрата чувствительности к тилозину). При добавлении различных антибиотиков к комбинации септабик + арговит отмечены факты снижения зоны задержки роста или его исчезновения. Описан комбинированный эффект сочетанного применения антибактериальных препаратов и наночастиц серебра в отношении бактерий с множественной лекарственной устойчивостью.

Ключевые слова: наночастицы серебра, *Salmonella enteritidis*, антибиотики, антибиотикорезистентность, AgNPs, септабик

EFFECT OF SILVER NANOPARTICLES ON BACTERICIDAL ACTIVITY AND ANTIBIOTIC SENSITIVITY OF *SALMONELLA ENTERITIDIS* 182

✉ Shkil N.N., Nefedova E.V.

Siberian Federal Scientific Centre of Agro-BioTechnologies of the Russian Academy of Sciences

Krasnoobsk, Novosibirsk region, Russia

✉ e-mail: nicola07@mail.ru

Studies have been carried out to determine the synergetic effect of the use of combinations of antibacterial substances, including antibiotics, septabic disinfectant and AgNPs. A significant increase in bactericidal activity was revealed in the combination of septabic + AgNPs + nitox and septabic + AgNPs + ceftiofur. Determination of the sensitivity of *Salmonella enteritidis* 182 to antibacterial drugs showed the presence of resistance to 8 drugs (38.1%), low sensitivity to 7 (33.3%), sensitivity to 6 (28.6%) and the absence of preparations with high sensitivity indicators. After cultivation of *S. enteritidis* 182 with antibacterial drugs and their combinations, an increase in the number of preparations to which the studied strain was sensitive was found. The presence of sensitivity to 7–10 drugs was revealed, which is 4.7–19.6% higher than in the control indicators. A previously absent high sensitivity to 2–8 antibacterial drugs (9.5–38.0%) was established. The cultivation of *S. enteritidis* 182 with AgNPs showed the highest increase in antibiotic sensitivity of all the studied combinations of antibacterial agents in the form of the growth inhibition size increase. This suggests

a leading role of AgNPs in overcoming antibiotic resistance. Incubation of *S. enteritidis* 182 after contact with septabic and argovite caused a maximum increase in the diameter of the growth inhibition of the microorganism without decreasing sensitivity to certain types of drugs (with the exception of septabic, where the loss of sensitivity to tylosin was established). When adding various antibiotics to the combination of septabic + argovit, a decrease in the growth inhibition zone or its disappearance were noted. The combined effect of the use of antibacterial drugs together with silver nanoparticles against bacteria with multidrug resistance is described.

Keywords: silver nanoparticles, *Salmonella enteritidis*, antibiotics, antibiotic resistance, AgNPs, septabik

Для цитирования: Шкиль Н.Н., Нефедова Е.В. Влияние наночастиц серебра на бактерицидную активность и антибиотикочувствительность *Salmonella enteritidis* 182 // Сибирский вестник сельскохозяйственной науки. 2021. Т. 51. № 3. С. 82–91. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2021-3-9>

For citation: Shkil N.N., Nefedova E.V. Effect of silver nanoparticles on bactericidal activity and antibiotic sensitivity of *Salmonella enteritidis* 182. *Sibirskii vestnik sel'skokhozyaistvennoi nauki* = *Siberian Herald of Agricultural Science*, 2021, vol. 51, no. 3, pp. 82–91. <https://doi.org/10.26898/0370-8799-2021-3-9>

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Широкое применение антибактериальных препаратов в животноводстве привело к росту количества изоляции антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов. Это значительно снизило эффективность химиотерапии и создало условия для передачи антибиотикорезистентных генов через продукты животного происхождения человеку. В 2001 г. ВОЗ ООН признала проблему антибиотикорезистентности глобальной и разработала ряд мероприятий, направленных на ограничение возникновения и распространения данного явления, которое в равной степени затрагивает как медицинскую, так и ветеринарную сферу оказания услуг. Устойчивые к карбапенемам микроорганизмы семейства Enterobacteriaceae рассматриваются как угроза общественному здравоохранению. Важнейшим каналом формирования этой устойчивости являются штаммы бактерий, выделенные от крупного рогатого скота. Ущерб в США от инфекций, вызываемых антибиотикостойкими микроорганизмами, оценивается в 55–70 млрд

дол., аналогичные потери в Европе превышают 1,5 млрд евро в год^{1,2} [1].

Особую опасность представляет группа возбудителей кишечных инфекционных болезней рода *Salmonella*, способных вызывать патологии у животных и птицы и пищевые токсикоинфекции у человека. С учетом дополнительных рисков, которые создают персистирующие возбудители, связанные с наличием антибиотикорезистентных генов, проблема инфекционных патологий приобретает угрожающий характер и требует незамедлительных решений.

