

(19)



(10) **LT 5643 B**

(12) **PATENTO APRAŠYMAS**

(11) Patent numeris: **5643**

(51) Int. Cl. (2006): **G01N 33/53**

(21) Paraiškos numeris: **2007 048**

(22) Paraiškos padavimo data: **2007 08 03**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **2009 09 25**

(45) Patent paskelbimo data: **2010 03 25**

(62) Paraiškos, iš kurios dokumentas išskirtas, numeris: —

(86) Tarptautinės paraiškos numeris: **PCT/US2005/047699**

(86) Tarptautinės paraiškos padavimo data: **2005 12 30**

(85) Nacionalinio PCT lygio procedūros pradžios data: **2007 08 03**

(30) Prioritetas: **60/641,521, 2005 01 05, US**

60/697,079, 2005 07 07, US

60/702,494, 2005 07 26, US

(72) Išradėjas:

Robert HOLLADAY, US

William MOELLER, US

Dilip MEHTA, IN

Juliana H. BROOKS, US

Rustum ROY, US

Mark MORTENSON, US

(73) Patent savininkas:

American Silver, LLC, 80 West Canyon Crest Road, Alpine, 84004 Utah, US

Juliana H.J. BROOKS, 173 North East Isles, MD 21901 North East, US

Mark G. MORTENSON, 105 Deer Path Lane, MD 21901 North East, US

(74) Patentinis patikėtinis/atstovas:

Reda ŽABOLIENĖ, Advokatės Redos Žabolienės kontora METIDA, Verslo centras VERTAS, Gynėjų g. 16, LT-01109 Vilnius, LT

(54) Pavadinimas:

Sidabro/vandens, sidabro gelių ir sidabro pagrindo kompozicijos

(57) Referatas:

Išradime aprašoma bespalvė kompozicija, apimanti metalo daleles (pvz. sidabro nanodaleles) ir vandenį, kur minėtos dalelės turi elementinio metalo vidų (pvz. sidabro) ir metalo oksido (pvz. vieno arba kelių sidabro oksidų) išorę, kur metalo nanodalelės yra vandenyje maždaug 5–40 ppm (milijoninių dalių) lygiu ir kur kompozicija aiškiai rodo svarbias antimikrobines savybes. Aprašyti kompozicijos panaudojimo būdai. Kompozicija gali būti įterpta į hidrogelį, iš esmės neprarasdama antimikrobinių savybių. Taip pat aprašytos įvairios metalo turinčios kompozicijos su nenumatytu biologiniu veiksmingumu.

Techninė sritis

Šis išradimas iš esmės susijęs su naujaisiais sidabro/vandens mišiniais (kartais kalbama kaip apie sidabro daleles disperguotas vandenyje) ir konkrečiau su naujomis kompozicijomis ir/arba morfologiniais sidabro/vandens mišiniais, sidabro hidrogeliais, naujomis sidabro kompozicijomis suderintomis su šiuolaikiniais antibiotikais ir įvairiais ligandais, surištais su sidabro jonais, sidabro geliais, kurių pagrindą sudaro tam tikri pradiniai sidabro/vandens mišiniai, sidabro jonai ir/arba metalas(ai, prisirišęs(ę) prie/esantys tam tikruose klatratuose, tokiuose kaip moliai ir/arba zeolito medžiagos, ir su minėtų kompozicijų, kaip agentų prieš įvairius organizmus (įskaitant tam tikrus virusus), žalingus sveikatai arba žmonių ir/arba gyvūnų arba kitų organizmų sveikatingumui, gavimo ir panaudojimo būdais. Be to, čia taip pat aprašomi kiti metalai priemaišoje su sidabru ir taip daugeliu atveju gali būti panaudojami kaitaliojant su sidabru. Taip pat aprašomi išradimo kompozicijų įvairūs deriniai ir koncentracijos.

TECHNIKOS LYGIS

Yra gerai žinoma, kad tam tikri sidabro preparatai pasižymi baktericidinėmis savybėmis. Sidabras yra naudojamas kaip baktericidas ir buvo naudojamas kaip antibiotikas, prieš atsirandant šiuolaikiniams antibiotikams. Ankstesniais amžiais vartotojai padroždavo sidabro dalelių į geriamą vandenį arba panardindavo sidabro gabalėlių į geriamą vandenį tam, kad nurytų sidabrą, geriant vandenį. Atrodo realu, kad valgymas iš sidabrinių indų (pvz. stalo sidabras) atsirado iš tikėjimo sidabro gydančiomis savybėmis.

Tai gali būti priežastys, kodėl sidabro, suspenduoto tirpale, vartojimas pagerindavo individo sveikatą. Yra įmanoma, kad toks tirpalas daro įtakos bakterijų, virusų ir kitų nepageidaujamų organizmų augimo slopinimui, o taip pat išnaikina egzistuojančias bakterijas, virusus ir kitus organizmus. Yra įmanoma, kad sidabro kompozicija gali turėti priešuždegiminius poveikius, pakankamus sumažinti, pavyzdžiui, patinimo, nudegimo komplikacijas ir tam tikrus astmos simptomus.

Pirmasis šio išradimo įgyvendinimo variantas aprašo sidabro kompozicijos vandenyje panaudojimą tam tikrų žmogaus (arba, pavyzdžiui, tam tikrų gyvūnų) susirgimų gydymui. Vienas išradimo įgyvendinimo variantas apima sidabro kompoziciją, apimančią sidabro nanodaleles (pvz. dauguma kurių yra 10–50 nanometrų diametro) ir kurios, pateikiamame įgyvendinimo variante, gali turėti vidinį metalinio sidabro dalį ir išorinį dangalą arba dalį, skirtingą nuo minėto vidaus (pvz. joninio sidabro dangalas, vienas arba daugiau sidabro oksido dangalų (pvz. skirtingos kompozicijos ir/arba skirtingos fazės ir kt.), kur dalelės yra suspenduotos vandenyje (pvz. išgrynintame vandenyje). Kitame pateiktame įgyvendinimo variante mažiausiai 90% tokių dalelių yra 10–50 nanometrų diametro. Pateiktas išradimo įgyvendinimo variantas pateikia sidabro kompoziciją, apimančią sidabro daleles (įskaitant tam tikras sidabro oksidu padengtas sidabro daleles), kur daugiau negu 50% dalelių skaičiaus yra mažesnės negu 0,015 mikrometrų dydžio ir dalelės yra koloidiškai suspenduotos (t.y. nenusodintos) vandenyje. Kitas išradimo įgyvendinimo variantas pateikia panašias daleles, kur maždaug 95% dalelių yra 10–40 nanometrų diametro. Dar kitame įgyvendinimo variante maždaug 95% dalelių yra 10–30 nanometrų diametro.

IŠRADIMO ESMĖ

Šis išradimas iš esmės nukreiptas sidabro panaudojimui 5–40 ppm lygiu vandenyje (bet tam tikrais atvejais mažiau negu 5 ppm), siekiant užmušti arba padaryti neveiksnius mikroorganizmus (įskaitant tam tikrus virusus), kurie yra pavojingi žmogui ir/arba gyvūnams, arba kitiems gyviems organizmams. Be to, šis išradimas yra specifiskai nukreiptas į kompozicijas, apimančias sidabro nanodaleles, kur minėtos dalelės pateiktame įgyvendinimo variante apima, pavyzdžiui, elementinio sidabro vidinę dalį ir išorinį dangalą arba dalinį dangalą arba, pavyzdžiui, vieno arba kelių sidabro oksidų (pvz. joninio sidabro oksidas, sidabro oksidai, tokie kaip Ag_2O , AgO , Ag_4O_4 kt.) sluoksnį, kur minėti oksido sluoksniai yra įvairių fazinių būsenų (pvz. Ag_2O yra monoklininis ir/arba tetragonalinis) ir vanduo, kur sidabro dalelės yra patalpintos suspensijoje (pvz. koloidinėje suspensijoje) vandenyje 5–40 ppm bendru lygiu. Šio išradimo vienas įgyvendinimo variantas apima sidabro nanodaleles (nuo šios vietos tolyn aprašyme turi būti suprantama, kad naudojamas terminas „sidabro dalelė(ės) arba panašiai, kai procesas vyksta pagal čia aprašytus

elektrocheminius metodus, priklauso ne tiktai elementiniam sidabru, bet taip pat elementinio sidabro dalelėms, kurios po to dalinai arba pilnai gali sudaryti vienos arba kelių kompozicijų dangalą, kur šis(ie) dangalas(ai) apima vieną arba kelis sidabro oksidus mažiausia jų doze), esančias vandenyje (geriau gryname vandenyje, aprašytame čia vėliau) 5—40 ppm koncentracijos, kur daugiau negu 50 % sidabro dalelių yra maksimalaus dydžio mažesnio negu 0,015 mikrometrų. Geresniame įgyvendinimo variante daugiausiai dalelių yra 10—40 nm diametro. Dar geresniame įgyvendinimo variante daugiausiai dalelių yra 10—30 nm diametro. Sidabro vandenyje kompozicija (taip pat sidabro dalelės ekstrahuotos kaip iš esmės pavienės dalelės iš sidabro/vandens mišinių, pagamintų remiantis šiuo išradimu), taip pat sidabro/vandens mišiniai, pagaminti remiantis šio išradimo nurodymais ir vėliau suformuoti į gelius, miltelius, molį arba zeolitą (kaip aprašyta žemiau pateiktuose įgyvendinimo variantuose), remiantis šio išradimo nurodymais, yra, pavyzdžiui, labai efektyvus(ūs) antimikrobinis(iai) agentas(ai) ir priešvirusinis(iai) agentas(ai) (ir daugeliu atveju taip pat antiparazitinis). Šis išradimas taip pat skirtas sidabro kompozicijoms iš 5—40 ppm sidabro vandenyje ir, remiantis čia aprašytų minėtų sidabro/vandens kompozicijų panaudojimo būdais, jos yra labai efektyvios kaip antimikrobiniai agentai, naudojant minėtas kompozicijas sekančiai: (1) vidiniam vartojimui gyviems organizmams; (2) išoriškai gyviems organizmams, o taip pat išoriniam arba vidiniam vartojimui įvairiems paviršiams, kartu kietiems ir porėtiems (pvz. prekystalių paviršiams, paviršiams, skirtiems maisto gamybai, maisto gaminimo įrangai, paviršiams ligoninėse, medicinos instrumentams, vandentiekio vamzdynams (metaliniais ir/arba plastikiniams), oro filtravimo prietaisams ir kt.); ir (3) sidabro arba sidabro-vandens kompozicijų sumaišymui su užterštu vandeniu (pvz. užteršto vandens nuotekų apdorojimas, vandens saugyklų, užterštų vandens talpų, vandentiekio vamzdynų ir kt., kurie, geriau, turi daug kietų medžiagų, pašalinamų iš jų prieš sumaišymą), siekiant atlikti vandens gryninimo procesą.

Šio išradimo vienas įgyvendinimo variantas yra skirtas sidabro vandenyje kompozicijoms, pagamintomis naudojant prietaiso ir/arba būdų, aprašytų JAV patente No. 6214299 („patentas '299“), modifikaciją, kuri specifiškai čia įvedama, teikiant jai pirmenybę. Be to, kitų metalų, tokių kaip, pavyzdžiui, vario (ir vario lydinių), cinko, platinos ir titano ir jų lydinių ir mišinių) gali būti panaudoti, siekiant sudaryti kitas pageidaujamas metalo kompozicijas, remiantis šio išradimo būdais, kurios taip pat yra stebėtinai veiksmingos.

Patento '299 įrenginys ir būdas buvo modifikuoti ir patobulinti, siekiant paruošti šio išradimo sidabro kompoziciją, kur būdas žymiai detaliau yra aprašytas čia žemiau. Iš esmės, aštuonių sidabro/vieno įprasto elektrodo įrenginys, kaip aprašyta patente '299, buvo modifikuotas ir proporcingai padidintas, siekiant sumontuoti didelę (pvz. 284,25—322,15 l (75—85 galonų)) vandens kamerą. Siekiant pradėti sidabro/vandens kompozicijos gamybą 284,25—322,15 l (75—85 galonų) konteineryje, į kamerą yra patalpinama maždaug 265,3—284,25 l (70—75 galonų) santykinai didelio grynumo vandens (pvz. filtruoto vandens, atbulinės osmozės vanduo arba vanduo, kuris neturi didelio galimų taršalų kiekio ir kt.), tipiška turinčio mažiau negu 2 ppm bendrai ištirpintų kietųjų medžiagų arba netgi dar geriau mažiau, negu 1 ppm bendrai ištirpintų kietųjų medžiagų. Pateiktame įgyvendinimo variante į visa tai pridedama maždaug 18,95 l (penki galonai) sidabro/vandens kompozicijos, gautos ankstesniame procese. Šis „užpildymas“ maždaug 18,95 l (5 galonais) yra naudingas, bet neesminis. Užpildymas iš esmės aprūpina pakankamu laidaus sidabro dalelių kiekiu talpoje tam, kad esantis kiekis galėtų tekėti tarp įvairių elektrodų, kai yra pasiekiamas tinkama įtampa/srovė per santykinai trumpą laiką. Šis „užpildymas“ taip pat leidžia susidaryti šiek tiek mažesniems pirminiams Teiloro kūgiams („Taylor cones“), aprašytiems čia vėliau. Vandens kameroje yra įrengta oro įvestis (tipiškai išdėstyta šalia viršutinės vandens kameros dalies), kuri sudaro galimybę oro burbulų srovei tekėti per vandens sidabro skystį gamybos metu. Buvo atskleista, kad šis kelias, kuris akivaizdžiai patobulina maišymą, palyginus su rotoriniu mikseriu, aprašytu patente '299, kas neabejotinai akivaizdu, padidina veiksmingumą.

Elektrodų įrenginys(iai) dirba (mažiausiai nuo pradžių) maždaug arba panašiai maždaug dešimt tūkstančių voltų įtampoje, keičiant srovę (su kiekviena sidabrinių elektrodų, turinčių atskirą įtampos padavimą, grupe), kaip aprašyta patente '299. Žymiai aukštesnės negu dešimt tūkstančių voltų įtampos skatina gauti tirpalą, kuris gali turėti žymius joninio sidabro, ištirpinto jame, kiekius. Ši kompozicija apima daugiau kaip 97 % metalinio sidabro dalelių, kurių yra 5—40 ppm su iš esmės mažai nelaisvo joninio sidabro, esančio sidabro/vandens tirpale.

Sidabro koncentracija yra nustatyta žemiau paaiškintais būdais. Taigi, 284,25 l (75 galonų) sidabro/vandens gamybos įrenginys veikia iš esmės nepertraukiamai ir iš įrenginio gauti pavyzdžiai yra tiriami tol, kol yra pasiekama pageidaujama sidabro ppm koncentracija vandenyje. Buvo išsiaiškinta, kad čia

apibūdintomis veikimo sąlygomis 10 ppm sidabro/vandens kompozicijai reikia maždaug vienos ir vienos su puse gamybos dienos; 22 ppm sidabro/vandens kompozicijai reikia maždaug trijų gamybos dienų ir 32 ppm sidabro/vandens kompozicijai reikia maždaug šešių gamybos dienų. Sidabro dalelių susidarymo greitis sidabro/vandens kompozicijose lėtėja, kuo pasiekama didesnė sidabro dalelių koncentracija. Kai sidabro koncentracija sidabro/vandens kompozicijose yra pageidaujama didesnė negu 50 ppm, joms pagaminti reikia santykinai ilgo laiko, su čia aprašytais proceso parametrais, su aukščiausia koncentracija, pasiekta iki šiol per priimtina laikotarpį, esančia maždaug 50 ppm. Jeigu pageidaujama, yra įmanomos aukštos sidabro dalelių koncentracijos. Tačiau, žemesnių koncentracijų sidabro dalelių veiksmingumas prieš įvairius patogenus buvo toks neišspręstas, kad aukštos sidabro dalelių koncentracijos nebuvo būtinos iki šiol.

Sidabro nanodalelės sidabro/vandens kompozicijose turi labai panašų bendrą dalelių dydį ir formos charakteristikas, apibūdintas žemiau detaliai charakteristikų dalyje, ir skirtingai nuo daugelio žinomų „koloidinio sidabro“ kompozicijų, šios sidabro/vandens kompozicijos yra visiškai bespalvės ir iš esmės yra pastovios nedidelio apšvietimo ir temperatūros pokyčių atžvilgiu, nereikalaujančios panaudojimo jokių priedų, palaikančių stabilumą (kurių reikia ir/arba naudojama daugeliui žinomų koloidinių sidabrų). Yra manoma, kad naudojami komponentai ir komercinio proceso pakopos leidžia pagaminti sidabro/vandens kompoziciją, kuri skiriasi nuo kitų produktų, žinomų kaip „koloidinis sidabras“, būdu, kuris padaro sidabro/vandens kompozicijas žymiai veiksmingesnes. Kai kurie iš šio išradimo sidabro vandens kompozicijų ryškiausi fizikiniai skirtumai detaliau yra aprašyti čia vėliau.

Išradimo sidabro/vandens kompozicijos taip pat iš esmės yra nereaguojančios dėl į jas pridedamų daug medžiagų, įskaitant, pavyzdžiui, vieną arba derinyje (1) vandenilio peroksida, (2) dinatrio EDTA (dinatrio etileno diamino tetraacto rūgštis), kurios faktiškai gali veikti kaip sidabro/vandens kompozicijų stiprintojas (pvz., gali netgi padidinti sidabro/vandens kompozicijų veiksmingumą), (3) jodą (pvz., povidono jodas, kuris kai kuriais atvejais gali pademonstruoti nedidelį reaktyvumą), kuris gali padaryti sidabro/vandens kompozicijas labiau patogeniškas prieš įvairius patogenus ir (4) įvairius komerciškai įmanomus antibiotikus (kurie faktiškai gali duoti tam tikrus sinergiškus poveikius, atsirandančius tarp sidabro/vandens kompozicijų ir antibiotikų, tokiu būdu sudarant galimybę realizuoti

LT 5643 B

naujas ir labai pageidaujamas derinių terapijas. Atitinkamai, gali būti panaudota daugybė papildomų medžiagų derinyje su (pvz., pridedama į arba aprūpinama) šio išradimo naujomis sidabro/vandens kompozicijomis, siekiant sinergistiškai sustiprinti pageidaujamus poveikius, kuriais gali pasižymėti kiekviena medžiaga. Konkrečiai, daugeliu atvejų (pvz., antibiotikų deriniai) gauti suderinti poveikiai yra sinergistiniai ir viršija kiekvienos vienos medžiagos individualius papildomus poveikius, kai sujungiami (pvz., $2+2=6$). Žinoma, kai kurie iš įmanomų priedų paverstų naujasias kompozicijas tinkamomis tik vietiniam arba paviršiniam gydymui dėl jų potencialo vidiniam toksiškumui biologiniuose organizmuose (pvz. žmogaus arba gyvūnų). Reikalingas priedo kiekis gali svyruoti, priklausomai nuo daugelio aplinkybių, įskaitant konkrečią negalavimo priežastį (pav. virusas, bakterija, parazitas ir kt.) arba infekciją, kitų medžiagų kiekis yra priemaišoje su priedais ir t.t. Tačiau, tikslus reikalingo priedo kiekis turi būti nustatytas bandymais, palyginus su tais, kurie įprastai žinomi šioje srityje. Be to, sidabro/vandens koncentracijos taip pat gali turėti įtakos reikalingo priedo kiekiui, taip pat nustatomam bandymais, palyginus su tais, kurie įprastai žinomi šioje srityje.

Vienas iš pageidaujamų priedų pavyzdžių yra vandenilio peroksidas. Vandenilio peroksidas yra žinomas dezinfekuojantis agentas. Buvo atrasta, kad vandenilio peroksidas turi sinergistinę sąveiką su išradimo sidabro/vandens kompozicijomis. Vandenilio peroksidas yra tinkamas, pavyzdžiui, 30 masės % (masės % tūrio arba masės procentui) arba netgi didesnės koncentracijos. Kadangi yra naudojamos aukštesnės koncentracijos, labiau tinkamos šiame išradime panaudotos sidabro/vandens koncentracijos pasirodė 30% arba žemesnės, ir dar geriau, nukritusios iki maždaug 1—5 masės %.

Vienas šio išradimo įgyvendinimo aspektas yra nukreiptas į kompozicijas, apimančias 5—40 ppm sidabro dalelių, 1—3 masės % vandenilio peroksido ir likusios dalies vandens (pvz., filtruotas arba iš esmės išgrynintas vanduo). Kitas šio išradimo įgyvendinimo aspektas yra kompozicijos, apimančios 10—40 ppm sidabro dalelių ir 1—3 masės % vandenilio peroksido vandenyje, kaip antimikrobinių agentų, panaudojimas ir panaudojimo būdas.

Kitas šio išradimo priedo, kuris palankiai veikia su sidabro/vandens kompozicijomis, pavyzdys yra dinatrio etileno diamono acto rūgštis, tai pat žinoma kaip „Natrio EDTA“ arba „Dinatrio EDTA“ (abi iš kurių kartais yra nurodomos

literatūroje) ir kurių formulė gali būti sekanti: $(\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})\text{CH}_2\text{COONa})_2\text{H}_2\text{O}$. Kitame šio išradimo įgyvendinimo aspekto mažas kiekis (pvz., 0,5—10 ppm, arba dar geriau 0,5—5, arba netgi dar geriau 0,5 ppm) dinatrio EDTA yra pridedamas arba sumaišomas su šio išradimo sidabro/vandens kompozicijomis. Šiame įgyvendinime pastebėta, kad netgi mažo kiekio dinatrio EDTA pridėjimas padidina sidabro/vandens kompozicijų stiprumą (pvz., pagerina baktericidines, dezinfekcines ir/arba antimikrobines savybes). Neprisirišant prie jokios konkrečios teorijos arba išaiškinimo, yra įmanoma, kad dinatrio EDTA gali pakelti ląstelės sienelės pralaidumą, kas gali padidinti bendrą šio išradimo sidabro/vandens kompozicijų efektyvumą. Kitas šio išradimo įgyvendinimo aspektas yra kompozicijų, apimančių 10—40 ppm sidabro ir 0,5—10 ppm dinatrio EDTA vandenyje, kaip antimikrobinio agento, baktericidinio agento, antivirusinio agento ir/arba dezinfekavimo agento panaudojimas ir panaudojimo būdas.

Kitas šio išradimo priedo, kuris palankiai veikia su sidabro/vandens kompozicijomis, pavyzdys yra povidono jodas. Jodas yra gerai žinoma profilaktinė priemonė medicinoje, skirta gydymui prieš plataus spektro patogenus. Jodas prekyboje yra aptinkamas įvairių koncentracijų, bet įprastai naudojamas ir tinkamesniu laikomas 10% koncentracijos. Šiame išradimo pateiktame įgyvendinimo aspekto sinergistinis derinys apima maždaug 25—50 tūrio % sidabro/vandens mišinio pakeitimą 10% jodo tirpalu. Kadangi kai kurios reakcijos tarp sidabro/vandens mišinio ir jodo yra įmanomos, iš čia aptartų tyrimo rezultatų išplaukia, kad sidabro/vandens su povidono jodu sinergistinis derinys gali funkcionuoti kaip paviršinė dezinfekuojanti priemonė (pvz., tepalas) ir/arba kaip profilaktinė priemonė prieš pjautinių žaizdų, nudegimų arba įdrėskimų ir kt. infekciją. Kitas šio išradimo pateiktas įgyvendinimo aspektas yra kompozicijų, apimančių 10—40 ppm sidabro ir povidono jodo vandenyje panaudojimas kaip antimikrobinio agento, baktericidinio agento, antivirusinio agento ir/arba dezinfekuojančios priemonės.