В настоящее время проводят исследовательские работы по созданию ветеринарных препаратов, не содержащих антибиотики, но обладающих антибактериальными свойствами. Один из известных способов лечения и профилактики инфекционных болезней – применение препаратов серебра. Широкое использование данные препараты получили при лечении желудочно-кишечных болезней человека и животных, акушерско-гинекологических (мастит, эндометрит) патологий крупного рогатого скота, а также лечения ран, язв, пролежней в хирургической прак-

¹World Health Organization. WHO Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. Geneva, 2001. WHO/CDS/CSR/DRS/2001.2.

²Стратегия предупреждения распространения антимикробной резистентности: распоряжение Правительства Российской Федерации № 2045-р от 25.09.2017.

тике³ [2–5]. Проведенные исследования выявили наряду с бактерицидными свойствами препаратов серебра наличие у наночастиц серебра (AgNPs) возможности преодоления и снижения антибиотикорезистентности условно-патогенной и патогенной микрофлоры⁴. Получен положительный опыт применения дезинфектантов в качестве лекарственных средств антибактериальной направленности (экоцид при оральном применении), что открывает перспективы использования данных препаратов в качестве лечебных средств [6]. В связи с этим возникает потребность изучения наличия возможных синергетических свойств при совместном применении антибактериальных препаратов различных фармакологических групп.

Изучение влияния коллоидного серебра на морфологию и развитие популяций клеток *Salmonella enteritidis* с применением метода сканирующей электронной микроскопии показало, что AgNPs в невысоких концентрациях способствует частичному разрушению клеточной стенки бактерий, препятствует нормальному делению клеток, инициирует процессы гетероморфизма. Однако при этом популяция *S. enteritidis* остается жизнеспособной. Попадая в благоприятную среду, она полностью восстанавливает свои морфологические свойства и возможность роста и развития (бактериостатический эффект). В высоких концентрациях AgNPs вызывает стремительную гибель клеток в популяции. Таким образом, бактерицидный эффект растворов коллоидного серебра напрямую зависит от концентрации в них наночастиц. Чем выше их концентрация, тем глубже поражение клеточных структур, тем более выражен дезинфицирующий эффект применяемого препарата [7].

Установлено, что наноразмерные системы способны не только улучшать терапевтическую активность антибактериальных агентов, но и сдерживать стимуляцию

устойчивости путем преодоления разработанных бактериями стратегий устойчивости, включающих разложение лекарственного средства под действием β -лактамазы, утолщение стенок бактериальных клеток [8]. Синергетический эффект AgNPs в сочетании с гентамицином в отношении бактерий *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi* и *Staphylococcus aureus* показал значительное увеличение диаметра (до 26–34 мм) зон задержки роста бактерий [9].

Цель исследования – изучить бактерицидные свойства различных комбинаций антибактериальных препаратов и их влияние на возможность преодоления антибактериальной резистентности у *S. enteritidis* 182.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для изучения использовали содержащий AgNPs (12–14 мкг/мл) препарат арговит; цефтимаг, в 1 мл в качестве действующего вещества содержащий цефтиофура гидрохлорид 100 мг; в качестве вспомогательных веществ – метилового эфира параоксибензойной кислоты 1,8 мг, пропилового эфира параоксибензойной кислоты 0,2 мг и пропиленгликоля дикаприлата/дикапрата до 1 мл; окситетрациклин в виде 10%-го водного раствора; энрофлоксацин, содержащий 50 мг энрофлоксацина в 1 мл; гентамицин, содержащий гентамицина сульфата 40 мг в 1 мл; нитокс, в 1 мл лекарственного препарата в качестве действующего вещества содержащий 200 мг окситетрациклина дигидрата; вспомогательные компоненты – магния оксид, N,N-диметилацетамид, ронгалит, моноэтаноламин и вода для инъекций; азитромицин в виде азитромицина цитрата, полученный из азитромицина дигидрата, 100 мг в 1 мл; вспомогательные вещества – кислоты лимонной моногидрат, натрия гидроксид, вода для инъекций.

³Благитко Е.М., Бугайченко Н.В., Шорина Г.Н. и др. Результаты местного применения арголита и гидропента-серебросодержащих препаратов на естественной минеральной основе // Нанотехнологии и наноматериалы для биологии и медицины: материалы науч.-практ. конф. с междунар. участием: в 2 ч. Новосибирск, 2007. Ч. 2. С. 39–49.

⁴Мамонова И.А. Влияние наночастиц переходной группы металлов на антибиотико-резистентные штаммы микроорганизмов: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2013. 21 с.

Дезинфектант септабик содержит действующее вещество – клатрат дидецилдиметиламмоний бромида с мочевиной, который активен в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий (включая микобактерии туберкулеза), дерматофитов, дрожжеподобных грибов рода кандиды, вируса гепатита В, ВИЧ, вирусов гриппа, парагриппа⁵.

Определение чувствительности микроорганизмов референтного штамма *S. enteritidis* ATCC 182 к антибактериальным веществам и их сочетаниям определяли из разведения с минимальной бактериостатической концентрацией, 0,2 мл которого вносили на МПА и дискодиффузионным методом определяли антибиотикочувствительность микроорганизмов.

Определение чувствительности проводили к 21 антибактериальному препарату при последующем инкубировании в течение 24 ч при температуре $37,5 \pm 0,5$ °C. Чувствительность микроорганизмов к антибиотикам определяли по степени задержки диаметра роста вокруг диска: до 10 мм – устойчивые, до 15 – малочувствительные, до 20 – чувствительные, более 20 мм – высокочувствительные⁶.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Определение бактерицидной активности антибактериальных препаратов в комбинации с AgNPs и дезинфектантом септабик обосновано возможным его применением при лечении инфекционных патологий ввиду приемлемых параметров острой токсичности, который относится к 3-му классу (ГОСТ 12.1.007–76) умеренно опасных соединений при введении в желудок, к 4-му классу малоопасных соединений при нанесении на кожу и при ингаляционном воздействии в насыщающей концентрации. AgNPs обладает слабым сенсibiliзирующим действием⁷.

Проведенные исследования по определению синергетического эффекта применения комбинаций антибактериальных веществ, включающих антибиотики, препарат дезинфектанта и AgNPs, показали значительный рост бактерицидной активности в комбинации септабик + AgNPs + нитокс и септабик + AgNPs + цефтиофур (см. табл. 1).

Определение чувствительности *S. enteritidis* 182 к антибактериальным препаратам показало наличие устойчивости к 8 (38,1%), малой чувствительности – к 7 (33,3%), чувствительности – к 6 (28,6%) и отсутствие препаратов с высокой чувствительностью. После культивирования *S. enteritidis* 182 с антибактериальными препаратами и их комбинациями установлено увеличение количества лекарственных средств, к которым изучаемый штамм был чувствителен. Наличие чувствительности выявлено к 7–10 препаратам, что на 4,7–19,6% больше, чем в контрольных показателях. Установлена ранее отсутствовавшая высокая чувствительность

Табл. 1. Чувствительность *S. enteritidis* 182 к антибактериальным препаратам и их комбинациям

Table 1. Sensitivity of *S. enteritidis* 182 to antibacterial drugs and their combinations

Препарат	Концентрация, мкг/мл		
	AgNPs	Септабик	Антибиотик
AgNPs	115	–	–
Септабик	–	312	–
Септабик + AgNPs	0,2	156	–
Септабик + AgNPs + окситетрациклин	0,1	0,78	0,78
Септабик + AgNPs + азитромицин	0,05	0,39	0,39
Септабик + AgNPs + гентамицин	0,05	0,39	0,39
Септабик + AgNPs + энрофлоксацин	0,05	0,39	0,39
Септабик + AgNPs + нитокс	0,00125	0,0975	0,0975
Септабик + AgNPs + цефтиофур	0,00125	0,0975	0,0975

⁵https://infodez.ru/product/1452_septabik.html

⁶Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания МУК 4.2. 1890-04, ЦНИИЭ. М., 2004. 101 с.

⁷https://infodez.ru/product/1452_septabik.html

к 2–8 (9,5–38,0%) антибактериальным препаратам (см. табл. 2).

Культивирование *S. enteritidis* 182 с AgNPs показало наивысший рост антибиотикочувствительности из всех изучаемых комбинаций антибактериальных средств в виде наибольшего размера задержки роста микроорганизма, что дает основание предположить о ведущей роли AgNPs в преодолении антибиотикорезистентности. Инкубирование *S. enteritidis* 182 после контакта с септабиком и арговитом вызывало максимальное увеличение диаметра задержки роста микроорганизма без снижения показателя к отдельным видам препаратов (за исключением септабика, где установлена утрата чувствительности к тилозину). При добавлении различных антибиотиков к комбинации септабик + арговит отмечены факты снижения зоны задержки роста или его исчезновения. Так, энрофлоксацин снижал диаметр задержки роста микроорганизма или приводил к его исчезновению к 6 (28,6%) препаратам, окситетрациклин, гентамицин – к 4 (19,0%), нитокс, цефтиофур, азитромицин – к 2 (9,5%). В данных случаях во всех комбинациях отмечена утрата чувствительности к тилозину и неомицину при добавлении к комбинации септабик + арговит азитромицина, энрофлоксацина, нитокса и цефтиофура (см. табл. 3, 4).