Kitas išradimo pateiktas įgyvendinimo aspektas yra šio išradimo sidabro/vandens kompozicijų panaudojimas derinyje su įvairiais pramonėje gaunamais antibiotikais tam tikru požiūriu žinomu kaip terapinis derinys. Terapinis derinys susilaukė didelio susidomėjimo, nes per paskutines dvi dekalas pasipriešinimas antibiotikams plito labai plačiai ir todėl sukėlė didelį visuotinį susirūpinimą. Infekcijos, sukeltos gram-negatyviomis bakterijomis, tokiomis kaip

LT 5643 B

Escherichia coli, *Klebsiella*, *Proteus*, *Shigella* ir *Pseudomonas*, tapo didelio susidomėjimo priežastimi, kadangi šie organizmai turi išvystytą daugelio vaistų atsparumą antibiotikams. Paskutiniai tyrimai, siekiant ištirti gram-negatyviųjų klinikinių padermių, sukeliančių klinikinės infekcijas, atsparumo modulį parodė, kad daugiausiai iš padermių buvo atsparios žinomiems antibiotikams, kaip ampicilinas, gentamicinas, chloramfenikolis, kotrimoksazolas ir pirmosios arba antrosios generacijos cefalosporinai. Taip pat maždaug 70% šių padermių buvo atsparios ciprofloksacinui. Šiame išradimo įgyvendinimo aspekto sidabro/vandens mišiniai (kur derinami kaip skystis arba džiovinami ir pridedami kaip kieta medžiaga, tokiu būdu sudarant, pavyzdžiui, miltelius, kartais nurodant kaip „Sildust“), kai yra derinami su įvairiais antibiotikais, pasižymi sinergizmu dažniau negu tik priedų savybėmis. Skleidimo šachmatiniai tyrimai parodė, kad tam tikri antibiotikai, kai derinami su antibiotikuose susidariusiais sidabro/vandens mišiniais yra keletą kartų efektyvesni, negu sidabras vienas (pvz., sidabro/vandens mišiniai, sujungti su amikacinu ir cefoperazonu, kai FIX indeksas yra maždaug 0,1875, palyginus su dviem antibiotikais, naudojamais derinyje vienas su kitu, kuris susidaro, kai FIC indeksas yra 0,625, kai abu deriniai yra naudojami prieš, pavyzdžiui, MRSA (metecilino atsparumas *Staphylococcus aureus*), labai detalai aprašytame čia vėliau. Kitas pateiktas šio išradimo įgyvendinimo aspektas yra kompozicijų, apimančių 10–40 ppm sidabro ir įvairių antibiotikų, kaip antimikrobinis agentas ir/arba baktericidinis agentas ir/arba antivirusinis agentas panaudojimas ir panaudojimo būdas gydymams, skirtiems terapiniam deriniui. Tikslus sidabro/vandens mišinių pagal šį išradimą kiekis (ir koncentracija), kuris gali būti pridedamas į žinomus antibiotikus yra ilgo eksperimentinio darbo rezultatas. Konkrečiai, specifinė liga, gydoma specifiniu antibiotikų kursu (taip pat ir antibiotiko veiksmingumas prieš patogeną) turi įtakos reikalingo sidabro/vandens mišinio kiekiui ir koncentracijai.

Nors ir didelis kiekis bandymų, panaudojant sidabro/vandens tirpalus vienus arba derinyje su įvairiais priedais, yra pateikiami žemiau, jie taip pat atskleidžia, kad tam tikri nešikliai gali žymiai pagerinti rezultatus, gaunamus su sidabro/vandens mišiniais įvairiose sąlygose. Tiksliau sakant, buvo atskleista, kad vandeninės sidabro/vandens kompozicijos, kaip pusiau hidrogelio, susidarymas (kartais čia pateikiama vėliau kaip „Silgel“ arba kita versija pateikiama kaip „Silderm“) arba netgi tokių medžiagų ploni sluoksniai žymiai pagerina tam tikrų taikomų medžiagų veiksmingumą. Hidrogeliai yra standartiniai hidrofiliniai geliai,

gaunami pridedant tam tikrų hidrofilinių organinių polimerų į vandeninį tirpalą – šiuo atveju tirpalą, turintį išradimo sidabro/vandens tirpalą. Tačiau galima tikėtis, kad kiti koloidinio sidabro tirpalai taip pat gali būti paverčiami hidrogeliais pagal čia pateiktus nurodymus ir tuo tarpu tokie hidrogeliai gali nebūti tokie veiksmingi kaip šio išradimo, kur šie hidrogeliai, nepaisant to, gali turėti tam tikrą pageidaujamą pritaikymą. Atitinkamai, šis išradimas yra skirtas taip pat atskleisti tam tikrus šių hidrogelių aspektus. Kaip ir buvo tikėtasi, hidrogelis pagerina sidabro išlaikymą paviršiaus plote, tokiame kaip žaizda odos paviršiniame plote. Žaizdos priežiūrai hidrogelis arba skiautė medžiagos taip pat yra žymiai pranašesni žaizdos aplinkinių audinių apsaugai ir džiūvimo prevencijai, kur šie faktoriai pagerina žaizdos gijimą. Svarbiausiai, hidrogelis iš esmės visiškai nedaro įtakos šio išradimo sidabro dalelių antimikrobinėms savybėms. Be to, šie hidrogeliai veikia kaip puikūs rankų arba odos valikliai, o taip pat kaip odos apsauginės priemonės (pvz., užtepant hidrogelius ant rankos(u) taip, kad rankos turėtų kontaktą su patogenais, odos apsauginis gelis gali padėti prevencijai infekcijų, dėl, pavyzdžiui, įsijovimų arba įbrėžimų, tokiu būdu funkcionuojantis kaip profilaktinė priemonė), kas skatina gelių platų panaudojimą sveikatos priežiūros arba sveikatingumo srityje.

Konkrečiai, švarios rankos yra vienas svarbiausių faktorių pavojingų mikrobo plitimo ir atsparumo antibiotikams prevencijai sveikatos apsaugos srityje. Higieniškiausi rankų plovikliai, naudojami šiuolaikiškoje medicinoje, yra alkoholio pagrindu ir turi keletą trūkumų. Svarbiausias iš šių trūkumų yra odos pažeidimas dėl pakartotino naudojimo produktų alkoholio pagrindu. Kai kuriais atvejais buvo nustatytas (1) dirginantis kontaktinis dermatitas ir taip pat (2) alerginis kontaktinis dermatitas. Tai sumažina daugelio sveikatos priežiūros darbuotojų laikymąsi švaros, naudojant rankų higienos produktus.

Kitas faktorius, sąlygojantis nesilaikymą veiksmingos rankų higienos praktikos yra faktas, kad, būdami skysti, rankų higienos produktai paprastai ilgam yra įtvirtinami virš plovimo kriauklių arba prausyklių. To pasekoje sveikatos priežiūros personalas turi nueiti nuo paciento lovos prie prausimosi kriauklės ir atgal prie kito paciento. Jeigu rankų plovimą būtų galima „ištrinti“, ši problema būtų pašalinta ir tokiu būdu įgalindama geriau laikytis tvarkos. Šio išradimo pateikti hidrogelio produktai žymiais kiekiais sumažina parodomųjų organizmų bakterijų kiekius per ištęstus laiko periodus, kaip čia detalai aprašyta, tokiu būdu rezultate pateikdami perspektyvų alternatyvų rankų higienos produktą. Atitinkamai, šio

LT 5643 B

išradimo hidrogelio produktai taip pat sėkmingai gali būti naudojami kaip odos apsaugos priemonės, normalią sveiką odą apsaugodami nuo įvairių patogeninių medžiagų profilaktikos tikslais.

Kitame pateiktame įgyvendinimo aspekto sidabro pagrindo produktai mažiausiai dalinai arba kai kuriais atvejais iš esmės pilnai gali būti pakeisti šio išradimo sidabro/vandens kompozicijomis. Svarbiausiai, buvo atrasta, kad sidabras EDTA (arba AgEDTA) pats savaime, pasižymi labai vidutinėmis antimikrobinėmis charakteristikomis. Konkrečiai, kaip aprašyta aukščiau, dinatrio EDTA yra tinkamas priedas panaudoti su šio išradimo sidabro/vandens kompozicijomis. Tačiau, EDTA (edeto rūgštis) yra puikus sintetinis chelatinis agentas. EDTA (C₁₀-H₁₆-N₂-O₈) yra leidžiamas naudoti žmogaus maisto produktams ir dažnai yra pridodamas į švelnius gėrimus, kaip konservantas. EDTA taip pat yra naudojamas sunkiųjų metalų chelatinimo terapijoje augliams. Tačiau, kas nebuvo apsvartyta, tai AgEDTA panaudojimas kaip antimikrobinės priemonės (pvz., pati kaip tokia arba derinyje su kitais vaistiniai preparatais, tokiais kurie yra aprašyti čia). Plataus vartojimo produktai, tokie kaip mėsa arba baltymų gamyba ir perdirbimo pramonė, muilo pramonė, detergentų pramonė (pvz., asmeninės arba namų apyvokos produktų), žemės ūkio arba žemės ūkio pasėlių pramonė ir sveikatos priežiūros pramonė gali sėkmingai panaudoti stabilaus sidabro, kuris gali suteikti galingos sveikatos arba sveikatingumo pojūčius (pvz., tiek terapiškai, tiek profilaktiškai). milteliais. Konkrečiai, AgEDTA yra lengvai pritaikomas ir santykinai paprastai pagaminamas, saugomas ir transportuojamas. Šis išradimo įgyvendinimo aspektas atskleidžia naują AgEDTA panaudojimą, būtent, naudojant AgEDTA miltelius žmogaus, augalų ir/arba gyvūnų sveikatai arba sveikatingumui ir/arba tam tikrų gyvūnų ir žmogaus sutrikimų gydymui (pvz., gali būti panaudotas terapiniam ir/arba profilaktiniam gydymui). Akzo-Nobel šiuo metu gamina tinkamą AgEDTA. Kiti sidabro chelatinimo arba kompleksodaros agentai, tokie kaip, pavyzdžiui, sidabro EDDS, sidabro kurkuminatas, sidabro berberinas ir sidabro tetraciklinas, taip pat pagerina antimikrobines savybes ir šių medžiagų panaudojimas žmonių arba gyvūnų sveikatai ir sveikatingumui taip pat yra naujas nežinomas šioje srityje. Įvairios kitos organinės struktūros gali būti panaudotos pernešti ir/a pristatyti sidabrą ir/arba sidabro jonus į įvairias veiksmingas alokacijas arba į biologines struktūras. Pasikartojant, reikalingas AgEDTA kiekis svyruos, priklausomai nuo konkrečių biologinių priežasčių ir supančių reikmių (pvz. gydymo reikalavimų ir/arba profilaktikos).

Kitame išradimo pateiktame įgyvendinimo aspekto papildomi sidabro pagrindo neorganiniai produktai gali būti mažiausiai dalinai, kai kuriais atvejais iš esmės pilnai pakeisti šio išradimo sidabro/vandens kompozicijomis. Konkrečiai, sidabras (pvz., sidabro jonai, sidabro metalas, Ag⁺) gali būti kontroliuojamai prisijungęs arba prisitvirtinęs, pavyzdžiui, ant arba tarp molio sluoksnių ir/arba zeolitų narvelių viduje. Toks prisitvirtinimas gali atsirasti, kontroliuojant, pavyzdžiui, silikato sluoksnį, zeolito narvelio įkrovą, o taip pat atstumus tarp sluoksnių arba zeolito narvelio dydį. Šiuo atžvilgiu, sidabras gali būti prisijungęs arba prisirišęs tvirtai arba santykinai laisvai, priklausomai nuo konkretaus taikymo sveikatai arba sveikatingumui ir sąveikos taško tarp sidabro ir biologinės medžiagos (pvz., ant biologinės medžiagos paviršiaus arba vidinėje dalyje arba vidinių dalių derinyje ir kt.). Atitinkamai, susidarę produktai gali apimti produktus, kurie yra visiškai skysti ir todėl yra geriami arba purškiami; taip pat ir produktus, kurie yra gelio pavidalo arba pastos pavidalo ir yra purškiami ant paviršių kaip geliai arba pastos.

Bet kurie iš čia aptartų metalų gali būti laikomi kristaliniame arba amorfiniame klatrate vieno arba kelių atominių sluoksnių deguonies arba deguonies turinčių molekulių. Tam tikros metalo/klatrato struktūros parodė nenumatytą veiksmingumą. Be to, be sidabro į oksidų sluoksnio (pvz. moliai) ir tinkelių (pvz. zeolitai) struktūrą įtraukti silikatai, fosfatai ir oksidai, tokie kaip hidrokalcitai, taip pat gali būti naudojami. Be to, pageidaujami moliai arba žėručio rūšys, kurios gali būti naudojamos su šiuo išradimu (ir kurios gali turėti skirtingus paviršiaus krūvius ir/arba skirtingus atstumus tarp sluoksnių) apima, pavyzdžiui, ilitus, montmorilonitus, chloritus ir vermikulitus.

Moliai arba žėručiai, kaip ir zeolitai, yra labai priimtini kaip metalo(u) jono nešikliai dėl keleto priežasčių, įskaitant tai, kad daugelis jų natūraliai sutinkami ir lengvai gaunami, dalelės gali būti išlaikomos pageidaujamo koloidinio dydžio svyravime, kas daro jas, pavyzdžiui, tinkamas suspenduoti skysčiuose (pvz., vandenyje) ir yra tipiškai biologiniu požiūriu labai artimos (pvz., nedideli arba nėra šalutinių poveikių). Šiuo atžvilgiu, kai sidabras yra patalpinamas, pavyzdžiui, į molį arba zeolito klatratą, tada molekulės yra pakaitinamos iki vidutiniškos temperatūros (pvz., 100–200°C), siekiant priišti sidabrą prie arba įvesti į klatratą. Visos šios medžiagos gali būti pagamintos labai plataus klampumo diapazono, nuo labai skystų iki labai klampių.

LT 5643 B

Apskritai, bet kurio pateikto valentingumo elementuose, tokiuose kaip katijonai, elektroniniai lygiai gali keistis, kai toks elemento katijonas yra koordinuojamas įvairiais anijonais. Konkrečiai, kuo kovalentiškesnė jungtis, tuo daugiau energinių lygių gali būti pakeista. Galimas dalykas, kad sidabro elektroninėje struktūroje atsirastų nuo smulkių iki vidutinių pakitimų, kai sidabras yra apsuptas (arba koordinuojamas) skirtingu oksido jonų skaičiumi. Katijonų, tokių kaip sidabro katijonai, elektroninėje struktūroje toks pakitimas gali atsirasti bet kuriose iš įvairių sidabro oksido struktūrų. Be to, yra labiau įprastas būdas, kuriuo sidabras gali būti patalpintas į deguonies klatratą arba narvelį. Šiuo atžvilgiu, sustiprinant, pavyzdžiui, natrio katijoną struktūroje su sidabro katijonu, tada gali atsirasti natrio jonai, esantys keičiamose ertmėse arba vietose (pvz., arba ant arba tarp molio lakštų arba zeolitų tinklelių viduje). Bendrai, vienos medžiagos galimybė pakeisti katijonus yra žinoma kaip jos „CEC“ arba „katijonų mainų talpa“. CEC įprastiniai vienetai yra tokie, kaip mekv/100 gramų“ arba miliekvivalentai vienam šimtui gramų. Bendrai, kuo didesnis CEC skaičius, tuo didesnė medžiagos galimybė priimti katijonus (pvz., sidabro katijonus). Atitinkamai, deguonimi koordinuojami sidabro junginiai gali vaidinti sidabro (arba kitų metalų) nešiklio vaidmenį ir tokiu būdu gali veikti kaip terapiniai agentai vieni arba derinyje su kitais terapiniais agentais.

Be to, sidabro metalo arba sidabro jonų įvedimas į silikagelį difuzijos ir džiovinimo pagalba taip pat yra tinkami šio išradimo mechanizmai metalų išnešiojimui.

Kitame pateiktame išradimo įgyvendinimo aspektoje aukščiau nurodytų dalelių, organinių ir/arba neorganinių struktūrų deriniai gali būti naudojami pozityviam poveikiui žmonių ir gyvūnų sveikatai ir sveikatingumui. Ypatingai, metalų dalelės pagal šį išradimą gali būti naudojamos vienos, kaip aptarta aukščiau. Be to, metalų dalelės gali būti derinamos su, pavyzdžiui, aukščiau aptartais organiniais junginiais (pvz., AgEDTA). Be to, Metalų jonai pagal šį išradimą gali būti sujungiami su bet kuriuo iš organinių junginių (pvz., moliai arba zeolitai). Be to, metalų jonai pagal šį išradimą gali būti sujungiami su abiem organinėmis molekulėmis (pvz., AgEDTA) ir neorganinėmis molekulėmis (pvz., moliai ir zeolitai). Šis sidabro metalų arba sidabro jonų išnešiojimo sistemų derinys gali būti sudarytas taip, kad, pavyzdžiui, bet kurios iš aukščiau paminėtų sidabro išnešiojimo sistemų vidinis sunaudojimas gali baigtis sidabro pateikimu skirtingoms, pavyzdžiui, organizmo dalims. Konkrečiai, pavyzdžiui, žmonėse tam tikras sidabras gali būti absorbuojamas burnoje, per

virškinimo traktą, o taip pat per plonąją arba storąją žarną ir kt. Be to, priklausomai nuo, pavyzdžiui, molio(ių) arba zeolito(u) kiekio santykio su vandeniu (taip pat įvairių čia aprašytų gelinančių junginių) susidaręs(ę) šio išradimo produktas(ai) gali būti nuo labai skystų (mažo klampumo) iki labai tirštų (didelio klampumo). Šiuo atžvilgiu, bendrai, kuo daugiau molio arba zeolito patiekama santykinai su vandeniu (taip pat ir gelinančio agento), tuo klampesnis galutinis produktas.

Smulkus išradimo aprašymas

Šis aprašymas yra pateiktas, siekiant bet kurį šios srities specialistą įgalinti susipažinti ir naudoti išradimą ir pateikia geriausius metodus, sugalvotus išradėjo išradimo vykdymui. Taigi, įvairios modifikacijos liks aiškiai akivaizdžios tiems, kurie dirba šioje srityje, tačiau pagrindiniai šio išradimo principai konkrečiai buvo atskleisti čia, siekiant pateikti patobulintą sidabro/vandens kompoziciją (kartais nurodoma kaip sidabro nanodalelės disperguotos vandenyje), kuri gali būti naudojama kaip tokia arba derinyje su (pvz., sumaišyta su arba iš esmės tiekiamą labai gretimai su šiuo) kitomis nurodytomis medžiagomis, ir kuri gali būti suformuota į įvairių gelių arba pastų kompozicijas, visos iš kurių pasižymi ryškiomis galimybėmis sunaikinti žmogaus ir/arba gyvūno patogenus tiek *in vivo* tiek *in vitro*.

Apskritai, šis išradimas pateikia naują požiūrį į mikroorganizmų, kurie yra pavojingi žmogui ir/arba gyvūnams, sunaikinimą ir nukenksminimą, naudojant sidabro nanodaleles vandenyje, 5—40 ppm sidabro koncentracijos; arba aktyvias sidabro daleles, esančias, pavyzdžiui, AgEDTA, ir arba kitus čia aprašytus junginius. Priklausomai nuo taikymo ir esančių priedų, sidabro/vandens kompozicija gali būti naudojama į vidų ir išoriškai. Priklausomai nuo taikymo, sidabro/vandens kompozicija taip pat gali turėti įvairius pageidaujamus priedus, daugelis iš kurių nebuvo čia konkrečiai išvardinti, bet yra akivaizdūs kaip turintys panaudojimą eiliniam šios srities specialistui.

TRUMPAS FIGŪRŲ APRAŠYMAS

Figūros 1—6 rodo TEM fotomikrodiagramas, gautas įvairiai padidinant sidabro daleles, susidariusias sidabro/vandens kompozicijose, pagamintose pagal šį išradimą.

Figūra 7a—7d rodo TEM fotomikrodiagramas, sudarytas iš įvairių TEM ir naudojant skirtingą techniką iš tos, kuri panaudota gauti figūras 1—6; ir Figūra 7e rodo (EDAX) sidabro dalelių, gautų iš šio išradimo sidabro/vandens kompozicijų, pagamintų pagal šį išradimą, EDS spektrą.

Figūra 8 rodo elektronų difrakcijos modulį, gautą iš sidabro dalelių, iš sidabro/vandens kompozicijų, pagamintų pagal šį išradimą.

Figūra 9 apima tris SEM fotomikrodiagramas, kurios kartu rodo įmanomą elektronų pluošto pakenkimą į sidabro daleles, gautas iš šio išradimo sidabro/vandens kompozicijų.

Figūra 10 rodo naujo sidabro elektrono, prieš tai naudoto pagal šio išradimo būdą, SEM fotomikrodiagramą.

Figūros 11, 12 ir 13 rodo 1, 2 ir 3 porcijų, atitinkamai parodytų Figūroje 10, EDS pagrindines analizes.

Figūra 14 rodo elektrodo galiuko, naudojamo sidabro/vandens kompozicijų pagal šį išradimą gamybai, SEM fotomikrodiagramą.

Figūros 15 ir 16 rodo 1 ir 2 porcijų, atitinkamai parodytų Figūroje 14, EDS pagrindines analizes.

Figūra 17 rodo SEM fotomikrodiagramą, gautą prie maždaug 3500X naudoto sidabro elektrodo galiuko.

Figūros 18a ir 18b yra sidabro dalelių, gautų iš GNC skysto sidabro dietinio papildų (25ppm), TEM fotomikrodiagramos.

Figūros 19a ir 19b yra sidabro dalelių, gautų iš koloidinio sidabro produkto, žinomo kaip „Silverado“, TEM fotomikrodiagramos.

Figūros 20a ir 20b yra sidabro dalelių, gautų iš koloidinio sidabro produkto, žinomo kaip Vitaminų Pasaulio Bioorganiniai Pažangūs Koloidiniai Mineralai (3ppm), TEM fotomikrodiagramos.

Figūra 21 yra pateiktas sidabro dalelių penkių TEM fotomikrodiagramų, dvi iš kurių yra iš šio išradimo sidabro dalelių ir trys iš kurių yra iš sidabro dalelių, gautų iš prekyboje sutinkamų koloidinių sidabrų, palyginimas.

Figūros 22a ir 22b rodo septynis skirtingus Ramano spektrus, trys iš kurių atitinka šio išradimo sidabro/vandens kompozicijas, vienas atitinka gryną vandenį, vienas atitinka dejonizuotą vandenį ir du atitinka prekyboje sutinkamus koloidinius sidabro produktus.

Figūra 23a rodo du Ramano spektrus, atitinkančius išradimo sidabro/vandens kompozicijas; ir Figūra 23b rodo tris Ramano spektrus, kurie atitinka trims prekyboje sutinkamiems koloidiniams sidabro produktams.

Figūra 23c rodo kitą Ramano spektrą, atitinkantį išradimo sidabro/vandens kompozicijas.

Figūra 24a rodo šio išradimo sidabro/vandens kompozicijos Ramano spektrą; figūra 24b rodo tris sidabro/vandens, cinko/vandens ir vario vandens kompozicijų Ramano spektrus.

Figūra 25 rodo bakterinės sinergijos galimų sąveikų disko funkcijos teste diagramą.

Figūra 26 rodo šachmatine tvarka išdėstytų titratų ir priemaišas vaizduojančias kreives, sinergistinius ir antagonistinius derinius terapijoje.

Figūra 27 rodo MDR išskyrų iki 10 ppm sidabro/vandens mišinių jaudrumą.

Figūra 28 rodo MRSA antibiotikų derinių nuotraukas.

Figūra 29 rodo E. coli antibiotikų derinių nuotraukas.

Figūra 30 rodo *Pseudomonas* antibiotikų derinių nuotraukas; Figūra 31 rodo momentinės taikomos įtampos ir momentinės sidabro koncentracijos diagramą, kaip proceso laiko funkciją per sidabro/vandens kompozicijos susidarymo procesą.

Figūra 32 rodo momentinės sidabro koncentracijos diagramą kaip funkciją proceso laiko, atitinkamai naudojant absorbcinės spektroskopijos ir elektrinio specifinio laidumo būdus. Ši Figūra taip pat rodo sidabro koncentraciją po 32 gamybos valandų ir po homogenizacijos.

Figūra 33 rodo momentinę taikomos įtampos, jėgos faktoriaus ir sidabro koncentracijos diagramą, kaip funkciją proceso laiko per išradimo sidabro/vandens kompozicijos susidarymo procesą.

Figūra 34 yra diagrama, rodanti SILDERM drėgmės praradimą.

Figūra 35 yra diagrama, rodanti SILDERM drėgmės sugėrimą.

Figūra 36 yra nuotrauka, rodanti sidabro chelatų (Ag EDTA, gaminamų Akzo-Nobel) antibakterinį aktyvumą prieš *Pseudomonas aeruginosa* (MRD).

Figūra 37 yra nuotrauka, rodanti sidabro chelatų (Ag EDTA, gaminamų Alpha Chemicals) antibakterinį aktyvumą prieš *Pseudomonas aeruginosa* (MRD).

Figūra 38 yra nuotrauka, rodanti SILDUST jautrumą prieš *E. coli* (MDR).

Figūra 39 yra nuotrauka, rodanti SILDUST antivirusinį aktyvumą, kaip demonstravimo laiko funkciją.

Figūra 40 yra centrinės bandymo lėkštės nuotrauka, rodanti plokštelių augimą.

Figūra 41 yra bandymo lėkštės nuotrauka, rodanti plokštelių nebuvimą po trijų valandų ir tokiu būdu rodanti SILDUST antibakteriofaginį aktyvumą.

Figūra 42 rodo 200 ppm išradimo sidabro/vandens kompozicijos rentgeno difrakcijos modulius; ir keturi pateikti rentgeno difrakcijos eilės (dryžiai) greitai prisikabina po to (pvz., AgO, Ag₂CO₃, Ag ir Ag₂O).

Figūra 43 rodo Ag₄O₄ „TGA“ analizę, o taip pat Ag₄O₄ „DTA“ analizę.