Результаты проведенных исследований свидетельствуют о наличии синергетических свойств сочетанного применения антибактериальных препаратов и подтверждают ранее проведенные исследования других авторов. Описан комбинированный эффект сочетанного применения антибактериальных препаратов и наночастиц серебра в отношении бактерий с множественной лекарственной устойчивостью. Установлено, что синергетический эффект антибиотиков ципрофлоксацина, имипенема, гентамицина, ванкомицина, триметоприма и наночастиц привел к увеличению антибактериальной активности в 0,2–7,0 раза (в среднем в 2,8). Это показывает, что наночастицы могут эффективно использоваться в сочетании с антибиотиками для повышения их эффективности против различных патогенных микроорганизмов [10]. Установлен антибактериальный эффект сочетанного применения AgNPs и ванкомицина в отношении *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Streptococcus pneumonia* [11].

Синергетическая антибактериальная активность в сочетании AgNPs с тетрациклином, неомицином и пенициллином испытана против антибиотикорезистентной *S. typhimurium* DT104. Отмечено дозозависимое ингибирование роста бактерий *S. typhimurium* DT104 для комплексов тетрациклин – AgNPs и неомицин – AgNPs (0,07 и

Табл. 2. Изменение чувствительности *S. enteritidis* 182 после контакта с антибактериальными средствами и их комбинациями

Table 2. Changes in the sensitivity of *S. enteritidis* 182 after contact with antibacterial agents and their combinations

Препарат	Количество препаратов							
	У	%	М	%	Ч	%	В	%
Арговит	1	4,8	3	14,3	12	57,1	5	23,8
Септабик	4	19,0	2	9,5	10	47,6	5	23,8
Септабик + AgNPs	3	14,3	2	9,5	10	47,6	6	28,6
Септабик + AgNPs + окситетрациклин	8	38,0	3	14,3	7	33,3	3	14,3
Септабик + AgNPs + азитромицин	3	14,3	2	9,5	8	38,0	8	38,0
Септабик + AgNPs + гентамицин	7	33,3	2	9,5	9	42,74	3	14,3
Септабик + AgNPs + энрофлоксацин	12	57,0	–	–	7	33,3	2	9,5
Септабик + AgNPs + нитокс	4	19,0	1	4,75	10	47,6	6	28,6
Септабик + AgNPs + цефтиофур	6	28,6	3	14,3	8	38,0	4	19,0

Примечание. У – устойчивые, М – малочувствительные, Ч – чувствительные, В – высокочувствительные.

Табл. 3. Изменение зоны задержки роста *S. enteritidis* 182 после контакта с антибактериальными препаратами и их комбинациями**Table 3.** Changes in the growth inhibition zone of *S. enteritidis* 182 after contact with antibacterial drugs and their combinations

Препарат	Контрольная группа	Септабик	%	Септабик + AgNPs	%	Септабик + AgNPs + окситетрацилин	%	Септабик + AgNPs + азитромицин	%	Септабик + AgNPs + гентамицин	%
Ампициллин/сульфабактам	–	–	–	21	100	–	–	11	100	–	–
Ампициллин	15	20	33,3	22	46,7	14	–6,7	21	40	–	–100
Амикацин	–	21	100	20	100	20	100	22	100	20	100
Бензилпенициллин	–	–	–	19	100	–	–	–	–	–	–
Гентамицин	15	18	20	16	6,7	20	33,3	20	33,3	20	33,3
Доксициклин	15	13	–13,3	16	6,7	–	–100	16	6,7	13	–13,3
Полимиксин	–	15	100	19	100	–	–	15	100	15	100
Карбециллин	20	21	5	21	5	21	5	25	25	23	15
Норфлоксацин	–	24	100	–	–	23	100	21	100	22	100
Неомицин	16	18	12,5	18	12,5	18	12,5	–	–100	20	25
Энрофлоксацин	17	18	5,9	18	5,9	20	17,6	22	29,4	20	17,6
Ципрофлоксацин	20	25	25	23	100	21	5	21	5	25	25
Тетрациклин	–	20	100	15	100	14	100	18	100	17	100
Окситетрациклин	15	18	20	13	13,3	13	–13,3	17	13,3	18	20
Линкомицин	–	16	100	–	–	–	–	20	100	–	–
Тилозин	15	–	–100	21	27,0	–	–100	–	–100	–	–100
Левомецетин	15	20	33,3	16	6,7	16	6,7	22	46,7	20	33,3
Стрептомицин	15	20	33,3	18	20	20	33,3	21	40	16	6,7
Тикарциллин/клавулановая кислота	19	20	5,3	24	26,3	16	–15,8	20	5,3	–	–100
Офлоксацин	16	23	43,7	17	6,2	–	–100	20	25	17	6,2
Рифампицин	–	–	–	–	–	–	–	20	100	–	–

0,43 мкг/мл соответственно). При этом комбинация пенициллин – AgNPs не оказывала ингибирования роста микроорганизма [12]. Изучена антимикробная активность синтезированных биоконъюгатов AgNPs и эндогенных антибиотиков. Конъюгаты AgNPs с пептидом C-Bac3.4 обладают антимикробной активностью, в том числе в отношении резистентного к антибиотикам штамма *P. aeruginosa*, а также устойчивого к метициллину штамма *St. aureus* ATCC 33591. Исследования показали, что комплексы AgNPs с антимикробными пептидами не обладают выраженным мембранолитическим действием, свойственным пептидам [13].