Figūros 44a ir 44b yra SEM mikronuotraukos, kurios atitinka išradimo kaolinito/sidabro mišinius, gautus pagal šį išradimą.

Figūros 45a ir 45b yra EDS (EDAX) analizės, atitinkamai atitinkančios 44a ir 44b fotomikrodiagramas.

Figūra 46 yra naujojo zeolito/sidabro mišinio, gaunamo pagal šį išradimą, SEM fotomikrodiagrama.

Figūra 47 yra zeolito Linde 4A, turinčio savyje pakeisto sidabro ir gaunamo pagal šį išradimą, EDS (EDAX) analizė.

Figūra 48a rodo 10ppm sidabro/vandens tirpalo ir 32ppm sidabro/vandens tirpalo per 190nm—400nm bangos ilgio svyravimą (abu gaunami pagal šį išradimą) ultravioletinį spektrą; ir Figūra 48b rodo tokių pačių mėginių per 190nm—250nm svyravimą ultravioletinį spektrą.

GERIAUSI ĮGYVENDINIMO VARIANTAI

Yra pateikti sekantys neribojantys įgyvendinimo variantai:

Kompozicija, turinti sidabro nanodalelių, koloidiškai suspenduotų vandenyje, kur bendras sidabro kiekis yra tarp 5 ir 40 ppm, kur kompozicija užmuša arba suardo mikroorganizmus, kurie yra pavojingi žmonėms ir/arba gyvūnams.

Kompozicija, turinti sidabro nanodalelių, koloidiškai suspenduotų vandenyje, kur bendras sidabro kiekis yra maždaug 10+2 ppm, kur kompozicija užmuša arba suardo mikroorganizmus, kurie yra pavojingi žmonėms ir/arba gyvūnams.

LT 5643 B

Kompozicija, turinti sidabro nanodalelių, koloidiškai suspenduotų vandenyje, kur bendras sidabro kiekis yra maždaug 22+2 ppm, kur kompozicija užmuša arba suardo mikroorganizmus, kurie yra pavojingi žmonėms ir/arba gyvūnams.

Kompozicija, turinti sidabro nanodalelių, koloidiškai suspenduotų vandenyje, kur bendras sidabro kiekis yra maždaug 32+3 ppm, kur kompozicija užmuša arba suardo mikroorganizmus, kurie yra pavojingi žmonėms ir/arba gyvūnams.

Hidrogelio kompozicija, gaunama iš pirminės sidabro/vandens kompozicijos, turinčios sidabro nanodalelių, koloidiškai suspenduotų vandenyje, kur bendras sidabro kiekis pirminėje medžiagoje yra geriau maždaug 32+3 ppm (bet gali būti žymiai mažiau) kur hidrogelio kompozicija užmuša arba suardo mikroorganizmus, kurie yra pavojingi žmogaus kūnui ir veikia, kaip, pavyzdžiui, odos valiklis, priemonė žaizdai gydyti ir/arba odos apsauginė priemonė arba odą dezinfekuojanti priemonė.

Reiktų pripažinti, kad tikslus sidabro dalelių sidabro/vandens kompozicijoje bendro kiekio nustatymas nepilnai tiksliai apibūdina medžiagą. Kadangi kompozicijoje esančios nanodalelės yra gaunamos mažesnės, duota sidabro koncentracija pateiks didesnę dalelių skaičių. Be to, duotos sidabro koncentracijos bendras paviršiaus plotas padidės. Taigi, dalelių dydžiai ir dalelių dydžių svyravimai yra svarbūs parametrai išradimo sidabro/vandens kompozicijos veiksmingumo apibūdinimui. Be to, dangalas(ai), toks kaip oksido dangalai (pvz., dalinai arba pilnai susidarę) ant minėtų sidabro dalelių taip pat gali veikti išradimo sidabro/vandens kompozicijų veiksmingumą, kur šie dangalai natūraliai susidaro šio išradimo proceso sąlygomis. Tačiau, panašūs apdangalai ant sidabro dalelių gaunami kitais būdais (taip pat ir metalais, kitais, negu sidabras, tokiais kaip cinkas, varis, vario lydiniai, titanas, platina ir šių mišinių lydiniai) yra taip pat apibūdinami kaip šio išradimo matavimai ir ribos. Atitinkamai, nors čia yra nurodomas sidabras, įvairių kitų alternatyvių čia paminėtų metalų panaudojimas taip pat apibūdinamas kaip demonstruojantis galimą veiksmingumą, priklausomai nuo konkrečių biologinių sąlygų (pvz., įskaitant specifinius patogenus).

Kitas įgyvendinimo variantų tipas yra bet kurios iš aukščiau apibūdintų kompozicijų, kur daugiau negu 50% sidabro nanodalelių turi maksimalų dydį, mažesnę negu 0,015 mikrometrų.

Kitas įgyvendinimo variantų tipas yra bet kurios iš aukščiau apibūdintų kompozicijų, kur daugiau negu 75% sidabro nanodalelių turi maksimalų dydį, mažesnę negu 0,015 mikrometrų.

Kitas įgyvendinimo variantų tipas yra bet kurios iš aukščiau apibūdintų kompozicijų, kur daugiau negu 90% sidabro nanodalelių turi maksimalų dydį, mažesnį negu 0,02 mikrometrų.

Kitas įgyvendinimo variantų tipas yra bet kurios iš aukščiau apibūdintų kompozicijų, kur daugiau negu 75% sidabro nanodalelių turi minimalų dydį, didesnį negu 0,005 mikrometrų.

Kitas įgyvendinimo variantų tipas yra bet kurios iš aukščiau apibūdintų kompozicijų, kur daugiau negu 90% sidabro nanodalelių turi minimalų dydį, didesnį negu 0,005 mikrometrų, ie mažesnį negu 0,040 mikrometrų.

Kitas įgyvendinimo variantų tipas yra bet kurios iš aukščiau apibūdintų kompozicijų, kur sidabro dalelės turi dvejopą sidabrą nulinio valentingumo, kuris, būdamas metalinis, oksidacinio būvio ($\text{Ag}(\text{O})$) yra šerdyje arba jos centrinėje dalyje, mažiausiai vienas sidabro dangalas joninėje oksidacijoje, parinktas iš grupės, susidedančios iš $\text{Ag}(\text{I})$, $\text{Ag}(\text{II})$ ir $\text{Ag}(\text{III})$, su dangalu iš AgO , Ag_2O ir/arba Ag_4O_4 , dažniausiai yra mažiausiai (arba iš esmės pilnai) ant metalinio sidabro dangalo dalies.

Kitas įgyvendinimo variantų tipas yra bet kurios iš aukščiau apibūdintų kompozicijų, kur sidabro dalelės turi dvejopą sidabrą nulinio valentingumo, kuris yra metalinis, oksidacinio būvio ($\text{Ag}(\text{O})$) ir sidabro oksido dangalą su stoichiometrinium AgO arba Ag_2O arba kitu žinomu stoichiometriškai, kuris išlieka pastovus proceso sąlygose, naudojamose išradimo Ag_2O naujų sidabro/vandens kompozicijų gamybai.

Kitas eksperimentinis požymis rodo, kad sidabro oksido dangalai, natūraliai atsirandantys ant šio išradimo dalelių mažiausios dalies, mažiausiai yra, pavyzdžiui, Ag_4O_4 – tai yra sidabro II oksido, formos. Šios medžiagos molekulėje du sidabro atomai gali būti 1^+ būvyje (sidabras I), kai tuo tarpu kitos dvi sidabro molekulės gali būti 3^+ būvyje (sidabras III). Be to, esant tam tikroms sąlygoms, sidabras gali būti 2^+ (sidabras II), sudarantis mažiausiai dalį, pavyzdžiui, Ag_2O , dangalų. Šie dangalai natūraliai susidaro šio išradimo proceso sąlygose (pvz., šios sąlygos sukurtos prie ir aplink elektrodo/vandens sąveikos) ir gali būti labai svarbūs bendram šio išradimo sidabro/vandens kompozicijų veiksmingumui. Būtent dangalų kompoziciją buvo iki šiol sunku nustatyti, bet čia vėliau sekančioje apibūdinimų dalyje buvo pateiktos eksperimento detalės.

LT 5643 B

Kitas įgyvendinimo variantų tipas yra bet kurių aukščiau apibūdintų sidabro/vandens įgyvendinimo variantų derinys su vandenilio peroksidu, 1—3 masės % vandenilio peroksido lygiu galutiniame produkte.

Kitas įgyvendinimo variantų tipas yra bet kurių aukščiau apibūdintų sidabro/vandens įgyvendinimo variantų derinys su dinatrio EDTA 0,5—10 ppm lygiu galutiniame produkte.

Kitas įgyvendinimo variantų tipas yra bet kurių aukščiau apibūdintų sidabro/vandens įgyvendinimo variantų derinys su maždaug 50—75 tūrio % pakeitimu 10% povidono jodu, pakeičiant maždaug 25—50% sidabro/vandens mišinio galutiniame produkte.

Kitas įgyvendinimo variantų tipas yra bet kurių aukščiau apibūdintų sidabro/vandens įgyvendinimo variantų derinys su įvairiais prekyboje sutinkamais antibiotikais (arba skystos formos, arba miltelių formos), siekiant gauti sinergistiškai veiksmingas derinių terapijas.

Kitas įgyvendinimo variantų tipas yra būdai, skirti panaudoti visas aukščiau minėtas kompozicijas prieš žmogaus arba gyvūno patogenus, arba: (1) vidiniam vartojimui (2) išoriškai arba (3) kartu vidiniam vartojimui ir išoriškai.

Kitas įgyvendinimo variantų tipas apima AgEDTA panaudojimą žmogaus ir/arba gyvūno sveikatai arba gerai savijautai.

Kitas įgyvendinimo variantų tipas apima kitų sidabro agentų, tokių kaip, pavyzdžiui, sidabro EDDS, sidabro kurkuminato, sidabro berberimo ir sidabro tetraciklino panaudojimą.

Kitas įgyvendinimo variantų tipas apima kitų metalų, tokių kaip cinkas, varis, vario lydiniai, titanas, platina ir jų lydiniai arba mišiniai, tarpusavyje pakeičiamus sidabru panaudojimą tiek čia aprašytuose paruošimo, tiek gamybos pritaikymo būduose. Trumpai tariant, dažniausiai šiuo atveju čia yra nurodomas sidabras, tačiau turėtų būti suprantama, kad kiti čia atskleisti kiti metalai gali būti vienodai naudingi.

Kitame pateiktame išradimo įgyvendinimo variante papildomi sidabro pagrindo neorganiniai produktai gali būti mažiausiai dalinai, arba kai kuriais atvejais, iš esmės pilnai pakeisti šio išradimo sidabro/vandens kompozicijas. Tiksliau sakant, sidabras (pvz., sidabro jonai, Ag⁺, sidabro metalas) gali būti kontroliuojamai prisirišęs arba fiksuotas, pavyzdžiui, tarp molių sluoksnių ir/arba zeolitų narvelių viduje. Toks fiksavimas gali atsirasti, kontroliuojant, pavyzdžiui, silikato sluoksnio krūvį, zeolito narvelio krūvį, o taip pat atstumus tarp sluoksnių arba zeolito narvelio

dydį. Šiuo požiūriu, sidabras gali būti tampriai arba santykinai laisvai prisirišęs arba prisijungęs, priklausomai nuo konkrečios sveikatos arba sveikatingumo programos taikymo sąveikos taško tarp sidabro ir biologinės medžiagos (pvz., ant biologinės medžiagos paviršiaus arba vidinėje dalyje arba vidinių dalių derinyje). Atitinkamai, susidarę produktai gali apimti produktus, kurie yra visiškai skysti ir todėl yra geriama arba purškiami; o taip pat produktus, kurie yra gelio pavidalo arba pastos pavidalo ir yra paskleidžiami ant paviršių kaip geliai arba pastos. Kristalinis arba amorfinis klatratas gali turėti bet kurio iš čia aptartų metalų iš vieno arba kelių deguonies arba deguonies turinčių molekulių atominių sluoksnių. Tam tikros metalo/klatrato struktūros pademonstravo nenumatytą veiksmingumą. Be to, be sidabro, į arba ant oksido sluoksnio (pvz., molis) struktūros ir tinklinių struktūrų (pvz. zeolitai) įvesti silikatai, fosfatai ir oksidai, tokie kaip hidrotalcitai, taip pat gali būti naudojami. Be to, pageidaujami moliai arba žėručio rūšys, kurie gali būti naudojami su šiuo išradimu, (ir kurios gali turėti skirtingus paviršiaus krūvius ir/arba skirtingus atstumus tarp sluoksnių), apima, pavyzdžiui, ilitus, montmorilonitus, chloritus ir vermikulitus.

Molis arba žėrutis, o taip pat ir zeolitai, yra labai pageidaujamas(i) kaip metalo(u) jonų nešikliai dėl keleto priežasčių, įskaitant tai, kad daugelis jų yra natūraliai atsirandantys arba lengvai gaunami, dalelės gali būti laikomos pageidaujamo koloidų dydžio svyravimo, kas paverčia jas, pavyzdžiui, suspenduojamas skystyje (pvz., vandenyje) ir yra paprastai labai biologiškai artimos (pvz., mažos ir be šalutinių poveikių). Šiuo požiūriu, kai sidabras yra patalpinamas, pavyzdžiui, į arba ant molio arba zeolito, tada molekulės yra kaitinamos iki vidutinių temperatūrų (pvz., 100–200°C), siekiant pritvirtinti sidabrą prie arba į klatratą. Visos iš šių medžiagų gali būti pagamintos labai plačiu klampumo svyravimu nuo labai skystų iki labai klampių.

Be to, sidabro metalas arba sidabro jonai, įvesti į silikagelį išskleidant ir džiovinant, taip pat yra pageidaujami mechanizmai, skirti šio išradimo metalo jonų pristatymui.

Kitame išradimo derinių aukščiau minėtų dalelių pateiktame įgyvendinimo variante gali būti naudojamos organinės ir/arba neorganinės struktūros pozityviam žmonių ir gyvūnų sveikatos ir sveikatingumo poveikiui. Tiksliau, metalo dalelės pagal šį išradimą gali būti derinamos su, pavyzdžiui, aukščiau aptartais organiniais junginiais (pvz., AgEDTA). Be to, metalo jonai pagal šį išradimą gali būti derinami su bet kuriuo iš organinių junginių (pvz., moliai arba zeolitai). Be to, metalo

LT 5643 B

jonai pagal šį išradimą gali būti derinami tiek su organinėmis molekulėmis (pvz., AgEDTA), tiek su neorganinėmis molekulėmis (pvz., moliai arba zeolitai). Šis sidabro metalų arba sidabro jonų aprūpinimo sistemų derinys gali būti sudarytas taip, kad, pavyzdžiui, bet kurios iš aukščiau minėtų sidabro aprūpinimo sistemų vidinis sunaudojimas gali baigtis sidabro aprūpinimu į skirtingas organizmo, pavyzdžiui, dalis. Konkrečiai, pavyzdžiui, žmoguje tam tikras sidabras gali absorbuotis per burną, per virškinimo traktą, o taip pat per storąsias ir/arba plonąsias žarnas ir kt. Be to, priklausomai nuo, pavyzdžiui, molio(ių) arba zeolito(ų) kiekio, atitinkančio vandeniui (o taip pat įvairius čia aptartus gelinimo junginius), gautas(i) produktas(ai) gali būti nuo labai skysto (mažo klampumo) iki labai klampaus (aukšto klampumo). Bendrai šiuo požiūriu, kuo daugiau molio arba zeolito yra pateikiama, santykiyje su vandeniu (o taip pat gelinimo agentu), tuo klampesnis galutinis produktas.

PAVYZDŽIAI**KOMPOZICIJOS SUDARYMAS**

Sidabro/vandens kompozicijos gali būti gaunamos, remiantis būdu, aprašytu JAV patente Nr. 6214299, kurio esmė yra tiksliai atskleista čia su nuoroda.

Patektas kompozicijos, apimančios sidabrą pagal šį išradimą, gavimo būdas siūlo panaudoti elektrocheminę ląstelę, apimant elektrodus, ir apima pakopas:

- (a) mažiausiai dviejų sidabro elektrodų patalpinimą kontakte su didelio grynumo vandeniu;
- (b) elektros srovės perdavimą per sidabro elektrodus ir tokiu būdu sidabro dalelių atskyrimą nuo minėto sidabro elektrodo būdu, kuris pakankamai sukelia suspenduotų sidabro dalelių gamybą vandenyje; ir
- (c) vandens maišymą minėtos suspenduotų sidabro dalelių gamybos metu tokiu būdu disperguojant sidabro daleles į labiau nekintančią koncentraciją vandenyje taip kad kiekvienoje partijoje gali būti gaunami suspenduotų sidabro dalelių aukšta kokybė iš esmės nekintantis pasiskirstymas.

Kitas kompozicijos, apimančios sidabro/vandens kompozicijas, gavimo būdas siūlo panaudoti elektrocheminę ląstelę ir apima pakopas:

- (a) elektros grandinės, apimančios elektros šaltinį ir pirmojo konduktoriaus elektrinio prijungimo prie minėto elektros šaltinio ir antrojo

LT 5643 B

konduktoriaus elektrinio prijungimo prie minėto elektros šaltinio, sukūrimą, kur minėtas pirmasis konduktorius yra patalpintas per atstumą nuo antrojo konduktoriaus ir kur mažiausiai vienas iš konduktorių yra pagamintas iš sidabro elemento arba alternatyviai cinko, vario, vario lydinių, titano, platinos ir jų lydinių arba mišinių;

(b) grandinės uždarumą, patalpinant pirmąjį konduktorių ir antrąjį konduktorių sąlytyje su skystu rezistoriumi;

(c) elektros šaltinio valdymą, siekiant sukurti kintamą srovę tuo pačiu metu pirmajame konduktoriuje ir antrajame konduktoriuje taip, kad įtampa padidėja ir sumažėja pirmajame ir antrajame konduktoriuje ir kaitaliojant operacijas vieną paskui kitą tokiu būdu sukeliant sidabro (arba kito metalo) dalelių atsiskyrimą nuo pirmojo elektrodo ir skysto rezistoriaus įvedimą ir jų sąlytį suspensijoje su skystu rezistoriumi; ir

(d) selektyviai pritaikant elektrodus, juos stumiant link skysto rezistoriaus, siekiant kompensuoti elektrodo ilgio sumažėjimą dėl laipsniško sidabro dalelių atsiskyrimo ir tokiu būdu užkirsti kelią kibirkščiavimui atsirandančiam tarp elektrodų ir minėto skysto rezistoriaus ir palaikyti pageidaujamą srovės tankį elektrodų galuose.

Kiekviena vandens kamera arba rezervuaras, kuriame gaminamos sidabro/vandens kompozicijos, turi galingumo tiekimą, susidedantį iš aštuonių transformatorių (priimtinas transformatorius, skirtas panaudoti šiame išradime, yra Franceformer, serija Nr. 48765), apskaičiuotas 120 VAC galingumui ir maksimaliam 10500 VAC našumui, esant 30 miliamperų. Kiekviename transformatoriuje pageidautinai buvo įtaisyta 45 mikrofardų kondensatorius (toks, kaip Aerovox, serija Nr. M24P3745MP2), viela paraleliai pritvirtintas transformatoriaus tiekiamo galingumo laidui.

Transformatoriaus ir kondensatoriaus derinys kai kuriais atvejais gali būti naudingas ir kitais atvejais labai pageidaujamas. Konkrečiai, transformatorius padeda pernešti AC galingumo įtampą ir srovės sinuso bangas tarpusavyje į fazę. Laipsnis, kuriame tarpusavyje yra įtampa ir srovės fazėje, yra žinomas kaip galingumo faktorius. Kuo labiau galingumo faktorius yra 1,0, tuo labiau fazės susiderina tarp voltų ir amperų ir tuo labiau galingumas yra paduodamas į elektrodus (pvz., galingumas paprastai yra apibūdinamas, padauginus voltus iš amperų).

LT 5643 B

Kiekviename rezervuare yra įrengtas permatomas dangtis, pagamintas, pavyzdžiui, iš tinkamo polimero ir yra sukonstruotas su aštuoniomis elektrodų įtaisymo vietomis. Kiekvienoje elektrodo vietoje yra įstatytas elektrodas, pagamintas, pavyzdžiui, iš 18 dydžio sidabro plokštelės, apsuptas dviejų eikvojamų elektrodų, pagamintų iš, pavyzdžiui, 18 dydžio sidabro vielos (9999 grynumo). Elektrodai pageidautinai perpus yra sulenkti per vidurį ir galai susukti tarpusavyje į dvigubą spiralę, siekiant gauti sudėtingo derinio pageidaujamą įtampą ir galingumą. Į kiekvieną elektrodo vietą yra tiekama vieno transformatoriaus energija.

Kai kiekvienas rezervuaras yra paruoštas gamybai, elektrodai yra sureguliuojami taip, kad įtaisyti elektrodai turi gerą kontaktą su vandeniu (pvz., yra panardinama mažiausiai $1/3 \wedge A$ plokštelių) ir ėsdinami elektrodai yra virš vandens paviršiaus. Kai yra sukliamas galingumo padavimas, vanduo kyla ir sudaro kūgio pavidalo struktūra aplink kiekvieną ėsdinamą elektrodą. Ši kūgio pavidalo struktūra literatūroje yra žinoma kaip "Tailoro kūgis". Pradžioje vanduo yra labai grynas ir tai veikia kaip didelis elektrinis pasipriešinimas. Atitinkamai, kai naudojama, pavyzdžiui, fiksuotos srovės 10000 voltų transformatorius, elektrodams taikoma įtampa iš esmės gali būti labai aukšta, pavyzdžiui, maždaug 6500—8500 voltų, ir ėsdinami elektrodai gali būti 5—10 mm virš vandens paviršiaus, tokiu būdu pasiekiant pageidaujamą įtampą pageidaujamą srovės tankumą prie ėsdinamų elektrodų. Tai duoda santykinai didelį Tailoro kūgį dėl žemo vandens specifinio laidumo palyginus su aukštu elektrodo specifiniu laidumu (pvz., sukuriamas didelis laukas). Yra suformuojamas sidabro nanodalelių produktas, kadangi sidabro dalelės yra pašalinamos nuo ėsdinamų elektrodų oro-vandens-sidabro elektrodo sąlytyje. Kadangi vanduo paima vis daugiau ir daugiau sidabro dalelių, atsiranda vandens/sidabro mišinio lašelių elektrinis pasipriešinimas. Fiksuotoje srovėje arba srovę ribojančioje įrangoje, taikoma įtampa tada kris arba sumažės kaip laiko funkcija (žiūrėti, pavyzdžiui, figūrą 31). Atitinkamai, ėsdinami elektrodai tipiška yra žeminami, kad būtų glaudesni su vandens paviršiumi, pavyzdžiui, maždaug tik 1—2 mm virš vandens paviršiaus. Paprastai tariant, Tailoro kūgiai po to bus daug smailesni dėl mažesnio specifinio laidumo skirtumo tarp elektrodų ir vandens (pvz., egzistuoja mažesnis laukas). Iš esmės, ėsdinamų elektrodų ir/arba vandens lygis galėtų būti tinkamai nustatomas gamybos proceso metu, siekiant palaikyti pradinę geometriją. Netgi jei Tailoro kūgiai tampa mažesni šio proceso metu (tai išreiškia, pavyzdžiui, metalo dalelių perėjimas į tirpalą), maži Tailoro kūgiai vis dar egzistuos

proceso pabaigoje. Viso proceso metu kiekviename rezervuare vanduo yra maišomas su oru, siekiant palaikyti homogeniškumą.

Kai pageidaujamas arba numatytas sidabro ppm sidabro/vandens tirpale yra pasiekiamas, tada produktas gali būti praleidžiamas, jeigu pageidaujama, arba reikalaujama, pro 1 mikrono filtrą į vieną arba kelis labai didelius, pavyzdžiui, 2300—6500 galonų talpos laikymo rezervuarus ir tiriamas prieš supilstant į butelius gabenimui. Analizė yra atliekama sisteminimo būdu, naudojant kaitinimą ir azoto rūgštį, ir analizė vykdoma, naudojant Perkin-Elmer analizės 300 atomų absorbcijos spektrofotometrą. Po to gauta sidabro/vandens kompozicija gali būti maišoma su kitais ingredientais, siekiant gauti vandenilį, lakštinę medžiagą arba gali būti išpilstoma į butelius, kadangi yra arba gali būti maišoma (pvz., arba kaip skystis, arba kaip išdžiovinta ir pridedama kaip milteliai) su kitais priedais, kaip čia aprašyta kitur.

Remiantis figūra 32, tame pačiame bandyme yra parodyti 2 sidabro koncentracijos laukai, o taip pat ir keletas papildomos koncentracijos duomenų reikšmių. Pilka linija prie kvadratų reiškia momentinę sidabro koncentraciją (kaip nustatyta atomų absorbcijos spektroskopija), remiantis 60 ml mėginiu, paimtu pipete iš rezervuaro maždaug vidutiniame gylyje ir maždaug pusiaukelėje tarp rezervuaro centro ir sienų. Juodoji linija su rombais reiškia momentinę sidabro koncentraciją, kas grubiai numatyta, remiantis prieš tai sugraduotu prietaiso išmatuojant aukščiau minėto 60 ml skysčio mėginio elektrinę specifinę varžą. Remiantis neapdorota specifinės varžos duomenų išraiška, pradinė (pvz., laikas = nuliui) vandens elektrinė specifinė varža yra maždaug 175 kilo-ohm centimetrų. Palyginimui, ties 31 valandos žyma eigoje vandens/sidabro mišinio specifinė varža yra maždaug 62,7 kilo-ohm centimetrų.

Tuo pat žemiau koncentracijos/specifinės varžos duomenų taškas ties 32 valandų žyma yra atskiras duomenų taškas, pavaizduotas kaip "kvadratas". Šis duomenų taškas reiškia sidabro koncentraciją, kaip apibrėžta atomų absorbcijos spektroskopija po aukštos įtampos paleidimo, bet leidžiant burbuliuojantį skystį/mišinį toliau dirbti 20 valandų, siekiant homogenizuoti mišinį.

Viena išvada, kuri gali būti padaryta remiantis figūra 32 yra ta, kad pradžioje sidabras gali nebūti homogeniškai pasiskirstęs per visą rezervuarą, kuriame susidarė sidabras, nežiūrint esamo burbulinio tirpalo/mišinio veikimo

LT 5643 B

produkto eigos metu. Nėgana to, gali atsirasti tam tikras uždelsimo laikas pabaigus dėti sidabro priedus į vonią ir prieš tai, kol burbulinis tirpalas/mišinys gali "pagauti", ir homogeniškai paskirstyti sidabrą vandenyje.

Figūra 33 yra kitos momentinės įtampos ir sidabro koncentracijos diagramos, kaip laiko funkcija sidabro/vandens gamybos eigos metu. Be to, ši diagrama parodo momentinį galingumą tiekiančio transformatoriaus jėgos faktorių. Taigi, jėgos faktorius prasideda nuo maždaug 0,8, didinamas iki maksimumo maždaug 0,98 apie 6 valandas ir mažinamas iki žemutinės ribos maždaug 0,6 po maždaug 30 valandų. be to, įtampos/laiko duomenims buvo matematiškai pritaikyta lygybė $y = 2,1333 \ln(x) + 8,7057$, kur y reiškia įtampą ir x reiškia laiką. Sidabro ppm vandenyje yra išreikšta „kvadratais“ ir prasideda maždaug 1 ppm ir pasiekia maksimumą prie maždaug (pvz., dėl to, kad po filtravimo vanduo nėra pilnai grynas) 11 ppm po maždaug 30 valandų.

FIZINĖS CHARAKTERISTIKOS

Šio išradimo sidabro kiekio sidabro kompozicijose analizė gali būti vykdoma (acetilenu) elektrotermine atomų absorbcijos spektroskopija (FAAS), induktyviai sujungiama plazma (ICP), atomų emisijos spektroskopija (AES) arba kitais būdais, žinomais šios srities specialistui, kurie yra jautrūs sidabru tinkamame koncentracijos intervale. Jeigu sidabro kompozicijos dalelės yra mažos ir pastovaus dydžio (pavyzdžiui, 0,01 milimetro arba mažiau), gali būti gautas pagrįstai tikslus mėginys, nukreipiant koloidą tiesiai į atomų absorbciją arba ICP/AES. Tai yra dėl to, kad atomų absorbcijos spektroskopijos pavyzdinis preparatas iš esmės jonizuoja visą sidabrą, sudarydamas sąlygas greitam jo aptikimui.

Jeigu kompozicijos apima daleles 0,2 mikrometrų dydžio, yra siūloma panaudoti sistemine procedūra. Sistemine procedūra yra nebūtinai ideali sidabro kompozicijoms, kurios gali būti pagamintos ir saugomos kontakte su halidais arba kitais anijoniniais šaltiniais, kurie gali reaguoti su gerai sudalintu sidabru, arba derinamos su proteinu arba kita želatinine medžiaga. Sisteminės procedūros įgyvendinimas yra sekantis:

1. Analizei paimama 10 ml gerai išmaišytos arba sukratytos sidabro kompozicijos mėginys ir patalpinamas į švarų polikarbonato butelį arba kitą tinkamos

medžiagos talpą (paprastai, butelį) su sandariai pritaikytu dangteliu. Siūlomas 30—100 ml dydis.

2. Su mikropipete arba lašintuvu pridedama 0,1 ml azoto rūgšties, reagentas palaipsniui sudedamas į sidabro kompoziciją butelyje.

3. Sandariai uždarius butelio dangtelį, sidabro kompozicija kaitinama mažiausiai iki maždaug 80°C, ir siūloma maždaug iki 90°C—100°C lengvai maišant pakankamą sidabru ištirpti laiko tarpą – ištirpimas iš esmės yra momentinis.

4. Leidžiama reakcijos mišiniui atvėsti iki kambario temperatūros su uždarytu kamšteliu. Butelis nuodugniai pakratomas. Ši sisteminė procedūra taip pat ištirpina bet kurį sidabro oksido paviršinį sluoksnį, kuris gali atsirasti ant sidabro dalelių.

5. Atomų absorbcijos spektroskopijos, ICP/AES arba ekvivalento panaudojimas reiškia sidabro mišinio sidabro kiekio analizę. Geriau bus panaudotas šviežiai paruoštas standartas arba standartai, geriau paruošti su įranga pagal gamintojo instrukcijas, su tinkamu praskiedimu, kaip reikalinga.

6. Suvedant rezultatus, reikia turėti omenyje visus praskiedimus gamybos metu, įskaitant 1 % praskiedimą, sukeltą pridedant azoto rūgšties.

Šio išradimo sidabro/vandens kompozicijų sidabro koncentracija, atitinkanti figūrų 31, 32, 33 ir kt. duomenis, buvo nustatyta, naudojant Perkin Elmer AAnalyst 300 atomų absorbcijos (AA) spektrometrą. Išradimo sidabro/vandens kompozicijų pavyzdžiai buvo susisteminti aukščiau aprašyta procedūra.

PRINCIPAS

Perkin Elmer AAnalyst 300 sistema susideda iš didelio efektyvumo degiosios sistemos su universaliu brangakmenio tipo purkštuku ir atomų absorbcijos spektrometru. Degiklio sistema tiekia šilumos energiją, būtiną cheminių junginių išskaidymui, tiekiant analizuojamus laisvus atomus taip, kad vyktų atomų absorbcija. Spektrometras išmatuoja absorbuotos šviesos kiekį prie būdingo bangos ilgio, naudojant tuščiavidurę katodinę lempą, kaip pirminį šviesos šaltinį, monochromatorių ir detektorių. Deuterio lankinė lempa pataiso antraeilius absorbavimus, sukeltus neatominiais šaltiniais atomų debesyje.

SIDABRO IR SIDABRO/VANDENS KOMPOZICIJŲ FIZINIŲ/CHEMINIŲ FORMŲ ANALIZĖ

a. Įvadas

Kompozicijos mėginys, formaliai turintis 22 ppm sidabro vandenyje, buvo lėkio trukmės antrine jonų masės spektrometrija (TOF-SIMS), siekiant nustatyti sidabro formą kompozicijoje. Padaryta išvada, kad sidabro masės egzistuoja kaip sidabras (O) (tai yra metalinis sidabras) ir kad yra paviršius, vidutiniškai padengiantis kompoziciją, pavyzdžiui, sidabro (II) oksidas (AgO). kaip pažymėta aukščiau, sidabro (II) oksidas dažniausiai yra sidabro (I) ir sidabro (III) stoichiometrinis derinys.

B. Eksperimentinė procedūra

22 ppm išradimo sidabro kompozicijos keli lašai buvo išgarinti iki sausumo ant silicio substrato kambario temperatūroje. Liekana buvo tirama TOF-SIMS ir pažymėta, kaip bandinys. Minėto sidabro (II) oksido (AgO) medžiaga buvo tirama, patalpinant kelias minėtu miltelių, gautų iš prekybininkų silicio substratu, daleles, ir yra pažymėta su nuoroda.

Lėkio trukmės antrinės jonų masės spektrometrijos technikos (TOF-SIMS) pagrindą sudaro kieto mėginio bombardavimas su pulsuojančia, gerai sufokusuota pirminių jonų srove, principas ir po to antrinių jonų, gautų iš mėginio paviršiaus per lėkio trukmės masės spektroskopiją, analizavimas. Ši analizavimo technika yra paviršinis jautrumas, gaunanti jo informaciją iš sluoksnio, kuris išsitiesia nuo maždaug 20 iki 40 Å (vienas Angstromas = 1×10^{-4} mikrometrų) žemiau paviršiaus. TOF-SIMS technika paprastai yra naudojama kaip tyrimo priemonė, skirta identifikuoti nežinomų mėginių kompoziciją. Ji gali turėti kiekybinius įvertinimus, jeigu tinkami mikroanalitiniai standartai yra įmanomi sutikrinti. Ši analizė yra vykdoma, naudojant standartines aukšto masių išsiskaidymo sąlygas.

C. Rezultatai

Buvo gauta Ag(II)O nurodytos medžiagos neigiama jonų masė ir, atitinkamai, produkto mėginys. Abiejų spektrų masės spektrinė sritis parodė daugiau

negu vieno sidabro oksido, kurio daugiausiai yra mažiausiai sidabro dalelių apdangalo dalyje, rūšių buvimą. Duomenys rodo, kad sidabras (II) yra vidutinio sidabro, esančio ant mėginio dalelių paviršiaus, oksidacijos būvio. Sidabro oksido (pvz., AgO) rodomi ženklai demonstruoja žymiai aukštesnį intensyvumą nurodytame mėginyje, palyginus su produkto mėginiu, kuris yra tikriausiai, nes metalinis sidabras yra dominuojantis mėginyje. Bus suprantama, kad dalelių dydis mėginyje yra sumažinamas, sidabro santykis su sidabro oksidu taip pat sumažės, kuo daugiau bus sidabro oksido.

DYDŽIO/MORFOLOGINIS/KOMPOZICIJOS TYRIMAS

Yra panašu, kad čia aprašytas nepaprastas sidabro/vandens preparatų efektyvumas yra dėl ryšio tarp dalelių paviršiaus savybių/vidinių savybių (pvz., oksidas/metalas) ir/arba sidabro nanodalelių dydžio pasiskirstymo ir/arba sidabro nanodalelių morfologijos. Kuo mažesnis vidutinis dalelių dydis, tuo didesnis paviršiaus plotas ir didesnis įnašas į konkrečią paviršiaus chemiją. Tačiau, jeigu dalelės yra pernelyg mažos, gali atsirasti stabilumo praradimas ir/arba kitos sąveikos, kurios gali negatyviai veikti produktą. Šio išradimo sidabro/vandens kompozicijos yra puikios, nes jos yra stabilios iš esmės gryname vandenyje be paviršinio aktyvumo medžiagų ir kt. (pvz., daugelis šioje srityje žinomų koloidinių sidabrų reikalauja baltymų, siekiant palaikyti sidabro daleles suspensijoje). Taip pat sidabro/vandens kompozicijos iš esmės yra bespalvės, kai tuo tarpu kiti koloidiniai sidabro preparatai (konkrečiai didelių dalelių dydžių) paprastai turi spalvą. Šios savybės yra gamybos sąlygų rezultatas, kaip buvo aprašoma čia anksčiau.

Skaitmeninis kompozicijos tyrimas parodė, kad vidutinis dalelių diametras yra nuo 0,0106 mikrometrų su 0,005 svyravimu iki 0,0851 mikrometrų. Tačiau dydžių pasiskirstymo analizė rodo, kas daugiau negu 95 % dalelių yra maždaug nuo 0,005 mikrometrų ir iki maždaug 0,015 mikrometrų diametro.

Papildoma dalelių analizė buvo atliekama SEM, EDS (EDAX) ir TEM. Konkrečiai, sidabro/vandens kompozicijos buvo džiovinamos ir patalpintos ant EM plokštelių ir tiriamos SEM (t.y. skanavimo elektronų mikroskopu) ir dviem skirtingais TEM (t.y. transmisijos elektronų mikroskopais). Šios analizavimo priemonės nustatė, kad dalelių dydžio pasiskirstymas svyruoja 10–30 nm. Tačiau, tam tikras dalelių dydžio įvertinimas buvo būtinas kai kuriuose generuojančiuose

foromikrodiagramose, nes dalelės turėjo polinkį sukristi į gabalus arba aglomeruotis džiovinant. Džiovinamų aglomeratų dydis buvo tarp 50—100 nm. Figūros 1—6 rodo įvairius sidabro dalelių, išdžiovintų iš šio išradimo sidabro/vandens kompozicijų, TEM fotomikrodiagramas. Figūros 7a—7d rodo šio išradimo sidabro dalelių TEM fotomikrodiagramas, kur šios fotomikrodiagramos buvo gautos skirtingomis technikomis. Konkrečiai, šio išradimo sidabro/vandens kompozicijos buvo patalpintos ant C-plėvelės ir tiriamos krio-TEM (t.y. skirtingi TEM, negu TEM, kurie naudojami figūrų 1—6 gavimui) maždaug -100°C temperatūroje. Todėl šio išradimo sidabro/vandens kompozicijos buvo iš esmės tučtuojau užšaldytos. Krio-TEM veikė maždaug -100°C ir maždaug 100kV galingumo lygiu, ir gautos fotomikrodiagramos yra parodyti figūrose 7a, 7b ir 7c. Šios figūros 7a—7c aiškiai parodo, kad vidutinis dalelių dydis yra mažesnis, negu 20 nanometrų. Be to, figūra 7d rodo TEM analizę „SAD“ režime. Iš esmės, šios TEM fotomikrodiagramos (figūros 7a—7c) rodo nesusigrupavusių sidabro dalelių maksimalų dalelių dydį 15 nanometrų arba mažiau ir kai kurias mažesnes daleles 3,5—5 nanometrų intervale. figūroje 7d parodyta difrakcijos analinė nustato, kad visų pirma dalelės yra metalinis sidabras, yra multiplikotai suporintos ir iš esmės yra grynos. Šiose foromokrodiagramose yra užuomina į galimą apdangalą arba sluoksnį. Figūra 7e rodo sidabro dalelių, paimtų iš šio išradimo sidabro/vandens kompozicijų EDAX spektrą (t.y. energijos dispersijos spektras arba „EDS“). Figūra 7e rodo sidabro iš viso nemetalines priemaišas (pvz., Au, Pt ir kt). Esantis varis yra iš reikalingos mikroskopų įrangos. Yra akivaizdus esančio deguonies, kuris gali būti varyje, o taip pat kaip dangalas(ai) mažiausioje sidabro dalelių dalyje, žymus kiekis.

Figūra 8 rodo elektronų difrakcijos modulį, gautą iš šio išradimo sidabro dalelės. Šie duomenys rodo mažiausiai vieno sidabro oksidų rūšies buvimą. Tačiau šie duomenys yra dalinai interpretuojami, nes figūra 9 rodo, pavyzdžiui, galimą elektronų spindulių pažeidimą, atsirandantį sidabro dalelėms duomenų rinkimo proceso metu. Šis elektronų spindulių pažeidimas nėra kaip akivaizdus dalykas, kai tiriamas koloidinis sidabras gaminamas kitų gamintojų (aprašyta čia vėliau). Tokiu būdu, duomenų surinkimas, naudojant SEM ir TEM technikas, yra aiškiai sunkus, nes bet kurios iš dominančių paviršiaus kompozicijų elektronų spinduliai gali būti pažeidžiami (ir todėl kintantys). Tokiu būdu, šie rezultatai buvo kruopščiai gaunami ir analizuojami.

Figūra 42 rodo dar kitos charakterizuojančios priemonės rezultatus. Šiuo atveju, miltelių Rentgeno spinduliuotės difrakcijos technikos buvo panaudotos, stengiantis papildomai parodyti oksido fazės(ių) egzistavimą. Konkrečiai, figūra 42 rodo keturis Rentgeno spinduliuotės difrakcijos modulius, gautus iš keturių skirtingų vietų ant išdžiovintos 200 ppm sidabro/vandens kompozicijos, paruoštos pagal šį išradimą. Nėgana to, ant keturių rentgeno spinduliuotės difrakcijos modulių yra ypatingai prisikabinę keturi minėti kitokių, negu gryno sidabro metalo rūšių difrakcijos moduliai. Konkrečiai, 32 ppm sidabro/vandens kompozicija, paruošta pagal šį išradimą, buvo koncentruota iki maždaug 200 ppm standartinės atbulinės osmozės vandens filtravimo būdu. Konkrečiai, išradimo sidabro/vandens kompozicija buvo praleista pro atbulinės osmozės filtravimo sistemą, kur „nuotėkų“ vanduo iš atbulinės osmozės filtravimo sistemos turi daug daugiau koncentruoto sidabro komponento. Kai 200 ppm tirpalas buvo gautas, šis tirpalas buvo džiovinamas, praleidžiant pro azoto terpę, siekiant gauti miltelius, kurie gali būti nukreipiami į Rentgeno spinduliuotės difrakciją. Konkrečiai, sidabro/vandens mišinys buvo patalpintas į dubenį, dubuo buvo uždengtas plastikiniu lakštu ir viename dubens/plastinio lakšto įrenginio gale buvo privestas azotas; ir azotas išleidžiamas kitame dubens/plastinio lakšto įrenginio gale. Aparato temperatūra neviršijo 75—80°C, siekiant palaikyti visų komponentų sidabro/vandens mišinyje vientisumą. Išdžiovintų miltelių (pvz., pagamintų iš 200 ppm tirpalo) pakankamas kiekis tada buvo tinkamas Rentgeno spinduliuotės difrakcijos analizei.

Gauti Rentgeno spinduliuotės difrakcijos moduliai aiškiai rodo mažiausiai keturių atskirų rūšių buvimą. Šiuo atžvilgiu, yra aišku, kad sidabro karbonato pikų nustatymas atsiranda maždaug prie 18—22 laipsnių. Šie pikai yra labiausiai tikėtini dėl džiovinimo procedūros. Šiuo požiūriu, labiausiai yra tikėtinas CO₂ buvimas ore, netgi jeigu daug pastangų buvo įdėta tam, kad sukurti azoto dangą per 200 ppm tirpalą džiovinimo procedūros metu. Be to, pikų nustatymas atsiranda maždaug prie 33 laipsnių. Tačiau, kiekvienas iš šių pikų gali būti priskirtinas prie sidabro oksido (AgO), sidabro karbonato (AgCO₃) ir/arba sidabro oksido (Ag₂O). Todėl nėra pilnai aišku, kurios rūšys egzistuoja. Be to, stiprus sidabro metalo pikas atsiranda prie maždaug 38 laipsnių. Šis stiprus pikas gali būti matomas kiekviename iš Rentgeno spinduliuotės difrakcijos modulių. Tačiau reiki pažymėti, kas mažas sidabro oksido (Ag₂O) pikas taip pat atsiranda prie maždaug 38 laipsnių. Dar be to, stiprus sidabro oksido (AgO) pikas atsiranda prie maždaug 37 laipsnių.

LT 5643 B

derinyje su santykinai stipriu sidabro karbonato (Ag_2CO_3) piku taip pat. Be to yra pažymėta, kad sidabro oksido (AgO) pikas atitinka vieną iš sidabro oksido keturkampio fazių. Kas yra aišku, peržiūrėjus gautus Rentgeno spinduliuotės difrakcijos duomenis ir palyginus juos su esančiais duomenų bazės įrašais yra tai, kad viena arba kelios sidabro oksido fazės yra išradimo sidabro/vandens kompozicijose pagal šį išradimą. Yra įmanoma, kad oksidų derinys egzistuoja dėl naujų gamybos technikų pagal šį išradimą. Reikia pažymėti, kad Rentgeno spinduliuotės difrakcijos moduliai yra tinkami Ag_4O_4 , palyginus su šio išradimo Rentgeno spinduliuotės difrakcijos moduliais.

Tačiau, Ag_4O_4 prekyboje neegzistuoja, šiuo požiūriu Ag_4O_4 mėginys buvo gautas pramoniniu būdu ir buvo atlikta šių miltelių TGA ir DTA analizė. Konkrečiai, figūra 43 atitinka TGA analizę ir, atitinkamai, DTA analizę. Iš DTA kreivės figūroje 43 yra aišku, kad Ag_4O_4 endotermas egzistuoja maždaug 181°C . Šis endotermas taip pat atitinka masės praradimą, pavaizduotą TGA kreive figūroje 43. Šie eksperimentiniai matavimai atitinka Ag_4O_4 , skaidantis į Ag_2O . Antras labai stiprus endotermas yra parodytas prie maždaug 403°C , o taip pat ir antrasis atitinkamas masės praradimas. Šie du eksperimentiniai taškai atitinka Ag_2O skilimą į Ag metalą.

Figūra 10 rodo naujo sidabro elektrodo, prieš panaudojant jį procese pagal šį išradimą, SEM fotomikrodiagramą. EDS elementų analizė buvo vykdoma su elektrodų dalimis, pažymėtomis 1, 2 ir 3. Šios trys atskiros analizės atitinkamai pavaizduotos figūrose 11, 12 ir 13. Šios analizės parodė, kad iš esmės egzistuoja grynas sidabras.

Figūra 14 rodo panaudoto sidabro elektrodo, po to kai jis buvo panaudotas procese pagal šį išradimą, galo SEM fotomikrodiagramą. EDS elementų analizė buvo vykdoma su elektrodų dalimis, pažymėtomis kaip 1 ir 2. Šios dvi atskiros analizės atitinkamai pavaizduotos figūrose 15 ir 16. Figūra 17 rodo panaudoto elektrodo galo SEM fotomikrodiagramą prie didesnio padidinimo (maždaug 3500X). 4 ir 5 dalys buvo taip pat tiriamos EDS elementų analize ir taip pat buvo rastas iš esmės grynas sidabras.

Pramonėje taikomų koloidinių sidabrų sidabro dalelių palyginimas

Stengiantis suprasti skirtumus šio išradimo sidabro/vandens kompozicijų gamyboje (pvz., biologinę naudą), palyginus su žinomais koloidiniais sidabrai, buvo

tiriami fizinių savybių skirtumai. Figūros 18a ir 18b yra sidabro dalelių, kurios atitinka pirmojo koloidinio sidabro, gauto iš Generalinio Mitybos Centro 2004 metais ir prekybos vietose žinomo kaip GNC skysto koloidinio sidabro dietinis papildas (25 pmm) („GNC“), TEM foromikrodiagramos. Figūros 19a ir 19b yra sidabro dalelių, kurios atitinka antrojo koloidinio sidabro, prekybos vietose žinomo kaip „Silverado“, TEM foromikrodiagramos. Figūros 20a ir 20b yra sidabro dalelių, kurios atitinka trečiojo koloidinio sidabro, prekybos vietose žinomo kaip vitaminų pasauliniai bioorganiniai pažangūs koloidiniai mineralai, TEM fotomikrodiagramos. Figūra 21 yra apibendrinantis sidabro dalelių iš dviejų sidabro/vandens išradimo kompozicijų (žymimos kaip „ASAP 20“ ir „ASAP 10“) ir iš trijų prekyboje žinomų koloidinių sidabrų, žinomų kaip „GNC“, „Silverado“ ir „Bioorganic“, aprašytų aukščiau, TEM fotomikrodiagramų palyginimas. Aiškūs dalelių dydžių ir formų skirtumai yra akivaizdūs iš šių fotomikrodiagramų, tokiu būdu rodančius, kad tarp skirtingų koloidinių sidabrų yra fiziniai, struktūriniai ir galimi cheminiai skirtumai, kurie gali dalinai padėti paaiškinti biologinės naudos tarp panašios bendros cheminės struktūros skirtingų produktų, skirtumus.

SPEKTROSKOPINIS APIBŪDINIMAS

RAMANO SPEKTROSKOPIJA

Papildoma sidabro/vandens mišinių analizė buvo atlikta Ramano spektroskopija. Buvo atlikta eilė analitinių tyrimų su trimis skirtingais Ramano spektrometrais. Ramano ir rezonansinės Ramano spektroskopijos panaudojimo priežastis buvo susidariusi nuomonė, kad skirtingos vibracijos būsenos (ir/arba amplitudės) gali būti stebimos skirtinguose koloidiniuose sidabruose, kaip palyginamos šio išradimo sidabro/vandens kompozicijos, o taip pat palyginus „gryną“ ir dejonizuotą vandenį. Be to, skirtingi stebėti vibracijos režimai vandens molekulėse gali padėti geriau apibūdinti koloidines sistemas ir paaiškinti skirtingą biologinį efektyvumą skirtinguose sidabro pagrindo produktuose.