AgNPs, синтезированные *A. calcoaceticus* LRVP54 в течение 24 ч, имеющие вид монодисперсных сферических наночастиц размером 8–12 нм, получены из солей металла

нитрата серебра размером 0,7 мкм с последующим нагреванием при температуре 70 °С. Дискдиффузионным методом установлена более высокая антибактериальная активность в отношении грамотрицательных микроорганизмов. Установлен высокий синергитический антибактериальный эффект (в 3,8 раза) применения AgNPs и ванкомицина для *Enterobacter aerogenes*, при этом наблюдалось сокращение минимальной бактерицидной концентрации. Отмечено, что у *Acinetobacter baumannii* с множественной лекарственной устойчивостью обнаружена высокая чувствительность в присутствии AgNPs и к антибиотикам, за исключением цефалоспоринов. Аналогичный эффект наблюдали при добавлении AgNPs в бульон культивирования с ванкомицинустойчивым штаммом *Streptococcus mutans*. Таким об-

Табл. 4. Изменение зоны задержки роста *S. enteritidis* 182 после контакта с антибактериальными препаратами и их комбинациями**Table 4.** Changes in the growth inhibition zone of *S. enteritidis* 182 after contact with antibacterial drugs and their combinations

Препарат	Контрольная группа	Арговит	%	Септабик + Ag + энрофлоксацин	%	Септабик + AgNPs + нитокс	%	Септабик + AgNPs + цефтиофул	%
Ампициллин/сульфабактам	–	12	100	–	–	13	100	13	100
Ампициллин	15	21	–	–	–100	22	46,7	20	33,3
Амикацин	–	20	100	–	–	20	100	21	100
Бензилпенициллин	–	11	100	–	–	16	100	–	–
Гентамицин	15	20	33,3	22	46,7	24	60	19	26,7
Доксициклин	15	16	6,7	16	6,7	16	6,7	13	–13,3
Полимиксин	–	16	100	–	–	20	100	16	100
Карбециллин	20	23	15	–	–100	23	15	–	–20
Норфлоксацин	–	21	100	22	100	25	100	20	100
Неомицин	16	18	12,5	–	–100	–	–100	13	–18,7
Энрофлоксацин	17	21	23,5	20	–17,6	20	17,6	22	29,4
Ципрофлоксацин	20	21	5	–	–100	23	15	23	15
Тетрациклин	–	20	100	–	–	20	100	–	–
Окситетрациклин	15	18	20	20	33,3	20	33,3	16	6,7
Линкомицин	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Тилозин	15	16	6,7	–	–100	–	–100	–	–100
Левомецетин	15	16	6,7	20	33,3	20	33,3	16	6,7
Стрептомицин	15	20	33,3	20	33,3	20	33,3	20	33,3
Тикарциллин/клавулановая кислота	19	20	5,3	20	5,3	22	15,8	25	31,6
Офлоксацин	16	18	12,5	19	18,7	18	12,5	18	12,5
Рифампицин	–	10	100	–	–	10	100	–	–

разом, биогенносинтезированные AgNPs показали значительный синергетический антибактериальный эффект на β -лактамы антибиотики [14].

Установлено, что комбинация серебра и сульфадиметоксина позволяет увеличить антибактериальную активность и создать препарат, к которому отсутствует привыкание бактерий при определенных концентрациях серебра в растворе. Препараты с AgNPs и сульфадиметоксина обладают меньшей антибактериальной активностью по сравнению с комплексами серебра в ионной форме, но антимикробная активность препаратов с AgNPs становится менее зависимой от концентрации и природы субстрата⁸.

Отмечены синергетические и антагонистические эффекты сочетанного приме-

нения наночастиц металлов и антибиотиков против патогенных штаммов микроорганизмов. AgNPs и ZnONPs обладали повышенной антибактериальной активностью при увеличении концентрации в отношении *S. aureus*, *E. coli*. Синергетический эффект антибиотиков азитромицина, цефотаксима, цефуросима, фосфомицина и хлорамфеникола против *E. coli* и *S. aureus* был значительно более высоким в присутствии AgNPs в сравнении с моноиспользованием антибиотиков (см. сноску 8).

Синергетический эффект антибиотиков азитромицина, оксациллина, цефотаксима, цефуросима, фосфомицина и окситетрациклина в отношении *E. coli* был значительно выше в присутствии ZnONPs по сравнению с использованием только антибиотика. Си-

⁸Лопанов А.Н., Лысых В.А. Антибактериальная активность сульфадиметоксина с серебром // Перспективные научные исследования: опыт, проблемы и перспективы развития: материалы междунар. науч.-практ. конф. Уфа, 2020. С. 93–100.