Pirmoje Ramano spektroskopijos matavimų serijoje buvo naudojamas Confocal Ramano mikroskopas iš Viteko (Ulm, Vokietija). Modelio numeris buvo CRM200. Spektras buvo gautas, naudojant Nikon 60x imersijos lęšius (NA=1) su 15 sekundžių integracijos laiku spektrui (t.y. trys atskiri 5 sekundžių atlikimo laikai).

LT 5643 B

CCD buvo sukoncentruoti prie maždaug 1,799 bangų skaičiaus. Lašelis tirpalo buvo patalpintas į mažą įdubą petri lėkštelėje ir ten buvo nukreipti imersijos lęšiai. Ramano lazerio šaltinis buvo 532 nm su maždaug 10 mW. Buvo naudojama bendrai fokusuojanti nustatymo sistema su bendrafokusiniu tūriu maždaug 0,3x0,3x0,75 mikrometrų (maždaug 7×10^{-8} pikolitrai).

22a ir 22b figūros rodo duomenų, surinktų 7 mėginiuose grafinius duomenis. Du iš mėginių buvo vienodi, netgi skirtingai sužymėti (10PR ir 10PSU) ir atitinka prieš tai minėtam „ASAP 10“ (t.y. 10 ppm sidabro iš išradimo sidabro/vandens kompozicijos). „HPLC“ atitiko aukšto grynumo (ultragryno laipsnio HPLC) vandenį, gautą iš Alfa Aesar. „DI“ atitiko dejonizuotą vandenį. „GNC“ atitiko GNC skysto koloidinio sidabro dietinį papildą (25 ppm). „AGX-32“ atitiko 32 ppm išradimo sidabro/vandens kompoziciją. „VW“ atitiko vitaminų pasaulinius bioorganinius pažangius koloidinius mineralus (3 ppm) (prieš tai nurodytas kaip Bioorganic). Yra parodyti aiškūs skirtumai tarp skirtingų mėginių. Pavyzdžiui, pirmasis prailginimo modulis (pvz., bangų skaičiai maždaug 3400—3500 1/cm) šiuose keliuose vandens/vandens pagrindo tirpaluose rodo didelius skirtumus. Be to, vibracinis/rotacinis funkcionavimas žemiau 1/cm taip pat rodo aiškius skirtumus tarp mėginių. Taip pat kai kurie skirtumai gali būti matomi susilenkimo tipuose maždaug 1600 1/cm. Be pageidavimo prisirišti prie konkrečios teorijos arba paaiškinimo, buvo atrasta, kad skirtinguose šio išradimo sidabro/vandens kompozicijų funkcionalumuose gali, pavyzdžiui, turėti įtakos arba mažiausiai padėti paaiškinti tokių kompozicijų efektyvumas santykinai su kitais ištirtiniais mėginiais.

Antra Ramano matavimų serija buvo gaunama iš skirtingų spektrografų sistemų. Kadangi tarp dviejų serijų gauti skaičiai yra skirtingi (kas stipriai įrodo, kad vandens Ramano spektroskopijos duomenys yra naudojamos analitinės priemonės funkcija) duomenys duomenų serijoje taip pat rodo pastebimus skirtumus tarp šio išradimo sidabro/vandens kompozicijų, palyginus su kitais koloidiniai sidabrais ir kitais vandenimis. Šioje Ramano spektroskopijos matavimų serijoje yra naudojamas atspindžio Ramano mikroskopas. Spektras yra gaunamas, naudojant Olympus 20x lęšius ($NA=0,4$). CCD detektorius buvo sukoncentruotas į keturis skirtingus bangos skaičius, konkrečiai, 1600, 2500, 3400 ir 4400 1/cm. Ramano lazerio šaltinis buvo 514,5 nm su maždaug 11,5 mW. Papildomą informaciją, liečiančią spektrą, galima rasti kiekvienoje iš figūrų 23a, 23b ir 23c. Mėginių žymėjimas šiose figūrose atitinka tekstą aukščiau. Abi Ramano spektroskopijos duomenų serijos stipriai patvirtina, kad

šiuose skirtinguose mėginiuose egzistuoja skirtingi molekulių judėjimai, kas gali įnešti indelį į (arba mažiausiai padaryti akivaizdžiu) sidabro/vandens kompozicijų pagal šį išradimą biologinius efektyvumus.

Trečioji Ramano duomenų serija buvo gauta, naudojant trečią dauginę lazerio linijos Renishaw bendrafokusinį Ramano mikro-spektrografą. Ši sistema buvo sukonfigūruota, siekiant sudaryti galimybę atlikti matavimus tiek virš mėginio, tiek panardinus į jį. Serija buvo skirta 100x—1000x dydžio mėginio tūrio ištyrimui kaip tai yra aprašyta pirmoje matavimų serijoje. Atspindžio mikro-spektrografe su Leica DL DM mikroskopu buvo įtaisytas arba 20x (NA=0,5) įmerkti į vandenį arba 5x (NA=12) sausi lęšiai. Kiekvieno lęšio užpakalinės dalies angos dydis buvo nustatytas lygus arba didesnis išplėtam lazerio spindulio diametrai. Buvo naudojami du lazerio dažniai, kurie yra dauginio 50mW Argon lazerio λ galingumo 514,5nm ir 20mW HeNe lazerio 633 nm. Didelės sklaidos gardelės buvo pritvirtintos monochrometro optiniame takelyje, kas leido skenuoti nuo 50 iki 4000 bangų skaičius (1/cm). Buvo naudojami 10—20 sekundžių integracijos laikai. Mėginio skystis buvo patalpinamas žemiau lęšių 50 ml menzūroje. Rezonansinių diapazonų ištyrimui buvo naudojami abu lęšiai, tuo tarpu ankstesnis lazeris iš pradžių buvo naudojamas Ramano spektro gavimui. Mėginio dydis buvo maždaug 25 ml. Matavimai, padaryti su 5x sausais lęšiais, buvo atlikti su objektyvu, išdėstytu maždaug 5 mm virš skysčio, siekiant gauti informaciją apie tūrį maždaug 7 mm žemiau vandens menisko. Panardinimo matavimai buvo atlikti su 20x panardinimo lęšiais, išdėstytais maždaug 4 mm į mėginį, kas leido ištirti tą patį aplinkos tūrį. CCD detektoriaus aptikimo plotai buvo sureguliuoti kiekvienam lęšiui, siekiant maksimalizuoti signalo intensyvumą ir signalo su triukšmu santykį. Šio išradimo sidabro/vandens kompozicijas išreiškiantis spektras pavaizduotas figūroje 24a. Figūra 24b rodo trijų skirtingų metalo/vandens tirpalų, pagamintų pagal šį išradimą, Ramano spektrą. Laukas 1 atitinka 13 ppm sidabro/vandens tirpalą; laukas 2 atitinka 10 ppm cinko/vandens tirpalą; ir laukas 3 atitinka 11 ppm vario/vandens tirpalą.

Kadangi skaičiai, gauti iš trijų duomenų serijų, yra šiek tiek skirtingi (kas tvirtai rodo, kad Ramano spektroskopijos vandens duomenys yra analitinio instrumento ir šio instrumento serijos funkcija), duomenys, apimantys šių duomenų serijas, demonstruoja žymius skirtumus tarp šio išradimo sidabro/vandens kompozicijų, kai lyginama su litais sidabrais arba kitais vandenimis. Visos Ramano spektroskopijos serijų duomenys griežtai patvirtina, kad skirtingas molekulių

LT 5643 B

judėjimas ir jungtys egzistuoja šiuose skirtinguose mėginiuose, kurie gali būti šio išradimo sidabro/vandens kompozicijų efektyvumo veiksnys (arba mažiausiai akivaizdumo priemonė). Be to, trijų skirtingų metalo/vandens tirpalų Ramano modulių skirtumai, pavaizduoti 24b figūroje taip pat patvirtina skirtingų efektyvumų galimybę.

UV-VIS SPEKTROSKOPIJA

Tolesnė sidabro/vandens mišinių analizė buvo vykdoma UV-Vis spektroskopija. Be Ramano spektroskopijos buvo naudojama dar ir UV-Vis spektroskopija papildomų skiriamųjų bruožų ir/arba vibracijos amplitudžių nustatymui skirtingoje spektro dalyje. Duomenų surinkimui buvo naudojamas atskiras UV-Vis spektrometras. Šiuo požiūriu, buvo gautas energijos absorbcijos spektras, naudojant UV-Vis mikro-spekfotometriją. Ši informacija buvo surinkta, naudojant dvigubo spindulio skenavimo monochrometrinę sistemą, kuri įgalina skenuoti bangos ilgio svyravimus tarp maždaug 190 nm ir maždaug 1100 nm. UV-Vis spektrometras, kuris buvo naudojamas surinkti absorbcijos spektrą, buvo Jasco MSV350. Instrumentas buvo naudojamas atlikti žemos koncentracijos skystų mėginių matavimą, naudojant 10 mm x 10 mm išdegintą kvarco kiuvetę. Duomenys buvo surinkti, esant bangos ilgio svyravimui, naudojant ir foto dauginę kamerą (PMT), ir fotodiodinį detektorių su sekančiais veikimo parametrais: pralaidumo surinkimas 2 nm, sklaida 0,5 nm; ir vandens bazinės linijos fonas išskirtas iš gauto spektro. Šiuo požiūriu, UV-Vis gryno vandens žyma buvo išskirta iš gauto spektro taip, kad parodytų labiau būdingas sidabro/vandens mišinio spektro žymas.

Buvo panaudoti tiek volframo „halogeno“, tiek vandenilio „D2“ energijos šaltiniai, kaip pirminiai MSV350 energijos šaltiniai. Buvo nustatytas optinis spektrometro takelis, leidžiantis energijos spinduliui praeiti pro mėginį, toliau sufokusuojant į mėginio kiuvetės centrą. Mėginio gamyba buvo ribojama kiuvečių užpildymu ir uždarymu ir fiziniu jų įtaisymu ant kiuvetės laikiklio pilnai uždaros mėginio kameros viduje. Duomenų reikšmės buvo išmatuotos ir parodytos kaip absorbcijos vienetai (Beer-Lambert'o dėsnis) prieš bangos ilgį ir dažnį. Pirminis skirtumas tarp mėginių, atitinkančių du spektrus, pavaizduotus kiekvienoje iš figūrų 48a ir 48b, sidabro koncentracija iš kiekvieno iš mėginių sidabro. Konkrečiai, kiekvienos iš figūrų 48a ir 48b aukštesnė amplitudės kreivė atitinka 32 ppm

sidabro/vandens tirpalą; ir žemesnė amplitudės kreivė atitinka 10 ppm sidabro/vandens tirpalą. Bangos ilgio ir dažnio padėčių pikai (t.y. pikų išsidėstymai ir kritimai yra labai panašūs.

Kaip aprašyta aukščiau, sidabras (pvz., sidabro jonai, sidabro metalai, Ag^+ ir kt.) gali būti kontroliuojamai prijungti arba pritvirtinti, pavyzdžiui, tarp ir/arba molių sluoksnių, ir/arba zeolitų gardelių viduje. Vienas iš pritvirtinimo pasiekimo, pavyzdžiui, sidabro jonų prie arba ant molių, žėručio arba zeolitų, būdų yra atliekamas, tiekiant sidabro tinkamo krūvio jonų tipus ir įvedant minėtus tipus į molio arba zeolito kompoziciją arba mišinį. Pakeitimo sidabro jono, pavyzdžiui, kitu teigiamo krūvio jonu koncepcija kartais yra nurodoma kaip „BEC“ arba „CEC“ (šios abi yra sutrumpintos terminologijos, nurodančios „sistemas“ imlumą katijonų mainams). Šiuo požiūriu, daugiausiai žinoma yra kaolinito medžiaga, pasižyminti imlumais katijonų mainams, kurie svyruoja 2–5 (t.y. 2–5 meq/100 gramų). Montmorilonito molių, pavyzdžiui, imlumi katijonų mainams yra maždaug 100 meq/100 gramų. Tuo tarpu zeolitų imlumas katijonų mainams gali būti keletas šimtų meq/100 gramų. Pavyzdžiui, gerai žinomas zeolito, žinomo kaip „Linde 4A zeolitas“, BEC ir CEC skaičius yra 400-500 meq/100 gramų. Iš esmės, kuo aukštesnis BEC arba CEC skaičius, tuo didesnė medžiagos galimybė gauti katijonus.

Eksperimentinėms procedūroms kaolitų arba zeolitų galimybės tapti sidabru (arba kitu metalo katijono(u) laikytoju) nustatymui buvo įvestos ataskaitos sistemos. Konkrečiai, buvo naudojamos sekančios pakopos sidabro-molių mėginių, o taip pat sidabro-zeolito mėginių gavimui ir tyrimui.

Bendrai kalbant, tipinės kaolinito ir zeolito Linde 4A medžiagos pirmiausiai buvo plaunamos tris kartus su dejonizuotu vandeniu, siekiant pašalinti galimą chloro priemaišą, kuri gali iššaukti tam tikrų sidabro pirminių medžiagų (pvz., sidabro jonų) nusėdimą (arba nepageidaujamą reakciją) prieš sidabro pradinėms medžiagoms galimą pageidaujamą prisijungimą ant arba prie kaolinito ir/arba zeolito struktūrų. Šios išplautos medžiagos po to yra maišomos su sidabro nitrato (AgNO_3) tinkamų koncentracijų, atitinkančių kiekvienos atitinkamos medžiagos laukiamą arba žinomą „CEC“, tirpalu. Susidariusios apdorotos medžiagos po to vėl yra plaunamos su dejonizuotu vandeniu, siekiant pašalinti nenaudojamą sidabro nitratą. Mėginiai yra pernakt džiovinami elektrai atsparioje džiovinimo krosnyje maždaug 120°C . konkrečiai, plovimo procedūra buvo atliekama sekančiai:

LT 5643 B

Apie du gramai kiekvieno kaolinito arba zeolinito mėginio yra patalpina į centrifugos kamerą. Tada yra pridama dejonizuoto vandens. Tada mėginio ir dejonizuoto vandens mišinys buvo plakamas rankiniame plakiklyje maždaug 40 minučių. Po to mišinys buvo centrifuguojamas maždaug 30 minučių prie maždaug 1000 RPM. Tada skysčio perteklius buvo dekantuojamas iš mėginio vamzdelio. Dejonizuoto vandens pridėjimo, plakimo, centrifugavimo ir dekantavimo pakopos buvo kartojamos visiems trimis plovimams.

Kai pradinis 2 gramų mėginys buvo tinkamai išplautas, taip, kad buvo pašalintos galimos chloro priemaišos, į išvalytas kaolinito ir zeolito medžiagas buvo įvestas sidabro nitratas. Konkrečiai, buvo įvesta maždaug 0,09 sidabro nitrato į kaolinito mišinį ir maždaug 4,25 gramų AgNO_3 buvo įvesta į zeolitą Linde 4A. Konkrečiai, buvo pridėti išmatuoti sidabro nitrato kiekiai į kiekvieną vamzdelį, po to pridėta dejonizuoto vandens, siekiant užpildyti vamzdelį, po mišinys buvo plakamas rankiniu plakikliu maždaug 40 minučių ir po to centrifuguojamas maždaug 30 minučių prie maždaug 1000 RPM. Po to skystis buvo dekantuojamas. Ši sidabro nitrato pridėjimo, dejonizuoto vandens pridėjimo plakimo rankiniu plakikliu, centrifugavimo ir dekantavimo procedūra iš viso buvo kartojama tris kartus. Po to, kai plovimo ir sidabro nitrato pridėjimo procedūros buvo baigtos, mėginiai buvo išimti iš centrifugos kameros ir patalpinti į aliuminio (Al_2O_3) tiglį ir džiovinami pernakt maždaug 120°C elektrai atsparioje kaitinimo krosnyje. Susidariusios kaolinito/sidabro ir zeolito/sidabro medžiagos tada buvo apibūdinamos SEM fotomikrodiagramomis ir SEM EDS (EDAX) technikomis. Figūros 44a ir 44b rodo kaolinito mėginių, gautų aukščiau aprašytomis technikomis, SEM fotomikrodiagramas. Iš šių mikrodiagramų yra aišku, kas knygos tipo arba lakšto tipo kaolinitų struktūros (pvz., SiO_2 ir AlO_2O_3 sluoksniai identifikuoti kaip „X“ ir „Y“ figūroje 44a) aiškiai rodo, kad sidabro katijonai yra išsidėstę aplink molio medžiagos pakraščius. Aiškiai yra kai kurie sidabro prisijungimo arba pasikeitimo tipai, kaip akivaizdžiai parodyta šių fotomikrografų šviesesnėmis puslapio tipo dalimis (pastaba: „X“ ir „Y“ dalys reiškia įvairias kitas knygos tipo struktūras mėginyje). Figūros 45a–45b rodo mėginių, atitinkamai pavaizduotų figūrose 45a ir 45b, EDS (EDAX) analizę. Šie tyrimai aiškiai rodo aliuminio ir silicio buvimą, kas gali būti tikėtina kaolinitui, o taip pat šiek tiek titano (darant prielaidą rutilo buvimui). Taip pat gali būti matomi labai maži sidabro pikai, kas atitinka BEC kaolino skaičius, kurie santykinai žemi 2–5.

Figūra 46 rodo SEM fotomikrodiagramą, atitinkančią zeolitus, gautus pagal aukščiau aprašytas procedūras. Dėl didelio zeolito CEC skaičiaus (konkrečiai, maždaug 500), zeolito kubo tipo struktūros figūroje 46 pradeda švytėti mikrodiagramoje (žiūrėti, pavyzdžiui, dalį „A“ figūroje 46). Šis švytėjimas patvirtina, kad buvo žymus vienodas sidabro pasiskirstymas zeolitų struktūrų viduje arba per jas. Šiuo požiūriu, buvo pastebimi ryškūs sidabro metalo taškeliai, kurie patys ryškiai švytėjo, po to sidabras nebuvo įtrauktas į arba ant zeolito. Figūra 47 yra mėginio, pavaizduoto figūroje 46, EDS (EDAX) analizė. Vėlgi, yra pastebimi santykinai didelės amplitudės aliuminio ir silicio pikai, bet yra nepaprastai dideli sidabro pikai (t.y. palyginus su Ag pikais kaolinite, pavaizduotais figūrose 45a—45b). Šie labai aukšti sidabro pikai atitinka žymiai didesnę zeolito gebėjimą pritraukti sidabrą jo struktūroje (t.y. aukštas BEC), santykinai su kaolitų struktūra (t.y. žemas BEC), pavaizduotus figūrose 44a ir 44b.

22 PPM SIDABRO KOMPOZICIJOS VEIKSMINGUMO PRIEŠ *BACILLUS SUBTILIS* ĮRODYMAS

A. Bandymo tikslas

Šio bandymo tikslas yra pademonstruoti šio išradimo sidabro pagrindo kompozicijos antimikrobinį aktyvumą bakterinėms endosporoms iš testuojamo organizmo *Bacillus subtilis*. Tai buvo įvykdyta, atliekant standartinį užmušimo per laiką bandymą, naudojant *B. subtilis* endosporų suspensiją. Normaliai, bakterinės endosporos yra atsparios užmušimui.

B. Medžiagos ir būdai

Testuojamas organizmas. Buvo paruošta testuojama suspensija, turinti endosporų iš *Bacillus subtilis* (ATTC #19659) iš kultūros, auginamos maistiniame agare, į kurią buvo pridėta papildomų sporų formavimąsi skatinančių ingredientų. Plokštelės buvo praturtintos steriliu vandeniu ir endosporos buvo išgrynintos pakartotiniu centrifugavimu ir vandens resuspensijomis. Galutinis plovimas buvo vykdomas 70 % etanolyje 30 min, siekiant sukelti vegetatyvinės bakterijos destrukciją. Sporos buvo pakartotinai suspenduotos vandenyje, turinčiame 0,1 Tween 80 (polisorbato paviršinio aktyvumo medžiagos ženklas), siekiant užkirsti kelią sukritimui į gabalus.

LT 5643 B

Neutralizatorius. Neutralizatoriaus mišinys susidėjo iš 12,7% Tween® 80 (polisorbato ženklas), 6,0% Tamol® SN (naftaleno formaldehido kondensato natrio druskos ženklas), 1,7% lecitino, 1% peptono ir 0,1% cistino. Šis tirpalas buvo skirtas bet kurių chemikalų neutralizavimui taip, kad jie vėliau neveiktų bakterijos augimui.

Užmušimo per laiką procedūra:

- a) 9,9 ml dezinfekavimo priemonės mėginio (išradimo 22 ppm sidabro kompozicija vandenyje) buvo patalpinta į sterilų 20 mm x 150 mm vamzdelį. Vamzdelis buvo subalansuotas 20°C vandens vonioje.
- b) 9,9 ml dezinfekavimo priemonės mėginio (išradimo 22 ppm sidabro kompozicija vandenyje) buvo patalpinta į sterilų 20 mm x 150 mm vamzdelį. Vamzdelis buvo subalansuotas 20°C vandens vonioje.
- c) vienas ml organizmo/dezinfekuojančios medžiagos suspensijos buvo perkelta į vamzdelį, turintį devynis ml neutralizatoriaus po 30 min., 1 val ir 4 val. Vamzdelis buvo kruopščiai maišomas.
- d) po dviejų min., neutralizuota suspensija palaipsniui buvo praskiesta 1:10 fiziologiniame druskos tirpale (PPS).
- e) gyvybingų organizmų eilė atrinktuose praskiedimo vamzdeliuose buvo tirta, naudojant membranos filtraciją. Vienas ml mėginių buvo patalpinta dublikatu. Membranos buvo plaunamos maždaug 100 ml sterilaus PPS ir perkeltos ant maistinio agaro plokštelių. Plokštelės buvo inkubuotos 37°C 20 valandų.
- f) kiekvieno filtro kolonų kiekis buvo suskaičiuotas ir buvo įvertinti logaritmų sumažėjimai.

Kontroliavimai:

- a) testuojamų suspensijų titrai buvo įvertinti, vykdant membranų filtracijos bandymus, atrinktų iš testuojamų suspensijų 1:10 praskiedimų PPS.
- b) neutralizatoriaus kontrolė buvo vykdoma, įvedant į 9 ml neutralizatoriaus ir 1 ml dezinfekuojančios medžiagos 100 ml titro praskiedimo, turinčio 100 cfu. Tai vykdoma maždaug 10 cfu/ml vamzdelyje, kuris buvo paliktas stovėti 20 minučių, prieš tai ištiriant membranų filtracija, naudojant dubliuotus 1 ml mėginius.

C. Rezultatai

Bacillus subtilis titras

Praskiedimas

1:1x_n:1:1 iš 1:1x10x10

7⁻¹

TNT 75 7 kolonijų skaičius: C

TNT 58 8C

TNTC = per skaitlingas suskaičiavimui

B. subtilis sporos/dezinfekuojančios medžiagos suspensijos praskiedimas:

Laikas $1:1 \times 10^1$, $1:1 \times 10^2$, $1:1 \times 10^3$, $1:1 \times 10^4$, $1:1 \times 10^5$, $1:1 \times 10^6$

30 min. – TNTC TNTC 57 10

· TNTC TNTC 51 7

1 val.—TNTC TNTC 28 3

· TNTC TNTC 55 3, 2 val.—TNTC TNTC 126 23 –

· TNTC TNTC 183 17, 4 val.—TNTC TNTC 88 12 – TNTC TNTC 69 12

TNTC = per skaitlingas suskaičiavimui

Neutralizacijos kontrolė: $1:1 \times 10^8$

D. Diskusija

Titro rezultatai, parodė gyvybingą *S. subtilis* sporų koncentraciją $6,65 \times 10^8$ sporų per ml originalioje suspensijoje. 9,9 ml dezinfekuojančios medžiagos inokuliacija su 100 ml šios suspensijos davė pradinę $6,65 \times 10^5$ sporų koncentraciją per ml bandomajame vamzdyje.

Šių procedūrų rezultatai leido suskaičiuoti logaritmų sumažėjimo (LR) ir procentines užmušimo (PK) reikšmes. Jie yra pateikti lentelėje žemiau. Reikšmės buvo apskaičiuotos, naudojant formules: $LR = -\log(S/S_0)$ ir $PK = (1 - (S/S_0)) \times 100$; kur S = organizmų koncentraciją apibrėžtame laike; ir S_0 = pradinė organizmų koncentracija nuliniame laike.

LOG redukcijos procentinio užmušimo laikas:

30 min. 0,090; 18,8

1 val. – 0,205; 37,6

2 val. – 0,634; 76,8

3 val. – 1,928; 98,8

Neutralizacijos kontrolės duomenys parodė, kad dezinfekuojanti medžiaga buvo pakankamai neutralizuota. faktiniai skaičiavimai atitinka tuo, kurie gauti iš praskiedimo be pastebimo užmušimo.

Tiriamas dezinfekuojantis preparatas čia parodė gerą sporinį aktyvumą prieš *B. subtilis* sporas. *B. subtilis* yra paplitusios sporos ir naudojamos sporiniame testavime ir priklauso tai pačiai rūšiai kaip organizmai, kurie sukelia juodligę. Dėl jų genetinių panašumų, *B. subtilis* sporos buvo naudojamos kaip nepatogeninis

LT 5643 B

juodligės bacilos, juodligės bakterijos surogatas. Todėl šie rezultatai yra taikomi juodligei. Tikėtina, kad ilgesnis poveikis lemia papildomą užmušimą.

10 ppm SIDABRO IR 0,1% H₂O₂ KOMPOZICIJOS IR 14 PPM SIDABRO IR 1,5% H₂O₂ KOMPOZICIJOS VEIKSMINGUMO PRIEŠ *BACILLUS SUBTILIS* [RODYMAS

a. Bandymo tikslas

Šio bandymo tikslas yra pademonstruoti dviejų šio išradimo sidabro pagrindu kompozicijų veiksmingumą prieš bakterijų endosporas iš tiriamojo *Bacillus subtilis* organizmo. Tai buvo vykdoma, atliekant standartinį užmušimo per laiką tyrimą, naudojant *B. subtilis* endosporų suspensiją. Palyginus anksčiau apžvelgtą pavyzdį (naudojant 22 ppm sidabrą), šis pavyzdys sukuria vandenilio peroksido (H₂O₂) skatinančius poveikius į sidabro kompozicijų antimikrobines savybes. Vandenilio peroksidas yra stabilus esančiose šio išradimo sidabro kompozicijose. Kadangi sidabro hidroksidas pats pasižymi ryškiomis antimikrobinėmis savybėmis, dažnai jis yra suskaidomas katalize arba kitais mikrobiniiais fermentais. Tačiau vandenilio peroksidas gali susilpninti bakterijų ląstelių sienelės ir sustiprinti sidabro dalelių įėjimą prieš atsirandant vandenilio fermentinei destrukcijai.

B. Medžiagos ir Būdai.

1. Tiriamas organizmas. Buvo paruošta tirama suspensija, turinti *B. subtilis* endosporų (ATCC # 19659) iš kultūros užaugintos maistiniame agare, į kurią buvo pridėta papildomai sporų formavimąsi didinantys agentai. Plokštelės buvo praturtintos steriliu vandeniu ir endosporos buvo išgrynintos, pakartotinais centrifugavimais ir pakartotinėmis suspensijomis vandenyje. Galutinis plovimas buvo atliekamas 70% etanolyje 30 min., siekiant įsitikinti vegetatyvinės bakterijos mirtimi. Sporos buvo pakartotinai suspenduotos vandenyje, turinčiame 0,1 Tween® (polisorbato ženklas), siekiant užkirsti kelią sukritimui į gumulus.

2. Neutralizatorius. Neutralizatoriaus mišinys, susidedantis iš 12,7 Tween 80, 6,0 Tamol® SN (naftalen-formaldehido kondensato natrio druskos ženklas), 1,7 lecitino, 1 peptono ir 1 cistino. Šis tirpalas buvo skirtas bet kurių chemikalų neutralizavimui taip, kad jie neveiktų tolesnio bakterijų augimo.

3. Užmušimo laiko procedūra:

- a) 9,9 ml kiekvienos iš dezinfekavimo priemonės mėginio (išradimo koloidinės sidabro kompozicijos: viena turinti 14 ppm sidabro ir 1,5% H_2O_2 ; kita turinti 10 ppm sidabro ir 1,0% H_2O_2) buvo patalpinta į sterilų 20 mm x 150 mm vamzdelį. Vamzdelis buvo subalansuotas 20°C vandens vonioje.
- b) Į kiekvienas dezinfekuojančios medžiagos vamzdelį buvo įvesta 100 ml tiriamojo organizmo suspensijos nuliniam laikui.
- c) vienas ml organizmo/dezinfekuojančios medžiagos suspensijos buvo perkelta į vamzdelį, turintį devynis ml neutralizatoriaus po 10 min., 30 min., 1 val., 4 val., 6 val. ir 8 val. Vamzdelis buvo kruopščiai maišomas.
- d) po dviejų min., neutralizuota suspensija palaipsniui buvo praskiesta 1:10 fiziologiniame druskos tirpale (PPS).
- e) gyvybingų organizmų eilė atrinktuose praskiedimo vamzdeliuose buvo tirta, naudojant membranos filtraciją. Vienas ml mėginių buvo patalpinta dublikatu. Membranos buvo plaunamos maždaug 100 ml sterilaus PPS ir perkeltos ant maistinio agaro plokštelių. Plokštelės buvo inkubuotos 37°C 20 valandų.
- f) kiekvieno filtro kolonų kiekis buvo suskaičiuotas ir buvo įvertinti logaritmų sumažėjimai.

4. Kontroliavimai:

- a) testuojamų suspensijų titrai buvo įvertinti, vykdant membranų filtracijos bandymus, atrinktų iš testuojamų suspensijų 1:10 praskiedimų PPS.
- b) neutralizatoriaus kontrolė buvo vykdoma, įvedant į 9 ml neutralizatoriaus ir 1 ml dezinfekuojančios medžiagos 100 ml 1:10³ titro praskiedimu. Tai vykdoma maždaug 2000 cfu/ml vamzdelyje, kuris buvo paliktas stovėti 20 minučių, prieš praskiedžiant 1:1. Abu vamzdeliai buvo tiriami membranų filtracija, naudojant dubliuotus 1 ml mėginius. Visi rezultatai pateikti 1a ir 1b lentelėse.

C. Rezultatai

Bacillus subtilis sporų titras

	Praskiedimas n:		
	<u>1:1x10⁶</u>	<u>1:1x10⁷</u>	<u>1:1x10⁸</u>
Kolonų skaičius:	TNTC	36	5
	TNTC	27	4

TNTC = per skaitlingas suskaičiavimai.

LT 5643 B

Lentelė 1a

Tirpalas, turintis 14 ppm sidabro ir 1,5% H₂O₂;

B. subtilis sporų/dezinfekuojančios medžiagos suspensijos praskiedimas:

Laikas	1:1x10 ¹	1:1x10 ²	1:1x10 ³	1:1x10 ⁴	1:1x10 ⁵
10 min.	-	-	TNTC	TNTC	227
	-	-	TNTC	TNTC	265
30 min.	-	-	TNTC	TNTC	258
	-	-	TNTC	TNTC	273
1 val.	-	-	TNTC	TNTC	55
	-	-	TNTC	TNTC	33
2 val.	-	TNTC	207	29	-
	-	TNTC	237	24	-
4 val.	59	3	1	29	-
	57	5	1		
6 val.	0	0	0		
	3	0	0		
8 val.	1	0	0		
	1	0	0		

TNTC = per skaitlingas suskaičiavimui.

Neutralizacijos kontrolė:

Nepraskiestas	1:1x10 ¹
TNTC	195
TNTC	210

TNTC = per skaitlingas suskaičiavimui

Lentelė 1b

Tirpalas, turintis 14 ppm sidabro ir 1,0% H₂O₂;

B. subtilis sporų/dezinfekuojančios medžiagos suspensijos praskiedimas:

Laikas	1:1x10 ¹	1:1x10 ²	1:1x10 ³	1:1x10 ⁴	1:1x10 ⁵
10 min.	-	-	TNTC	TNTC	230
	-	-	TNTC	TNTC	287
30 min.	-	-	TNTC	TNTC	254
	-	-	TNTC	TNTC	260

1 val.	-	-	TNTC	TNTC	146
	-	-	TNTC	TNTC	124
2 val.	-	TNTC	TNTC	64	-
	-	TNTC	TNTC	71	-
4 val.	TNTC	72	5		
	TNTC	77	5		
6 val.	0	0	0		
	2	0	0		
8 val.	0	0	0		
	0	0	0		

TNTC = per skaitlingas suskaičiavimai.

Neutralizacijos kontrolė:

Nepraskiestas	1:1x10
TNTC	200
TNTC	184

TNTC = per skaitlingas suskaičiavimai

D. Diskusija

Titro rezultatai, parodė gyvybingą *B. subtilis* sporų koncentraciją $62,59 \times 10^8$ sporų/ml originalios suspensijos. 9,9 ml dezinfekuojančios medžiagos inokuliavimas su 100 ml šios suspensijos davė pradinę $2,59 \times 10^5$ sporų koncentraciją/ml bandomajame vamzdelyje.

Šių procedūrų rezultatai leido suskaičiuoti logaritmų sumažėjimo (LR) ir procentines užmušimo (PK) reikšmes. Jie yra pateikti lentelėje žemiau. Reikšmės buvo apskaičiuotos, naudojant formules: $LR = -\log(S/S_0)$ ir $PK = (1 - (S/S_0)) \times 100$; kur S = organizmų koncentracija apibrėžtame laike; ir S_0 = pradinė organizmų koncentracija nuliniame laike.

Kadangi nebuvo žymaus užmušimo 30 min., 10 min periodu duomenys buvo naudojami S_0 reikšmėms. 6 val. ir 8 val. išlaikymo laikas neparodė pakankamai aukštų patikimų skaičių. Taigi, šie duomenys nebuvo panaudoti linijinėse regresijose. Linijinės regresijos buvo išvestos su logaritmų redukcijos reikšmėmis, naudojant pritaikytą linijinių diagramų programas minilentelių statistiniame programinės įrangos pakete. Gautos regresijos lygtys ir laikas, reikalingas 6-log

LT 5643 B

redukcijai vykdyti, yra pavaizduotas kartu su log redukcija ir procentinėmis užmušimo reikšmėmis sekančioje 2 lentelėje.

2 lentelė

	14 ppm sidabras + 1,5% H ₂ O ₂		10 ppm sidabro + 1,0% H ₂ O ₂	
Laikas	log redukcija	Procentinis užmušimas	log redukcija	Procentinis užmušimas
30 min.	-0,03	-7,9	0,003	0,6
1 val.	0,66	78,0	0,28	47,8
2 val.	2,05	99,1	1,58	97,4
4 val.	4,63	99,998	3,54	99,97

Regresijos analizė

14 ppm sugalvota linijinė lygtis: $Y = -0,66704 + 1,32936x$. 10 ppm sugalvota linijinė lygtis: $Y = -0,59690 + 1,03933x$. Šios lygtys numato, kad 6-log redukcijos laikas yra 5,02 valandų 14 ppm kompozicijai ir 6,35 valandų 10 ppm kompozicijai.

Neutralizacijos kontrolės duomenys parodė, kad dezinfekuojanti medžiaga buvo pakankamai neutralizuota. Laukti skaičiai atitinka tuos, kurių laukta išpraskiedimo.

Tiriami eksperimentiniai dezinfekuojantys preparatai *B. subtilis* štamai, naudojamas šiuose analizėse yra toks pat, kaip apibrėžtas AOAC sporų teste. Sporos iš šio organizmo rodo didžiausią pasipriešinimą daugeliui dezinfekuojančių medžiagų. laikas, reikalingas įvykdyti 6-log redukciją yra vienoje eilėje su daugelio sterilizuojančių medžiagų sporų žymos tvirtinimu.

**10 PPM SIDABRO KOMPOZICIJOS, KAIP PLATAUS SPEKTRO
ANTIMIKROBINĖS MEDŽIAGOS, VEIKSMINGUMO ĮRODYMAS**

a. Būdai

MIC (minimali slopinanti koncentracija) ir MBC (minimali baktericidinė koncentracija) tyrimai buvo atlikti pagal standartinį sultinio praskiedimo būdą. MIC yra apibrėžiama kaip žemiausia antibiotiko koncentracija, kuri slopintų infekcinių organizmų (*in vitro*) augimą. Rezultatai yra pateikti mikrogramais per ml.

Medicininiam antibiotikams *in vitro* duomenų interpretavimas yra pagrįstas pasiekiamomis vaisto serumo koncentracijomis, kurios įvairuoti, priklausomai nuo dozės, vartojimo būdo, baltymų surišimo laipsnio, infekcijos dalies, paciento amžiaus ir svorio ir kitų faktorių. MBC yra apibūdinama kaip žemiausia antimikrobinio agento, reikalingo užmušti 99,9% pradinio organizmo užkrato, koncentracija.

Testas buvo atliekamas, kiekvieno iš tiriamųjų organizmų gryną kultūrą auginimu skystoje terpėje. Pakartotiniai kiekvieno tiriamojo antibiotiko praskiedimai buvo atliekami maistiniame sultinyje. Praskiedimai buvo skaičiuojami, apimant agento kiekvieno organizmo lengvai vykstančius svyravimus. Standartinis tiriamosios kultūros kiekis buvo pridėtas į kiekvieną vamzdelį ir vamzdelis perkeltas į inkubatorių ($37 \pm 2^\circ\text{C}$) augimui. Vamzdeliai buvo tikrinami turbinometriškai, siekiant nustatyti bakterijų augimą. Žemiau MIC koncentracijos vamzdeliai parodė optinio tankio padidėjimą su laiku, nustatant bakterijų augimą. Žemiausia antibiotiko koncentracija, kuri nerodo augimo, yra MIC. Neturintys augimo vamzdeliai po to buvo subkultūrinami šviežioje terpėje. Neturintis augimo vamzdelis su žemiausia antibiotiko koncentracija parodė, kad neturinti augimo subkultūroje yra MBC. Rezultatai yra parodyti 3 lentelėje.

B. Rezultatai

3 lentelė

Organizmas	Antimikrobinis (ppm)					
	Tetraciklinas	Ofloksacinas	Penicilinas G	Cefaperazonas	Eritromicinas	Sidabras
<i>S. pyogenes</i>	0.625/>5	1.25/2.5	>5.0	0.313/1.25	0.003/0.019	2.5/5.0
<i>S. mutans</i>	0.625/>5	2.5/>5.0	0.521/>5	1.25/>5	0.009/0.019	2.5/10.0
<i>S. gordonii</i>	0.156/0.625	2.5/5.0	0.009/0.039	1.25/1.25	0.005/0.019	2.5/10.0
<i>S. pneumoniae</i>	0.078/0.625	2.5/2.5	0.019/0.019	0.313/0.313	0.002/0.004	2.5/2.5
<i>S. fasciis</i>	0.313/>5	1.25/5.0	5.0/>5.0	>5.0	0.009/1.25	10.0/10.0
<i>S. aureus</i>	0.313/>5	0.417/0.625	2.5/>5.0	5.0/5.0	0.039/>5.0	5.0/5.0
<i>P. aeruginosa</i>	0.078/5	0.156/0.313	0.131/>5.0	2.5/5.0	2.5/>5.0	1.67/5
<i>E. coli</i>	1.67/>5	0.104/0.156	>5.0	0.625/>5.0	5.0/>5.0	2.5/2.5
<i>E. aerogenes</i>	>5	0.078/0.156	>5.0	2.92/>5.0	>5.0	2.5/2.5
<i>E. cloacae</i>	1.67/>5	0.156/0.156	>5.0	>5.0	>5.0	2.5/5.0
<i>S. typhimurium</i>	1.25/>5	0.078/0.156	>5.0	1.25/2.5	5.0/>5.0	2.5/5.0
<i>S. arizona</i>	0.625/>5	0.078/0.078	>5.0	0.833/>5.0	4.17/>5.0	2.5/5.0
<i>S. boydii</i>	1.25/>5	0.078/0.156	>5.0	0.625/0.625	5.0/>5.0	1.25/1.25
<i>K. pneumoniae</i>	2.5/>5	0.417/0.625	>5.0	>5.0	>5.0	2.5/2.5
<i>K. oxytoca</i>	1.25/>5	10.104/0.156	>5.0	1.25/>5.0	>5.0	1.25/1.25

Duomenys yra pateikti kaip MIC/MBC (minimali slopinanti koncentracija/minimali bakterinė koncentracija) milijoninėmis masės dalimis (ppm); ">" reiškia, kad koncentracija, reikalinga gauti MIC arba MBC buvo aukštesnė, negu testo parametrai, išmatuoti testu. Pavyzdžiui, didžiausia tetraciklino koncentracija, naudojama *S.pyogene*, buvo 5 ppm. Šioje koncentracijoje vis dar vyko augimas po subkultūrinimo neturinčiuose augimo vamzdeliuose. Taigi, MBC turi būti > (didesnis negu) 5 ppm.

E. coli štamo O 157:H7, kuris buvo susietas su hemoraginės diarėjos ir kolito prasiveržimais, MIC/MBC buvo nustatytas vėlesniame tyrime. MIC buvo nustatytas kaip 2,5 ppm ir MBC buvo nustatytas kaip 5 ppm.

C. Išvada

Šio išradimo 10 ppm sidabro kompozicija buvo testuojama ir rasti abu, ir bakteriostatinis, ir baktericidinis iš testuojamų organizmų. Kituose tyrimuose ši kompozicija buvo palyginta su kitais prekyboje sutinkamais koloidiniais sidabro produktais ir rasta, kad ji turi didesnį aktyvumą, negu visi kiti testuojami preparatai (duomenys nepareikti). Įdomiausias pastebėjimas buvo platus spektras, kurį duoda 10 ppm sidabro kompozicija. Stebėtas antimikrobinis aktyvumas buvo pakankamai pastovus, nepriklausomai nuo konkretaus testuojamo organizmo. Išskyrus *Streptococcus faecalis* ir *Streptococcus aureus* (kurių MIC reikšmės atitinkamai yra 10 ppm ir 5 ppm), MIC reikšmės svyravo tarp 1,25 ppm ir 2,5 ppm abiems gramui teigiamo ir gramui neigiamo mikroorganizmo. MBC reikšmės panašios reikšmėms, svyruojančioms nuo 1,25 ppm iki 5 ppm, išskyrus *Streptococcus mutans*, *Streptococcus gordonii* ir *Streptococcus faecalis* (kur visų jų MBC reikšmės yra 10 ppm). Duomenys rodo, kad šio išradimo įgyvendinimas su 10 ppm sidabro pateikia vienodą arba platesnį aktyvumo spektrą, negu bet kuris testuojamas antibiotikas. Antibiotikai iš esmės susiaurina antibakterinį spektrą, apribotą imliems organizmams, bet kaip rodo duomenys, šio išradimo sidabro kompozicija yra vienodai veiksminga abiems, tiek gram-pozityviam, tiek gram-negatyviam organizmams. Duomenys rodo, kad, bendrai, su mažu toksiškumu, susijusiu su sidabru, ir plačiu antimikrobinio šios sidabro kompozicijos spektru, šis preparatas gali būti veiksmingas, naudojant kaip alternatyvą antibiotikams.

D. Nuorodos susijusios su prieš tai pateiktu pavyzdžiu:

1. US EPA IRIS Report for Silver CASRN 7440-22-4;
2. Fox CL, Modak SM. Mechanism of Silver Sulphadiazine Action on Burn Wound. Infections. Antimicrobial Agents Chemoter. 5:582-588, 1974;
3. Furchner, JE Richmond CR ir GA Drake. Comparative Metabolism of Radionuclides in Mammals. IV. Retention of Silver-110m in the Mouse, rat, Monkey and Dog. Health Phys. 15:505-514. 1968.
4. Grier, N. Silver and its Compounds in Disinfection, Sterilization and Preservation. (Seymour S. Block, ed.) 2nd Edn, pp 395—407, 1977;
5. Hindler, JA, and JH Jorgensen. Procedure in Antimicrobial Testing in Diagnostic Microbiology. (CR Mahon and G Manuselis, eds.) pp 63—91. 1995

32PPM SIDABRO KOMPOZICIJOS VEIKSMINGUMO PRIEŠ PSEUDOMONAS AERUGINOSA, SALMONELLA CHOLERAESUIS IR STAPHYLOCOCCUS AUREUS ĮRODYMAS

A. Būdai

Pseudomonas aeruginosa ATCC #15442, *Salmonella choleraesuis* ATCC # ir *Staphylococcus aureus* ATCC # 6538 buvo tiriami, naudojant AOAC (Association Official Analytical Chemists AOC Methods, vol. 15 leidinys, 1990, AOAC Arlington, VA) oficialius 955.14 ir 964.02 būdus. Maistinio sultinio (NBAOAC) vamzdeliai buvo inokuliuoti iš žaliavinės kultūros ir vamzdeliai inkubuoti $37 \pm 2^\circ\text{C}$. Maistinio sultinio perkėlimai į naujus vamzdelius buvo atliekami tris dienas paeiliui, kur galutinis perkėlimas buvo inkubuotas $37 \pm 2^\circ\text{C}$ 48—54 val. *Pseudomonas* kultūra buvo dekantauta į naują vamzdelį, siekiant pašalinti plėvelę. Kitos kultūros buvo sukamos 3—4 sekundes ir paliekamos stovėti 10 min. kambario temperatūroje. Galiausiai kultūros buvo praskiestos 1:100 peptono vandenyje (PEPW), į kurį buvo pridėta arklių serumas, siekiant gauti 5 bendrą organinį bandinį. Testo nešikliai (10 mm ilgio poliruoti 304 nerūdijančio plieno cilindrai su 8 mm išoriniu diametru ir 6 mm

LT 5643 B

vidiniu diametru) buvo įmerkti į bandinio tirpalą 15 min., išimti, sausinami ir džiovinami $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ 40 ± 2 min. prie panaudojimą.

Fenolio atsparumas. Penkių—vieno ml tiriamo fenolio kiekvieno praskiedimo mėginiai buvo patalpinti į sterilius testavimo vamzdelius ir subalansuoti $20 \pm 2^{\circ}\text{C}$ vandens vonioje. 30 sekundžių intervalais 0,5 ml kiekvieno bandinio kultūros buvo pridėta į tinkamus fenolio skiedinius, sukratyti ir perkelti į vandens vonią. Po tinkamų išlaikymo laikų – 5, 10 ir 15 minučių pasėlio suspensija yra pašalinama iš mėginių vamzdelių ir perkeliama į *letheen* sultinio vamzdelius (LETH). LETH vamzdeliai buvo inkubuoti $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ 2 dienas.

Nešiklio titravimas. Nešiklių titravimui buvo paruoštas 10 ml peptono Tween® (polisorbato ženklas) ruošinių. Du nešikliai buvo patalpinti į atskirus vamzdelius su pirmuoju 1:10 praskiedimu. Vamzdeliai buvo pakankamai energingai maišomi siekiant gauti bakterijas tirpale ir buvo padaryti pakartotiniai praskiedimai į 9 ml LETH terpės ruošinius. Praskiedimo ruošiniai buvo inkubuojami $37\pm 2^{\circ}\text{C}$. Paskutinis augimo vamzdelis rodė organizmų log₁₀ titrą ant nešiklio. AOAC reikalinga nešikliai tam, kad turėtų minimalią 1×10^4 cfu/nešiklių populiaciją.

Sidabro kompozicijos testas. 10 ml paruoštų dezinfekuojančių medžiagų mėginių, naudojant sterilias stiklo pipetes, buvo patalpinti į sterilius testavimo vamzdelius ir leidžiama susibalansuoti šaltoje vandens vonioje, palaikant $20\pm 2^{\circ}\text{C}$. Neliečiant testuojamų vamzdelių stiklelių, į kiekvieną sidabro kompozicijos vamzdelį 30 sekundžių intervalais buvo pridėta užkrėsto sauso nešiklio ir patalpinta atgal į vandens vonią. Dezinfekuojanti medžiaga buvo tiriama su 60 užkrėstų nešiklių kiekvienam organizmui 5 ir 10 minučių išlaikymo intervalais. Sekant išlaikymą, nešikliai buvo pašalinti iš dezinfekuojančios medžiagos ir perkelti į LETH vamzdelį. Kultūrų vamzdeliai buvo inkubuoti $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ 2 dienas ir pažymėti kaip pozityvūs (+) arba negatyvūs (0) bandomųjų organizmų augimai.

Kontrolės. Į kiekvieną organizmą LETH vamzdelyje, kaip pozityvi kontrolė, buvo pridėta sauso užteršto nešiklio. Neinokuliuota vamzdelių terpė laikoma kaip negatyvios kontrolės. Po inkubacijos visi negatyvūs vamzdeliai buvo pastiprinti atitinkamų organizmų 1—100 kolonijas formuojančiais vienetais (cfu) tam, kad pademonstruoti neutralizacijos veiksmingumą. Tam, kad pademonstruoti terpės augimo skatinimą, negatyvių kontrolių vamzdeliai taip pat buvo inkubuojami su tais pačiais 1—100 cfu visiems trims organizmams. Inokuliavimo tūriai buvo patalpinti į tris egzempliorius ant sojų pupelių kazeiną pasisavinančio agaro (SCDA) tam, kad

verifikuoti inokuliuojamus titrus. Vamzdeliai ir plokštelės buvo inkubuojami $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ iki augimas buvo pastebėtas visuose vamzdeliuose.