нергетический эффект антибиотиков азитромицина, цефотоксима, цефотрифаксима, цефоспексима, цефепима, цефотрифаксима, цефотрифаксима, цефотрифаксима и окситетрациклина против *S. aureus* оказался также значительно выше в присутствии ZnONPs в сравнении с моноиспользованием антибиотиков [15].

Литературные данные подтверждают различный антибактериальный эффект использования AgNPs и антибиотиков против выделенных от животных бактерий, которые проявляют устойчивость к антибиотикам. Ингибирующая концентрация рассчитывалась для классификации наблюдаемой коллективной антибактериальной активности как синергетической, аддитивной (только сумма отдельных эффектов лекарств), индифферентной (без эффекта) или антагонистической. Из 40 выполненных тестов 7 были синергетическими, 17 – аддитивными и 16 – безразличными. Ни одна из протестированных комбинаций не продемонстрировала антагонистического эффекта. Большинство синергетических эффектов наблюдали для комбинаций с AgNPs, вводимых вместе с гентамицином. Наибольшее усиление антибактериальной активности обнаружено при комбинированной терапии вместе с пенициллином G против *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Actinobacillus pleuropneumoniae* и *Pasteurella multocida*. Изначально устойчивые к амоксициллину, гентамицину и колистину, они оказались чувствительны к указанным антибиотикам в сочетании с AgNPs. Исследование показывает, что AgNPs имеют потенциал в качестве адъювантов для лечения бактериальных заболеваний животных [16].

Отмечено синергетическое действие AgNPs в комбинации с эритромицином и левофлоксацином против *St. aureus*. Антимикробная активность с антибиотиками по сравнению с чистыми наночастицами серебра увеличилась в 1,16–1,32 раза. Этот синергизм может оказаться актуальным для лечения инфекций, вызванных бактериями с множественной лекарственной устойчиво-

стью [17].

Анализ результатов исследований многих авторов показывает как выраженный рост бактерицидной активности антибиотиков при совместном применении с AgNPs, так и его снижение. Учитывая многообразие видов антибактериальных препаратов, применяемых в медицине и сельском хозяйстве, подобный неоднозначный результат требует дальнейших исследований при поиске их новых комбинаций с AgNPs.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Сидоренко С.В., Тишков В.И. Молекулярные основы резистентности к антибиотикам // Успехи биологической химии. 2004. Т. 44. С. 263–306.
2. Скрипникова Т.А. Оценка действия противомикробного препарата на основе наночастиц серебра при лечении болезней желудочно-кишечного тракта телят // Иппология и ветеринария. 2016. № 3 (21). С. 84–88.
3. Плешакова В.И., Власенко В.С., Пугачев В.Г., Лещева Н.А., Степанов Д.Н. Лечение сальмонеллеза цыплят с применением бактериофагов и наносеребра // Птицеводство. 2017. № 4. С. 43–49.
4. Красочко П.А., Красочко И.А., Станкуть А.Э. Противовирусные свойства препарата на основе наночастиц серебра // Ветеринарная медицина. 2013. Вып. 97. С. 526–528.
5. Красочко П.А., Ярыгина Е.И., Красочко И.А., Борисов Д.С., Струк М.С., Смоляк Я.А. Влияние наночастиц серебра, цинка и меди на фагоцитарную активность мононуклеарных лейкоцитов животных // Ученые записки Витебской государственной академии ветеринарной медицины. 2018. Т. 54. № 2. С. 39–42.
6. Нефедова Е.В., Черепушкина В.С., Бушмелева П.В., Донченко Н.А., Шкиль Н.Н. Влияние аллелей гена пролактина коров черно-пестрой голштинизированной породы на лечение мастита // Ветеринария и кормление. 2019. № 7. С. 19–21. DOI: 10.30917/ATT-VK-1814-9588-2019-7-5.
7. Банникова Д.А., Кононенко А.Б., Савинова Е.П. Изучение влияния коллоидного серебра на морфологию и развитие популяций клеток сальмонелл с применением метода сканирующей электронной микроскопии // Проблемы ветеринарной санитарии, гигие-

- ны и экологии. 2015. № 1 (13). С. 81–87.
8. Baptista P.V., McCusker M.P., Carvalho A., Ferreira D.A., Mohan N.M., Martins M., Fernandes A.R. Nano-Strategies to Fight Multidrug Resistant Bacteria — «A Battle of the Titans» // *Front Microbiology*. 2018. Vol. 9. P. 14–41. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01441.
 9. Muhsin T.M., Hachim A.K. Mycosynthesis and characterization of silver nanoparticles and their activity against some human pathogenic bacteria // *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 2014. N 30 (7). P. 2081–2090. DOI: 10.1007/s11274-014-1634-z.
 10. Naqvi S.Z., Kiran U., Ali M.I., Jamal A., Haameed A., Ahmed S., Ali N. Combined efficacy of biologically synthesized silver nanoparticles and different antibiotics against multidrug-resistant bacteria // *International Journal of Nanomedicine*. 2013. Vol. 8. P. 3187–3195. DOI: 10.2147/IJN.S49284.
 11. Mohamed M.S.M., Mostafa H.M., Mohamed S.H. Combination of silver nanoparticles and vancomycin to overcome antibiotic resistance in planktonic/biofilm cell from clinical and animal source // *Microbial Drug Resistance*. 2020. Vol. 26 (11). P. 1410–1420. DOI: 10.1089/mdr.2020.0089.
 12. McShan D., Zhang Y., Deng H., Ray P.C., Yu H. Synergistic Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles Combined with Ineffective Antibiotics on Drug Resistant *Salmonella typhimurium* DT104 // *J. Environ. Sci. Health C Environ. Carcinog Ecotoxicol. Rev*. 2015. Vol. 33. P. 369–384. DOI: 10.1080/10590501.2015.1055165.
 13. Голубева О.Ю., Шамова О.В., Орлов Д.С., Пазина Т.Ю., Болдина А.С., Дроздова И.А., Кокряков В.Н. Синтез и исследование антимикробной активности биоконъюгатов наночастиц серебра и эндогенных антибиотиков // *Физика и химия стекла*. 2011. Т. 37. № 1. С. 107–115.
 14. Singh R., Wagh P., Wadhwani S., Gaidhani S., Kumbhar A., Bellare J., Ananda Chopade B. Synthesis, optimization, and characterization of silver nanoparticles from *Acinetobacter calcoaceticus* and their enhanced antibacterial activity when combined with antibiotics // *International Journal of Nanomedicine*. 2013. Vol. 8. P. 4277–4290. DOI: 10.2147/IJN.S48913.
 15. Abo-Shama U.H., El-Gendy H., Mousa W.S. Synergistic and Antagonistic Effects of Metal Nanoparticles in Combination with Antibiotics Against Some Reference Strains of Pathogenic Microorganisms // *Infection and Drug Resistance*. 2020. Vol. 13. P. 351–362. DOI: 10.2147/IDR.S234425.
 16. Smekalova M., Aragon V., Panacek A., Pucek R., Zboril R., Kvitek L. Enhanced antibacterial effect of antibiotics in combination with silver nanoparticles against animal pathogens // *Veterinary Journal*. 2016. Vol. 209. P. 174–179. DOI: 10.1016/j.tvjl.2015.10.032.
 17. Singh M., Kalaivani R., Subramanian M. Metallic silver nanoparticle: a therapeutic agent in combination with antifungal drug against human fungal pathogen // *Bioprocess and Biosystems Engineering*. 2013. Vol. 36. N 4. P. 407–415.

REFERENCES

1. Sidorenko S.V., Tishkov V.I. Molecular basis of antibiotic resistance. *Uspekhi biologicheskoi khimii = Advances of Biological Chemistry*, 2004, vol. 44, pp. 263–306. (In Russian).
2. Skripileva T.A. Evaluation of the effect of antimicrobial drug based on silver nanoparticles in the treatment of diseases of the gastrointestinal tract of calves. *Ippologiya i veterinariya = Hippology and Veterinary*, 2016, no. 3 (21), pp. 84–88. (In Russian).
3. Pleshakova V.I., Vlasenko V.S., Pugachev V.G., Leshcheva N.A., Stepanov D.N. Treatment of salmonellosis in chickens using bacteriophages and nanosilver. *Ptitsevodstvo*, 2017, no. 4, pp. 43–49. (In Russian).
4. Krasochko P.A., Krasochko I.A., Stankut' A.E. Antiviral properties of a preparation based on silver nanoparticles. *Veterinarnaya meditsina = Veterinary Medicine*, 2013, release 97, pp. 526–528. (In Russian).
5. Krasochko P.A., Yarygina E.I., Krasochko I.A., Borisovets D.S., Struk M.S., Smolyak Ya.A. Influence of nanoparticles of silver, zinc and copper on phagocytic activity of mononuclear leukocytes of animals. *Uchenye zapiski Vitebskoi gosudarstvennoi akademii veterinarnoi meditsiny = Scientific notes of Vitebsk State Academy of Veterinary Medicine*, 2018, vol. 54, no. 2, pp. 39–42. (In Russian).
6. Nefedova E.V., Cherepushkina V.S., Bushmeleva P.V., Donchenko N.A., Shkil' N.N. The effect of alleles of the prolactin gene of cows of black-and-white Holstein on the treatment of mastitis. *Veterinariya i kormlenie = Journal Veterinaria i Kormlenie*, 2019, no. 7, pp. 19–21. (In Russian). DOI: 10.30917/ATT-