Vykstant *P. aeruginosa* neutralizacijai, pradinis inokulianto titras buvo nustatytas > 100 cfu, kuris pagal protokolą yra ganėtinai aukštas. Kadangi visi pirminiai vamzdeliai buvo suardyti, buvo atliktas imituojantis testas su tokia pačia terpės dalimi, tiriant į dezinfekuojančios medžiagos vamzdelius patalpintus nešiklius iš visų trijų sidabro kompozicijų dalių 10 minučių. Nešikliai buvo sub-perkeliami į LETH tuščias vietas. Šie vamzdeliai po to buvo ardomi organizmo 1–100 cfu. Vamzdeliai buvo inkubuojami kaip ir anksčiau ir skirti augimui arba neaugimui. Nauji vamzdeliai su sterilia terpe iš tos pačios dalies taip pat buvo inkubuoti kaip augimo skatinimo patikrinimas.

B. Rezultatai

Pradinis tyrimas, naudojant *S. aureus* parodė atsitiktinius #1 ir #2 tyrimo rezultatus, bet #3 tyrimas nepavyko. Remiantis tyrinėjimu, buvo nuspręsta, kas #3 mėginys buvo sugadintas gabenant. naujas buteliukas buvo gautas iš tos pačios dalies, kaip #3 mėginys ir naujas buteliukas buvo pažymėtas kaip #4 mėginys. *S. aureus* bandymas buvo pakartotas, naudojant #3 mėginį. AOAC parodymai konstatavo, kad bet kuriam iš laiko taško ir organizmo, tik 1 nešiklis sudaro sąlygas augimui kiekvienoje testuojamoje dalyje.

Pozityvios kontrolės parodė augimą ir negatyvios kontrolės parodė neaugimą visose dalyse, laiko taškuose ir organizmuose.

Nešiklio titravimas buvo vykdomas visiems organizmams du kartus. Pateiktas titras yra replikacijų vidurkis. Visiems trims organizmams vidutinis titras, rastas ant nešiklių, svyruoja nuo $5,5 \times 10^4$ iki $5,5 \times 10^6$ cfu/nešiklis. AOAC reikalauja, kad nešiklis turėtų minimalų $1,0 \times 10^4$ cfu/nešiklis.

P. aeruginosa 3/180 nešikliai parodė augimą ties 5 min. testavimo tašku ir 2/180 nešikliai parodė augimą ties 10 min. testavimo tašku. *S. aureus* 16/180 nešikliai parodė augimą ties 5 min. testavimo tašku ir 2/180 nešikliai parodė augimą ties 10 min. testavimo tašku. *S. choleraesuis* 6/180 nešikliai parodė augimą ties 5 min. testavimo tašku ir 1/180 nešikliai parodė augimą ties 10 min. testavimo tašku.

Testuojama *Pseudomonas* kultūra parodė augimą ties 5, 10 arba 15 min. poveikiu su 1:90 fenoliu ir parodė augimą ties 5 arba 10 min. poveikiu su 1:80 fenoliu, bet neparodė augimo ties 15 min, poveikiu su 1:80 fenoliu. *Staphylococcus*

LT 5643 B

kultūra parodė augimą ties 5, 10 arba 15 min. poveikiu su 1:70 fenoliu ir parodė augimą ties 5 arba 10 min. poveikiu su 1:60 fenoliu, bet neparodė augimo ties 15 min, poveikiu su 1:60 fenoliu. *Salmonella* kultūra parodė augimą ties 5, 10 arba 15 min. poveikiu su 1:100 fenoliu, bet neparodė augimo ties 5, 10 arba 15 min. poveikiu su 1:90 fenoliu.

32, 22 ir 10 PPM SIDABRO IR 22 PPM SIDABRO IR 1,5 H₂O₂ IR 10 PPM SIDABRO IR 10 PPM K₂S₂O₈ VEIKSMINGUMO PRIEŠ *SALMONELLA* IR *ESCHERICHIA COLI* NAUJAI INOKULIUOTAME JAUTIENOS MĖGINYJE ĮRODYMAS

A. Bandymo tikslas

bandymo tikslas yra pademonstruoti šio išradimo sidabro pagrindo kompozicijų antimikrobinio aktyvumo įgyvendinimus jautienos šoninės gabalo mėginiuose, išoriniame paviršiuje inokuliuotuose penkiais *Salmonella* rūšių sumaišytais štamais. Arba *Escherichia coli* O157:H7 užkratu aukštame tirpalo lygyje (1×10^6 cfu.cm³) ir atskirai užkratu mažame tirpalo lygyje (1×10^4 cfu/cm²) (cfu = kolonijas formuojantis vienetas).

B. Medžiagos ir būdai

Jautienos mėginiai. Jaučio audinių mėginiai buvo paimti iš nurašytų arklių 8 valandas po išdorojimo. *Rectus abdominus* raumuo buvo nuskustas nuo griaučių, laikant vėsiam šaldytuve, padarant įpjovas tarp 11-o ir 12-o šonkaulių ir po to lupant raumenį išilgai natūralių sluoksnių. Tinkamai paruošti mėginiai buvo patalpinti į plastinius maišelius su ledo gabalais ir buvo vežami tą pačią dieną į laboratoriją, kur mėginiai buvo greitai supakuoti Multi-Vac (A-300) ir patalpinti į 4°C šaldytuvą. Testavimui naudojamų mėginių pH buvo tarp 5,8 ir 6,0 ir buvo ne ilgiau kaip 36 valandas po išdorojimo. Iš atsitiktinai atrinktų *rectus abdominus* raumenų, 13x8 mėginiai buvo išpjauti ir testuojami. Po apdorojimo 3,5 cm² ugnimi sterilizuota nerūdijančio plieno pagrindo priemonė ir chirurginis skalpelis buvo naudojami steriliam dviejų mėsos sluoksnių mėginiui intervalo nustatymui kiekvienas mėginiui. Audinių sluoksniai buvo patalpinti į sterilią siaurėjantį pūslinį krepšį su 25 ml 0,1% peptono ir pūsliniame krepšyje buvo maišomi 2 minutes (Lab Bender 400). Buvo paruošti pasikartojantys skiediniai ir laipsniškai patalpinti ties 0 minučių, 20 minučių,

1 valanda, 4 valandomis ir 24 valandomis po apdorojimo į selektyvią ir atstatytą terpę.

Bakterijų kultūros. Bakterijų kultūros buvo gautos iš Kanzaso valstijos universiteto (KSU) saugomų kultūrų kolekcijos ir buvo saugomos, naudojant „Mėsos saugojimas“ saugojimo sistemą. *Salmonella* rūšims buvo naudojamos sekančios kultūros: *S. lille* (UGA), *S. Montevideo* (UGA), *S. typhimurium* (UGA), *S. agona* (KSU 05 iš CDS staigiai prasiveržiančio izoliato) ir *S. newport* (KSU 06 iš CDS staigiai prasiveržiančio izoliato). Sekančios kultūros buvo panaudotos *Escherichia coli* bandiniui: *E. coli* O157:H7 (CDC 01,03), *E. coli* O157:H7 (USDA-FSIS 011-82 Rif atsparus 100 ppm), *E. coli* O157:H7 (ATCC 43895 HUS asocijuotų I ir II tipo toksinų Rif atsp.) ir *E. coli* ATCC#23740 (genotipo K-12prototrombinė liambda).

Žaliavinės kultūros buvo kultivuojamos, patalpinant vieną impregnuotą rutuliuką į 5 ml Difco® trijų sojų sultinio (TBS) tirpalą ir inkubuojama 24 valandas 35°C. Toliau 0,05 ml pateiktos kultūros pasėlis buvo inokuliuotas į 5 ml TBS tirpalo ir inkubuojamas 24 valandas 35°C, siekiant gauti gryną kultūrą. Po inkubacijos 1 ml atitinkamos kultūros buvo inokuliuota į 49 ml TBS ir inkubuota 24 val. 35°C. Tęsiant inkubaciją, mėginiai buvo centrifuguojami (15300Xg 4oC) ir nusodinta medžiaga dekantuojama ir gumulėlis buvo pakartotinai suspenduotas 50 ml 0,1% peptono ir centrifuguojamas (15300Xg 4oC) iki galo. Peptonas buvo dekantuotas ir likęs gumulėlis buvo pakartotinai suspenduotas 10 ml 0,1% peptono. Penki 10 ml buteliukai atitinkamos kultūros buvo maišomi kartu, siekiant gauti kokteilį, turintį 10^9 cfu/ml *Salmonella* rūšių. Kokteilis buvo skiedžiamas iki 10^6 cfu/ml arba 10^4 cfu/ml, naudojant 0,1% peptono. Kultūros buvo sutvirtinamos kultivuojant selektyvioje arba diferencinėje terpėje ir galimų kolonijų biochemine analize, naudojant API 20E rinkinius.

Inokuliacijos būdas. Jaučio šoninės gabalai (*rectus abdominus* raumuo) buvo palyginti iki 13x8 cm (104 cm^2) ir buvo inokuluoti penkiais štamo kokteiliais iš *Salmonella* arba *Escherichia coli* O157:H7 rūšių, esant aukštam inokulinio tirpalo lygiui ($10^6 \text{ log cfu/cm}^2$) ir atskirai, esant žemam inokulinio tirpalo lygiui ($10^4 \text{ log cfu/cm}^2$). Šis inokuliatas buvo užpurkštas ant audinio paviršiaus, naudojant plastikinį purškiamą buteliuką su pavyzdžiais, turintį įtaisytas inokulianto kameras. Faktinė *Salmonella* rūšių koncentracija ant mėsos paviršiaus buvo maždaug 5,0 ir 3,4 log cfu/cm² atitinkamai aukšto ir žemo lygio inokulianto tirpale. *E. coli* O157:H7 mėsos paviršiaus inokuliacijos lygiai atitinkamai buvo 4,2 ir 3,9 log cfu/cm².

LT 5643 B

Po to jautienos pavyzdžiai buvo pakabinti vertikaliai ant nerūdijančio plieno kablių, pritvirtintų prie motorizuoto takelio, kuris stumia mėginius pro pavyzdžio purškimo kabiną (Kanzas valstijos universitetas, maisto saugojimo laboratorija), kol yra baigiamos apipurškimo procedūros. Procedūros arba su šio išradimo sidabro kompozicijomis, arba dejonizuotu vandeniu buvo taikomos jautienai prie 20 psi nuo 13 cm atstumo pavyzdžio praplovimo su slėgiu kabinoje 20 sekundžių. Purkštuko anga (BETE NF0580 303) išpurškė maždaug 20 ml tirpalo ant jautienos mėginio paviršiaus. Tirpalų ir apdorojimo kambario temperatūra buvo maždaug 14°C. Po apdorojimo dvigubi juostelių mėginiai atsitiktinai buvo nuplėšti nuo horizontalaus jautienos paviršiaus prie 0, 20, 60 ir 240 minučių. Mėginiai buvo kultivuojami ir išdėliojami ant selektyvios deferencinės ir atstatomos terpės. Log redukcijos buvo suskaičiuotos, substrahuojant inokuliuotus/apdorotus log cfu/cm² mėginius apibrėžtais bandymų laikais iš inokuliuotų/apdorotų log cfu/cm² mėginių prie 0 minučių. Mėginių apdorojime panaudotos 32 ppm sidabro, 22 ppm sidabro ir 10 ppm sidabro šio išradimo kompozicijos. Atskirai buvo tiriamos 22 ppm AG su 1,5 masės % vandenilio peroksido ir 10 ppm Ag su kalio peroksido sulfatu (K₂S₂O₈) deriniai.

C. Rezultatai su 32 ppm sidabro kompozicija

Šio išradimo 32 ppm sidabro kompozicijos panaudojimas parodė bakterijų ant jautienos gabalo redukciją. Toliau, šis redukcija buvo išreikšta bakterijos skaičiaus santykio log₁₀ kontroliniame laike 0 su bakterijų kiekiu apdorojimo periodais bandymų metu (t.y. apdorojant).

Su *Salmonella*, prie žemo pradinio bakterijų lygio (10⁴), buvo nustatytos sekančios log redukcijos: 0,78 prie 0 minučių, 1,11 prie 20 minučių, 1,08 prie 60 minučių ir 1,23 prie 240 minučių. Taigi, prie 4 valandų (240 minučių) pradinis bakterijų kiekis mėginyje apdorotas su 32 ppm sidabru yra 10^{1,23}. Esant aukštesniam bakterijų lygiui (10⁶), buvo nustatytos sekančios log redukcijos: 0,86 prie 0 minučių, 0,95 prie 20 minučių, 0,98 prie 60 minučių ir 1,17 prie 240 minučių. Rezultatai parodė, kad šio išradimo 32 ppm sidabro įgyvendinimo variantas parodė veiksmingą baktericidinį poveikį *Salmonella* ant jautienos gabalo. Galima būtų pripažinti, kad mėsos paviršiaus dezinfekavimas yra kraštutinis bet kurios dezinfekuojančios priemonės išbandymas.

Su *E. coli*, prie žemo pradinio bakterijų lygio (10^4), buvo nustatytos sekančios log redukcijos: 1,03 prie 0 minučių, 1,28 prie 20 minučių, 1,42 prie 60 minučių ir 1,58 prie 240 minučių. Esant aukštesniam bakterijų lygiui (10^6), buvo nustatytos sekančios log redukcijos: 0,65 prie 0 minučių, 0,60 prie 20 minučių, 0,83 prie 60 minučių ir 0,87 prie 240 minučių. Rezultatai parodė, kad šio išradimo 32 ppm sidabro įgyvendinimo variantas parodė veiksmingą baktericidinį poveikį *E. coli* ant jautienos gabalo.

D. Rezultatai su 22 ppm sidabro kompozicijomis

Rezultatai su sidabru vandenyje. Su *Salmonella*, prie žemo pradinio bakterijų lygio (10^4), buvo nustatytos sekančios log redukcijos: 0,41 prie 0 minučių, 0,43 prie 20 minučių, 0,48 prie 60 minučių ir 0,68 prie 240 minučių. Esant aukštesniam bakterijų lygiui (10^6), buvo nustatytos sekančios log redukcijos: 0,24 prie 0 minučių, 0,24 prie 20 minučių, 0,42 prie 60 minučių ir 0,61 prie 240 minučių. Rezultatai parodė, kad šio išradimo 22 ppm sidabro įgyvendinimo variantas parodė veiksmingą baktericidinį poveikį *Salmonella* ant jautienos gabalo.

Rezultatai su sidabru vandenyje ir 1,5 masės % vandenilio peroksido. Su *Salmonella*, prie žemo pradinio bakterijų lygio (10^4), buvo nustatytos sekančios log redukcijos: 0,34 prie 0 minučių, 0,33 prie 20 minučių, 0,36 prie 60 minučių ir 0,62 prie 240 minučių. Esant aukštesniam bakterijų lygiui (10^6), buvo nustatytos sekančios log redukcijos: 0,28 prie 0 minučių, 0,14 prie 20 minučių, 0,30 prie 60 minučių ir 0,69 prie 240 minučių. Rezultatai parodė, kad šio išradimo 22 ppm sidabro su 1,5 masės % vandenilio peroksido įgyvendinimo variantas parodė veiksmingą baktericidinį poveikį *Salmonella* ant jautienos gabalo.

E. Rezultatai su 10 ppm sidabro kompozicija

Rezultatai su sidabro kompozicija vandenyje. Su *Salmonella*, prie žemo pradinio bakterijų lygio (10^4), buvo nustatytos sekančios log redukcijos: 0,38 prie 0 minučių, 0,41 prie 20 minučių, 0,39 prie 60 minučių ir 0,61 prie 240 minučių. Esant aukštesniam bakterijų lygiui (10^6), buvo nustatytos sekančios log redukcijos: 0,24 prie 0 minučių, 0,21 prie 20 minučių, 0,41 prie 60 minučių ir 0,54 prie 240 minučių. Rezultatai parodė, kad šio išradimo 10 ppm sidabro įgyvendinimo variantas parodė veiksmingą baktericidinį poveikį *Salmonella* ant jautienos gabalo.

LT 5643 B

Rezultatai su sidabro kompozicija vandenyje su 10 ppm $K_2S_2O_8$. Su *Salmonella*, prie žemo pradinio bakterijų lygio (10^4), buvo nustatytos sekančios log redukcijos: 0,26 prie 0 minučių, 0,28 prie 20 minučių, 0,35 prie 60 minučių ir 0,58 prie 240 minučių. Esant aukštesniam bakterijų lygiui (10^6), buvo nustatytos sekančios log redukcijos: 0,03 prie 0 minučių, 0,16 prie 20 minučių, 0,21 prie 60 minučių ir 0,36 prie 240 minučių. Rezultatai parodė, kad šio išradimo 10 ppm sidabro su 10 ppm kalio peroksido sulfatu ($K_2S_2O_8$) įgyvendinimo variantas parodė veiksmingą baktericidinį poveikį *Salmonella* ant jautienos gabalo.

10 PPM SIDABRO, SKIRTO GYDYTI ŽMOGAUS NEGALAVIMUS, VEIKSMINGUMO ĮRODYMAS

a. Bandymo tikslas

Šio bandymo tikslas yra pademonstruoti sidabro pagrindo kompozicijų įgyvendinimo panaudojimą įvairių žmogaus negalavimų gydymui. Šioje serijoje bandymai buvo atlikti Ganoje, Vakarų Afrikoje, Atmosferos judėjimo tyrimų stotyje, vadovaujant direktoriui Dr. Kwabiah, Korie-Bu mokymo ligoninėje, vadovaujant direktoriui Sr. Sackey ir Justab klinikų/motinytės ligoninėje, vadovaujant direktoriui Dr. Abraham, Iš viso buvo gydyti penkiasdešimt aštuoni (58) pacientai, naudojant šio išradimo sidabro/vandens kompozicijas, apimančias 10 ppm sidabro. Kompozicijos buvo naudojamos tiek išoriškai, tiek į vidų, kaip alternatyva tradiciniams antibiotikams. Gydomi negalavimai apėmė: maliariją, viršutinių kvėpavimo takų infekcijas, šlapimo trakto infekcijas, sinusitus, makšties mieliagrybį, akių, nosies ir ausų infekcijas, įsijovimus, grybelines odos ligas ir lytiniu būdu perduodamas ligas, tokias kaip gonorėja.

B. Gydymo būdai ir rezultatai

Pilvo skausmas ir diarėja. Būdas apima maždaug 5–25 ml sidabro kompozicijos skyrimo pakopą, vieną—penkis kartus per dieną peroraliai iki atsako gavimo. Vienas pacientas buvo gydytas maždaug 10 ml (apie du arbatiniai šaukšteliai) šio išradimo kompozicijos tris kartus per dieną. Pacientas pilnai atsistatė per vieną dieną.

Bronchitas. Būdas apima maždaug 5—25 ml sidabro kompozicijos skyrimo pakopą, vieną—penkis kartus per dieną peroraliai iki atsako gavimo. Du pacientai buvo gydyti maždaug 5 ml (maždaug vienas arbatinis šaukštelis) kiekvienos iš šio išradimo kompozicijos tris kartus per dieną. Pacientas pilnai atsistatė per tris dienas.

Makšties mieliagrybis (Candida). Būdas apima maždaug 5—25 ml sidabro kompozicijos skyrimo pakopą, vieną—penkis kartus per dieną peroraliai iki atsako gavimo. Penki pacientai buvo gydyti maždaug 10 ml (apie du arbatiniai šaukšteliai) šio išradimo kompozicijos du kartus per dieną. Pacientas pilnai atsistatė per šešias dienas.

Konjunktivitas. Būdas apima maždaug keletą lašų sidabro kompozicijos skyrimo pakopą, vieną—penkis kartus per dieną į infekuotą akį iki atsako gavimo. Du pacientai buvo gydyti su keliais šio išradimo kompozicijos lašais į kiekvieną infekuotą akį du kartus per dieną. Pacientas pilnai atsistatė per vieną dieną.

Išoriniai pjūviai ir infekcija (įskaitant *Staphylococcus* odos infekcijas, septines opas ir infekuotus abscesus). Būdas apima sidabro kompozicijos skyrimo pakopą, vieną—penkis kartus per dieną į infekuotą plotą iki atsako gavimo. Šeši pacientai buvo gydyti su maždaug 5 ml (maždaug vienas arbatinis šaukštelis) kiekviena iš šio išradimo kompozicija į infekuotas vietas du kartus per dieną. Pacientas pilnai atsistatė per tris dienas.

Išoriniai otitai. Būdas apima sidabro kompozicijos skyrimo pakopą, vieną—penkis kartus per dieną į infekuotą ausį iki atsako gavimo. Šeši pacientai buvo gydyti maždaug dviem šio išradimo kompozicijos lašais į infekuotą ausį tris kartus per dieną. Pacientas pilnai atsistatė maždaug po keturių dienų.

Otito terpė. Būdas apima sidabro kompozicijos skyrimo pakopą, vieną—penkis kartus per dieną į infekuotą ausį iki atsako gavimo. Vienas pacientas buvo gydytas maždaug dviem šio išradimo kompozicijos lašais į infekuotą ausį tris kartus per dieną. Pacientas pilnai atsistatė maždaug po keturių dienų.

Grybelinė odos infekcija. Būdas apima sidabro kompozicijos skyrimo pakopą, vieną—penkis kartus per dieną vietiškai į infekuotą plotą iki atsako gavimo. Du pacientai buvo gydyti maždaug 10 ml (apie du arbatiniai šaukšteliai) kiekviena iš šio išradimo kompozicijos tris kartus per dieną. Pacientas pilnai atsistatė per aštuonias dienas.

Gonorėja. Būdas apima sidabro kompozicijos skyrimo pakopą, vieną—penkis kartus per dieną į infekuotą plotą iki atsako gavimo. Du pacientai buvo gydyti

LT 5643 B

maždaug 10 ml (apie du arbatiniai šaukšteliai) iš šio išradimo kompozicijos tris kartus per dieną. Pacientams simptomai dingo per šešias dienas.

Maliarija. Būdas apima sidabro kompozicijos skyrimo pakopą, vieną—penkis kartus per dieną peroraliai iki atsako gavimo. Vienuolika pacientų buvo gydyti pirmoje stadijoje maždaug 10 ml (apie du arbatinius šaukštelius) kiekvienos iš šio išradimo kompozicijos tris kartus per dieną. Pacientams simptomai dingo per penkias dienas. Detalesni maliarijos gydymo sąlygos yra aptartos čia vėliau.

Halitozė ir gingivitas. Būdas apima sidabro kompozicijos skyrimo pakopą, vieną—penkis kartus per dieną burnos skalavimui iki atsako gavimo. Du pacientai buvo gydyti šia kompozicija kaip burnos skalavimo priemone. Simptomai visiškai dingo per tris dienas (gingivitas) ir per vieną dieną (halitozė).

Dubens uždegiminė liga. Būdas apima maždaug 5—25 ml sidabro kompozicijos skyrimo pakopą, vieną—penkis kartus per dieną kaip vaginos apsiplovimo priemonę iki atsako gavimo. Vienas pacientas buvo gydytas maždaug 5 ml (maždaug vienas arbatinis šaukštelis) šio išradimo kompozicijos į infekuotas vietas du kartus per dieną. Simptomai pacientui dingo per penkias dienas.

Faringitas. Būdas apima sidabro kompozicijos skyrimo pakopą, vieną—penkis kartus per dieną į infekuotą plotą iki atsako gavimo. Keturi pacientai buvo gydyti maždaug 10 ml (du arbatiniai šaukšteliai) iš šio išradimo kompozicijos tris kartus per dieną. Pacientams pilnai atsistatė per šešias dienas.

Retrovirusinė infekcija (ŽIV). Būdas apima sidabro kompozicijos, apimančios 5—40 ppm sidabro, skyrimo pakopą, vieną—penkis kartus per dieną peroraliai iki atsako gavimo. Vienas pacientas nešiojantis ŽIV (žmogaus imunodeficito virusas) buvo gydytas maždaug 5 ml (maždaug vienas arbatinis šaukštelis) šio išradimo kompozicijos du kartus per dieną. Simptomai pacientui dingo per penkias dienas.

Sinusitas ir rinitas. Būdas apima sidabro kompozicijos skyrimo pakopą, vieną—penkis kartus per dieną į nosį iki atsako gavimo. Šeši pacientai su nosies infekcijomis (keturi su sinusitu ir du su rinitu) buvo gydyti maždaug dviem kompozicijos lašais į nosies angas tris kartus per dieną. Simptomai pacientui dingo per keturias dienas.

Tonzilitas. Būdas apima sidabro kompozicijos skyrimo pakopą, vieną—penkis kartus per dieną kaip gerklės skalavimo priemonę iki atsako gavimo. Vienas pacientas buvo gydytas šio išradimo kompozicija tris kartus per dieną. Simptomai pacientui dingo per septynias dienas.

Viršutinio kvėpavimo trakto infekcija. Būdas apima sidabro kompozicijos skyrimo pakopą, vieną—penkis kartus per dieną peroraliai iki atsako gavimo. Du pacientai buvo gydyti maždaug 5 ml (maždaug vienas arbatinis šaukštelis) šio išradimo kompozicijos tris kartus per dieną. Pacientai pilnai atsistatė per šešias dienas.