- VK-1814-9588-2019-7-5.
7. Bannikova D.A., Kononenko A.B., Savinova E.P. Effect of colloid silver onto morphology and development of *Salmonella* cells populations using scanning electron microscopy. *Problemy veterinarnoi sanitarii, gigieny i ekologii = Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology*, 2015, no. 1 (13), pp. 81–87. (In Russian).
 8. Baptista P.V., McCusker M.P., Carvalho A., Ferreira D.A., Mohan N.M., Martins M., Fernandes A.R. Nano-Strategies to Fight Multidrug Resistant Bacteria — «A Battle of the Titans». *Front Microbiology*, 2018, vol. 9, pp. 14–41. DOI: 10.3389/fmicb.2018.01441.
 9. Muhsin T.M., Hachim A.K. Mycosynthesis and characterization of silver nanoparticles and their activity against some human pathogenic bacteria. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 2014, no. 30 (7), pp. 2081–2090. DOI: 10.1007/s11274-014-1634-z.
 10. Naqvi S.Z., Kiran U., Ali M.I., Jamal A., Hameed A., Ahmed S., Ali N. Combined efficacy of biologically synthesized silver nanoparticles and different antibiotics against multidrug-resistant bacteria. *International Journal of Nanomedicine*, 2013, vol. 8, pp. 3187–3195. DOI: 10.2147/IJN.S49284.
 11. Mohamed M.S.M., Mostafa H.M., Mohamed S.H. Combination of silver nanoparticles and vancomycin to overcome antibiotic resistance in planktonic/biofilm cell from clinical and animal source. *Microbial Drug Resistance*, 2020, vol. 26 (11), pp. 1410–1420. DOI: 10.1089/mdr.2020.0089.
 12. McShan D., Zhang Y., Deng H., Ray P.C., Yu H. Synergistic Antibacterial Effect of Silver Nanoparticles Combined with Ineffective Antibiotics on Drug Resistant *Salmonella typhimurium* DT104. *J. Environ. Sci. Health C Environ. Carcinog Ecotoxicol. Rev.*, 2015, vol. 33, pp. 369–384. DOI: 10.1080/10590501.2015.1055165.
 13. Golubeva O.Yu., Shamova O.V., Orlov D.S., Pazina T.Yu., Boldina A.S., Drozdova I.A., Kokryakov V.N. Synthesis and study of the antimicrobial activity of bioconjugates of silver nanoparticles and endogenous antibiotics. *Fizika i khimiya stekla = Glass Physics and Chemistry*, 2011, vol. 37, no. 1, pp. 107–115. (In Russian).
 14. Singh R., Wagh P., Wadhwani S., Gaidhani S., Kumbhar A., Bellare J., Ananda Chopade B. Synthesis, optimization, and characterization of silver nanoparticles from *Acinetobacter calcoaceticus* and their enhanced antibacterial activity when combined with antibiotics. *International Journal of Nanomedicine*, 2013, vol. 8, pp. 4277–4290. DOI: 10.2147/IJN.S48913.
 15. Abo-Shama U.H., El-Gendy H., Mousa W.S. Synergistic and Antagonistic Effects of Metal Nanoparticles in Combination with Antibiotics Against Some Reference Strains of Pathogenic Microorganisms. *Infection and Drug Resistance*, 2020, vol. 13, pp. 351–362. DOI: 10.2147/IDR.S234425.
 16. Smekalova M., Aragon V., Panacek A., Pucek R., Zboril R., Kvitek L. Enhanced antibacterial effect of antibiotics in combination with silver nanoparticles against animal pathogens. *Veterinary Journal*, 2016, vol. 209, pp. 174–179. DOI: 10.1016/j.tvjl.2015.10.032.
 17. Singh M., Kalaivani R., Subramanian M. Metallic silver nanoparticle: a therapeutic agent in combination with antifungal drug against human fungal pathogen // *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2013, vol. 36, no. 4, pp. 407–415.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

✉ Шкиль Н.Н., доктор ветеринарных наук, заведующий лабораторией; **адрес для переписки:** Россия, 630501 Новосибирская область, р.п. Краснообск, а/я 463; e-mail: nicola07@mail.ru

Нефедова Е.В., кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник; e-mail: fill1555@mail.ru

AUTHOR INFORMATION

✉ Nikolai N. Shkil, Doctor of Science in Veterinary Medicine, Laboratory Head; **address:** PO Box 463, SFSCA RAS, Krasnoobsk, Novosibirsk Region, 630501, Russia; e-mail: nicola07@mail.ru

Ekaterina V. Nefedova, Candidate of Science in Veterinary Medicine, Senior Researcher; e-mail: fill1555@mail.ru

Дата поступления статьи / Received by the editors 19.01.2021
Дата принятия к публикации / Accepted for publication 28.04.2021
Дата публикации / Published 26.07.2021