Šlapimo trakto infekcijos. Būdas apima sidabro kompozicijos skyrimo pakopą, vieną—penkis kartus per dieną peroraliai iki atsako gavimo. Trys pacientai buvo gydyti maždaug 10 ml (du arbatiniai šaukšteliai) šio išradimo kompozicijos du—tris kartus per dieną. Pacientams pilnai atsistatė per šešias dienas.

C. Aptarimas

Rezultatai čia susideda iš įvairių *in vitro* testų. Iš esmės sidabro kompozicija yra ypač veiksminga prie didelę eilę mikrobus *in vitro*. Tačiau testai parodė, kas šis veiksmingumas išlieka netgi esant dideliame organinės medžiagos kiekiui. Sidabro kompozicijos yra labai veiksmingos *in vivo*, kur organinis pagrindas yra nepaprastai aukštas. Daugelis kitų dezinfekuojančių agentų yra neefektyvūs, esant dideliame organinė medžiagos kiekiui ir/arba yra per daug aštrūs ir toksiški panaudojimui *in vivo*.

Papildomas maliarijos tyrimas Ganoje, Afrikoje

Kitas grupinis tyrimas taip pat buvo atliktas Ganoje. Šio tyrimo tikslas buvo panaudoti labai specifines sąlygas ir susikcentruoti tik ties šio išradimo 10 ppm sidabro/vandens kompozicijos gydymosiomis savybėmis pacientui, kuris buvo užsikrėtęs maliarija.

Šio tyrimo tikslas buvo išrasti būdą, kuriame 10 ppm sidabro/vandens kompozicijos, gautos pagal čia aprašytus būdus, galėtų būti testuojama, siekiant gauti jos galimas gydomąsias savybes pacientų, kurie buvo užsikrėtę maliarijos infekcija, bet kuria iš keturių (4) *Plasmodium* rūšių, gydymui. Bandymo bendras aprašymas sekantis:

Medicinos gydytojai, kurie labai susiję su liga ir jos išbujojimu, nuvežė bandymus į medicinos klinikas arba ligonines. Čia buvo iš viso tiriami 16 pacientų vienam gydytojui ir iš pacientų buvo reikalaujama naudoti sidabro produktus du kartus per dieną penkias dienas, taip pat taip pat padarius jų kraujo tyrimus vieną dieną prieš pradedant tyrimą, ir taip kiekvieną dieną iki kraujo tyrimas parodė, kad parazitas buvo eliminuotas mažiausiai dvi dienas. Pacientai buvo apmokomi, tik

LT 5643 B

jeigu jie pilnai prisijungė prie sidabro naudojimo grafiko ir kasdienio kraujo tyrimo davimo.

Bandymo smulkus aprašymas

Testavime įtrauktų medicinos daktarų (MDs) skaičius: 2

Testuojamų pacientų skaičius gydytojui: 16—8 vyrai ir 8 moterys.

Bendras tyrimo dienų skaičius: 15.

Gydomam pacientui buvo duota 10 ppm sidabro/vandens kompozicijos dozė. Visa 28,35 g dienos dozė padalinta į dvi lygias dozes; Viena pusė iš 28,35 g (3 arb. šaukšteliai) buvo geriama ryte ir kita 28,35 g pusė (3 arb. šaukšteliai) buvo geriama vakare. Pacientai buvo gydomi Sidabro/vandens tirpalu pirmas penkias (5) dienas iš viso 15 dienų ciklu arba jeigu parazitas nebuvo pilnai užmuštas per penkias dienas, gydymas sidabru/vandeniu buvo tęsiamas iki parazitų užmušimo arba iki 15 dienų, priklausomai nuo to, kuris veiksnys ankstesnis.

Tuo atveju, kai paciento parazitai užmušami per dvi arba tris dienas, gydymas sidabru/vandeniu buvo tęsiamas iki penkių dienų ir įrašuose buvo pažymėta kada parazitas buvo pilnai sunaikintas.

Tuo atveju, kai pacientas, kuris vis dar turi parazitų panaudojus sidabrą/vandenį 15 dienų, bandymas nutraukiamas kaip paprastai ir šis pacientas įrašuose atžymėtas kaip nepasiduodantis tyrimui.

Pacientui, kuris buvo gydytas mažiau negu penkias dienas, buvo atžymėta pilno parazito išnykimo data ir pacientui buvo tęsiamas gydymas sidabro/vandens kompozicija iki penkių dienų ir tęsiamas bandyme iki 15 dienų.

Kraujo tyrimai.

Buvo naudojami kraujo tyrimai: Parazitų buvimas (arba nebuvimas) paciento kraujyje buvo nustatytas arba Akridino oranžo štamų testu, arba kiekvieno paciento plonais arba storais kraujo tepinėliais. Pacientų kraujas, tiriamas nulinėje dienoje (0), siekiant išsiaiškinti jo būklę, faktiškai turėjo aktyvią maliariją. Jeigu kraujo tyrimas patvirtino aktyvią maliariją, tada buvo tikrinamas pacientų tinkamumas tyrimui. Atranka apėmė esminių duomenų, tokių kaip vardas, amžius, paciento nusakyta ligos pradžia, įrašas, paciento informavimas apie reikalavimus tyrimo metu, kaip jie bus apmokami, remiantis pilnu susitarimu, ir konstatavimą, kad susitarimo nesilaikymas baigiasi išmetimu iš tyrimo be teisės sugrįžti. Pacientams, kuris sutiko dalyvauti tyrime, buvo duotos rašytinės instrukcijos, nurodančios kaip naudoti

sidabro produktą kiekvieną dieną, kur darytis kraujo tyrimus, akcentuojant pilno tyrimo protokolo laikymosi būtinybę, siekiant gauti atlyginimą už bet kurią iš dienų.

Aukščiau minėto protokolo buvo griežtai laikomasi naujausiame tyrime Ganoje, Afrikoje. Visi pacientai gavo vienodą dozę ir jų kraujas buvo tikrinamas kasdien, siekiant nustatyti *Plasmodia* parazitų egzistavimą. Sekanti 4 lentelė pateikia ankstesnių tyrimų, aprašytų aukščiau (1 tyrimas ir 2 tyrimas), o taip pat naujo 3 tyrimo porcijas, po kurios tuoj pat seka protokolai.

Santrauka

4 lentelė

Tyrimas	1	2	3	4
Pacientų skaičius	11	16	16	13
Amžiaus svyravimas	8-75	2-90	3-61	15-57
Vyrai/moterys	NA	NA	8/8	6/7
Vidutinė dienos dozė	10 ml	5 ml	15 ml	15 ml
Trumpiausias pasveikimo laikas	3 dienos	3 dienos	2 dienos	3 dienos
Ilgiausias pasveikimo laikas	7 dienos	10 dienų	8 dienos	6 dienos
Vidutinis pasveikimo laikas	5,0 dienos	6,3 dienos	4,3 dienos	4,0 dienos
# pacientai, kuriems tikrinta plazmodija	0	7	16	13
# pacientai su plazmodija	0	0	0*	0*
# nepasisekę gydymai	0	0	0	0

+ Pagijimo kartai skaitomi tie, kai pacientas išnyko simptomai, ką nustatė gydytojai.

* Kiekvienas iš šių pacientų buvo tikrinamas kasdien 14 dienų. Po šešių dienų kiekvienas iš kraujo mėginių rodė neigiamą plazmodiją.

LT 5643 B

Skaidrus šio išradimo 10 ppm sidabro/vandens tirpalas turi ryškius teigiamus poveikius prieš maliarijos parazitus.

10 PPM SIDABRO VEIKSMINGUMO PRIEŠ MALIARIJĄ (IN VITRO) ĮRODYMAS

ĮVADAS

Pasauliniu mastu, maliarija buvo ir lieka didžiausia visuomenės sveikatos problema. Liga yra sukeliamą *Plasmodium* geno parazitų pirmuonimis. Organizmo gyvenimo ciklas yra kompleksas su parazitų kitimais nuo bestuburio (moskitas) šeimininko lytinės reprodukcijos ir stuburinių aseksualios reprodukcijos, Be žinduolių, kaip stuburinių šeimininkų, taip pat tinkami apimami paukščiai ir ropliai, kaip maliarijos parazitų šeimininkai. Gyvenimo ciklo dalis moskite yra sporinė fazė, leidžianti susiformuoti sporagyviams, kurie yra infekuoti vektoriumi į stuburinį šeimininką maitinimosi metu. Sporagyviai atsiranda šizogoninėje fazėje, dauginantis parazitams eritrocitinėje ir eksoeritrocitinėje terpėse. Parazitai yra tarpląsteliniai sporinės fazės metu pereinantys į tarpląstelinę terpę vystimosi šizogoninių fazių metu. Parazito auginimas *in vitro* reikalauja pritaikytų sąlygų gyvenimo ciklo sporogoninės fazės moskito vektoriuje ir šizogoninėje fazėje sąlygos turi užtikrinti augimą stuburinių šeimininkų egzoeritrocitų ir eritrocitų vietose.

Maliarija yra viena iš pasaulyje labiausiai vyraujančių ligų ir priskiriama ne mažiau negu trečia vieta pasaulyje tarp didžiausių infekcinių ligų mirtingumo atžvilgiu. Parazitų pirmuonys, kurie sukelia maliariją, yra *Plasmodium* rūšies. Keturios *Plasmodium* pirmuonių sukelia maliariją: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae* ir *Plasmodium ovale*. Iš principo perduodami per *Anopheles* moskitą, maliarijos infekcijos taip pat gali atsirasti, kontaktuojant su infekuotu krauju, kaip kraujo perpylimas.

Maliarijos klasikiniai simptomai apima karščiavimą, galvos skausmą, drebulį, vėmimą, šiuropulį ir konvulsijas. Kai kurios retos pjautuvinės maliarijos formos, kaip drebulys ir karščiavimas, gali ir nebūti ir pacientai gali pradėti kliedėti arba įkristi į komą. Remisijos periodai gali tęstis nuo kelių savaičių iki kelių mėnesių. Sunki anemija dažnai priskiriama prie mirties nuo maliarijos infekcijos priežasčių.

Plasmodium falciparum:

Šis parazitas turi kelis svarbius bruožus. Jie apima gametocito pjautuvo formą, pastarojo mažą augimo greitį ir pigmento aplink branduolius (perimetrinis branduolių išsidėstymas) lokalizaciją, kuri būdinga kitų pirminių maliarijos parazitų gametocitams.

P. falciparum taip pat skiriasi nuo kitų žmogaus rūšių savo didesniu virulentiškumu ir letaliniu poveikiu, nors eritrocitų fazių šizogonija yra didžia dalimi skirta vidinių organų kapiliarams ir sinusoidams. Populiarus šios ligos pavadinimas, sukurtas remiantis *P.falciparum*, yra piktybinė drugio maliarija. Medžiagos ir būdai

Citrato druska:

Natrio chloridas – 9 gm;

Natrio citratas – 20 gm;

Distiliuotas vanduo – 1000 ml.

Giemsa štamai:

Giemsa aksominiai milteliai – 75 gm;

Grynas spiritas – 75 ml;

Glicerolis – 25 ml.

Field'o štamai:

Field'o tirpalas # 1

1. 1,6 g metileno mėlio ištirpinama 1 litre distiliuoto vandens.
2. 2,6 g Na_2HPO_4 (bevandenis) ištirpinama 1 pakopos tirpale.
3. 1 g mėlio ištirpinama 2 pakopos tirpale.
4. 2,6 g KH_2PO_4 ištirpinama 3 pakopos tirpale.
5. Patalpinama su minkšta mėsa maišant ir kratant nuo 45 minučių iki 1 valandos.
6. Laikoma kambario temperatūroje 24 valandas.
7. Filtruojama.

Field'o tirpalas # 2

1. 2 g eozino Y ištirpinama 1 litre distiliuoto vandens.
2. 2,6 g Na_2HPO_4 ištirpinama 1 pakopos tirpale.
3. 2,6 g KH_2PO_4 ištirpinama 3 pakopos tirpale.
4. Filtruojama.

Wright'o štamai:

Wright'o štamo milteliai – 6,0 g;

Giemsa štamo milteliai – 0,6 g;

Metanolis – 1000 ml;

Maišoma per naktį ir prieš naudojant filtruojama.

Kraujo grupės AB+ žmogaus serumas/plazma

Kraujo grupės A+ žmogaus serumas/ plazma.

RPMI – 1640 nepilna terpė

(asmeniškai bendraujant su Dr. Sutar, Haffkie institutas, Parel)

RPMI – 1640 pilna terpė

(asmeniškai bendraujant su Dr. Sutar, Haffkie institutas, Parel)

INFEKUOTO KRAUJO ATRINKIMAS IR IŠTYRIMAS

Užkrėsti eritrocitai buvo gauti, paimant 60 ml kraujo mėginius 1 ml citrato druskos iš venos iš kliniškai diagnozuotų *Plasmodium vivax* ir *Plasmodium falciparum* maliarijos atvejų iš Kasturba infekcinių ligų ligoninės Bombėjuje. Kraujo mėginiai buvo surinkti 10 ml steriliuose indeliuose. Mėginiai buvo tiriami, paruošiant plonus tepinėlius ir nudažant tepinėlius 10% Giemsa štamu/Field'o štamu/Wright'o štamus pp maliarijos parazito identifikavimui ir patvirtinimui. Buvo nustatytas mėginio užkrato procentinis lygis.

Užkrėsto kraujo ląstelės buvo plaunamos du kartus nepilnoje terpėje ir kartą pilnoje terpėje ir buvo paruošta 6 % ląstelių suspensija pilnoje terpėje. Kultūros buvo išdėliotos, paskirstant 0,5 ml suspensijos kiekvienoje petri lėkštelėje. Į šiuos 1,5 ml buvo pridedama pilnos terpės ir lėkštelės buvo inkubuojamos 5% CO₂ ir 14–17% O₂ atmosferoje. Terpės kasdien buvo keičiama, išsiurbiant seną terpę su sterilia pipete ir pridedant 1,5 ml. pilnos terpės. Kultūros buvo laikomos, pridedant naujų ląstelių (iš A+ arba AB+ kraujo grupės; plaunamos ir tokiu pačiu būdu paruošta ląstelių suspensija) po vienos savaitės, plaunant 2 kartus per savaitę, kol kontroliuojamas parazitų indeksas pasiekė $\geq 1\%$. Jeigu pradinis parazitų indeksas buvo didesnis, negu 1%, tada kraujo terpės mišinys (BMM) buvo naudojamas tiesiogiai vaisto jautrumui (Thanh, 2001) ir (Tasanor, 2002).

TEPINĖLIŲ IR DAŽYMO PROCEDŪROS ATLIKIMAS

Kultūros buvo plaunamos du kartus per savaitę. Plovimui kultūros buvo išimamos iš lėkštelių ir perkeltos į centrifugos vamzdelius. Buvo pridėta apie 5 ml nepilnos terpės ir kiekvienas centrifugos vamzdelis buvo kruopščiai sumaišomas. Vamzdeliai buvo centrifuguojami maždaug 1000—1500 rpm maždaug 10 minučių. Po maždaug 10 minučių vamzdeliai buvo pašalinti ir paviršinis skystis buvo nupiltas. Vėliau kultūros buvo dar du kartus plaunamos, viena su nepilna RPMI-1640 ir kita su pilna RPMI-1640 terpe. Po trijų plovimų kultūros buvo perkeltos į atskiras Petri lėkšteles. Iš kiekvienos kultūros buvo paimtas tepinėlis nudažytas Giemsa/Field'o/Wright'o štamu. Buvo pridėta maždaug 1,5 ml terpės į kiekvieną lėkštelę ir tepinėliai buvo tiriami optiniu mikroskopu ir buvo nustatytas parazitų indeksas arba % parazitų kiekvienai kultūrai. Naujų eritrocitų buvo pridėta į kiekvieną lėkštelę kiekvieną savaitę (Pradhan, 1984).

TEPINĖLIO PARUOŠIMAS

Lašas kultūros iš lėkštelės buvo užlašintas ant mikroskopinio stiklelio. Buvo užteptas plonas tepinėlis ir džiovinamas ore. Šis tepinėlis buvo fiksuotas, panardinant stiklelį į sujungiamą stiklinį indą, turintį gryno spirito. Buvo paruošta 10% Giemsa štamo tirpalo ir panaudoto tepinėlių dažymui. Stikleliai buvo laikomi pamerkti 10% Giemsa štamo tirpalo maždaug 30—40 minučių ir po to plaunami vandeniu.

Parazitų indeksas

Parazitų indeksas buvo nustatytas, suskaičiavus parazitų skaičių 100 eritrocitų plonuose kraujo mėginiuose. Šiam tikslui buvo peržiūrėta 100 plotų arba 10000RBCs.

Kultūrų sistemos

Plokštelių kultūros buvo paruoštos su 5% hematokrito ir maždaug 1% parazitų. Kuo žemesnis yra pradinis parazitų lygis, tuo greičiau didėja parazitų skaičius, kuris atsiranda *in-vitro* augimo metu.

VAISTO JAUTRUMAS

LT 5643 B

Vaisto jautrumui nustatyti buvo panaudotos 16 mm plokščiadugnės sterilios mikrovamzdelių plokštelės. Viena buvo skirta vienam mėginiui. Pirmi du vamzdeliai buvo panaudoti kontrolei ir gautas 50 µl pacientų BMM arba kultūra ir 50 µl RPMI pilna terpė be vaisto. Bandymui 50 µl kultūros arba pacientų BMM buvo sumaišyta vamzdelyje, turinčiame įvairių koncentracijų 50 µl paruoštų sidabro nanodalelių (ESNP). Mikrovamzdelių plokštelės buvo uždengtos ir inkubuojamos maždaug 37°C peršviečiamame stiklainyje maždaug 48 valandas. Daugiausiai parazitų įėjo į šizonto stadiją baigiantis inkubacijos 48 valandoms. Po inkubacijos, naudojant mikropipetę, buvo pašalinta paviršinė terpė; kraujas iš kiekvieno vamzdelio buvo paimtas tepinėlių paruošimui ir stebimas šizonto vystimasis. Testas buvo įvertintas, suskaičiuojant parazitų skaičių tepinėlyje nudažytuose prieš inkubavimą ir po inkubavimo lėkštelėse ir ESNP šizonto susidarymo santykinio slopinimu. Įskaitiniame tyrime kontrolinis vamzdelis rodė ≥ šizonto subrendimo. (Wernsdorfer ir Wernsdorfer, 1995)

Rezultatai

Rūšys	Parazitų sumažėjimas %
<i>Plasmodium falciparum</i>	94%
<i>Plasmodium vivax</i>	92%
<i>Plasmodium berghei</i>	90%

In vitro testas, panaudotas kaip antimaliarinio veiksmingumo rodiklis, įtikinamai parodė, kad ESNP—100 ppm gali sumažinti parazitų kiekį *in-vitro*. Tai yra labai svarbu, nes surinkti parazitai buvo pacientų, rodančių mardėjimą su aukštomis temperatūromis ir klasikineis malarijos infekcijos simptomais.

10PPM SIDABRO VEIKSMINGUMO PRIEŠ TUBERKULIOZĖS BAKTERIJĄ ĮRODYMAS

A. Tikslas

Šio bandymo tikslas buvo pademonstruoti šio išradimo sidabro kompozicijų veiksmingumą prieš bakteriją, kuri sukelia tuberkuliozę. Šie pavyzdžiai aprašo šio išradimo veiksmingumo tuberkuliozei įvertinimą. Metodologija yra pagrįsta Tuberkuliocidinio aktyvumo testo būdu, kaip akceptuota EPA 1985 gruodžio 11d. (nuoroda į US Aplinkos apsaugos agentūrą, 1986. Pesticidų ir toksinių medžiagų tarnyba. Visų mikrobinių pesticidų su tuberkuliocidiniais pasireiškimais tuberkuliocidinio veiksmingumo duomenų pranešimas dėl panaudojimo (gautas 1986 birželio 13).

B. Medžiagos ir būdai

Medžiagos. Šio išradimo sidabro kompozicijos sudarytos iš 10 ppm sidabro ir vandens. Sidabro kompozicija buvo įvertinta, panaudojant skystą matricą prieš *Mycobacterium bovis* BCG (TMC 1028). Organizmas iššaukė tuberkuliozę gyvuliams ir galėjo iššaukti tuberkuliozę žmonėms. Tai yra naudojama kaip *M. tuberculosis* „dubleris“, didžiausias žmogaus tuberkuliozės sukėlėjas, ir kaip testai parodė jis turi panašų jautrumą kaip *M. tuberculosis*. Tiriamas organizmas buvo veikiamas sidabro kompozicija dvigubai keturis veikimo laikus ir įvertintas skaičiais, naudojant membranos filtraciją.

Būdas. Buteliukas su sušaldyta žaliavine kultūra buvo paliktas saugojimui ir atšildytas. Buvo pridėtas vienodas buferio-želatinos (BUGE) tūris į ląstelių suspensiją ir homogenizuotas su Teflon® (politetrafluoretileno ženklas) audinio smulkintuvu 1 minutę, tuo tarpu laikant kultūrą 0–4°C ledo vonioje. Homogenizuota ląstelių suspensija buvo praskiesta druskos Tween® 80 (polisorbato ženklas) tirpalu (ST80) maždaug 10^7 cfu/ml.

Bandymo titravimas. Dešimteriopai pakartoti kultūros praskiedimai buvo paruošti praskiedimo induose, turinčiuose 9 ml neutralizatoriaus sultinio (NEUB) per 10^{-6} skiedimo. Trys tinkamų praskiedimų 1 ml mėginiai buvo filtruojami su membrana, pirmiausiai pridėdant 10–20 ml fiziologinio druskos tirpalo (PHSS) į filtro korpusą ir po to pridėdant 1 ml tinkamai praskiesto mėginio. Po to filtras buvo skalaujamas maždaug 100 ml PHSS. Filtrai buvo steriliai pašalinti iš filtro korpuso ir patalpinti ant 7H11 agaro lėkštelių. Lėkštelės buvo inkubuojamos ir drėkinimo kameroje prie $37 \pm 2^\circ\text{C}$ 21 dieną.

LT 5643 B

Pozityvi kontrolė. Buvo paruoštas vamzdelis, turintis 9 ml ST80, ir balansuojamas iki $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Prie laiko 0 buvo pridedama 1 ml testuojamo organizmo kultūros į vamzdelį (1:10 praskiedimas). Mėginys buvo laikomas 60 minučių. Dešimteriopai pakartoti praskiedimai buvo paruošti praskiedimo induose, turinčiuose 9 ml neutralizatoriaus sultinio (NEUB) per 10^{-6} skiedimo. Trys tinkamų praskiedimų 1 ml mėginiai buvo filtruojami su membrana, pirmiausiai pridedant 10—20 ml fiziologinio druskos tirpalo (PHSS) į filtro korpusą ir po to pridedant 1 ml tinkamai praskiesto mėginio. Po to filtras buvo skalaujamas maždaug 100 ml PHSS. Filtrai buvo steriliai pašalinti iš filtro korpuso ir patalpinti ant 7H11 agaro lėkštelių. Lėkštelės buvo inkubuojamos ir drėkinimo kameroje prie $37 \pm 2^\circ\text{C}$ 21 dieną.

Testai. du 25 x 30 mm vamzdeliai, turintys 9 ml testuojamo mėginio, ir balansuojamas iki $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Į kiekvieną vamzdelį, turintį testuojamos dezinfekuojančios medžiagos (t.y. sidabro kompozicija), buvo pridėta 1 ml testuojamo organizmo kultūros. Vamzdelis buvo maišomas sukant ir patalpintas atgal į vandens vonią. Prie 15, 30, 45 ir 60 minučių 1 ml dezinfekuojančios ląstelių suspensijos mėginio buvo perkelta į 9 ml NEUB ir kruopščiai išmaišyta. Dešimteriopai pakartoti praskiedimai buvo paruošti praskiedimo induose, turinčiuose 9 ml neutralizatoriaus sultinio (NEUB) per 10^{-6} skiedimo. Trys tinkamų praskiedimų 1 ml mėginiai buvo filtruojami su membrana, pirmiausiai pridedant 10—20 ml fiziologinio druskos tirpalo (PHSS) į filtro korpusą ir po to pridedant 1 ml tinkamai praskiesto mėginio. Po to filtras buvo skalaujamas maždaug 100 ml PHSS. Filtrai buvo steriliai pašalinti iš filtro korpuso ir patalpinti ant 7H11 agaro lėkštelių. Lėkštelės buvo inkubuojamos ir drėkinimo kameroje prie $37 \pm 2^\circ\text{C}$ 21 dieną.

Fenolio kontrolė. Tam, kad pademonstruoti minimalų kultūros gyvybingumą ir atsparumą, kultūra buvo tiriama prieš 0,8% fenolio tirpalą. 1 ml testuojamo organizmo kultūros mėginio buvo įdėta į 9 ml fenolio tirpalo, subalansuoto iki $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ir inkubuoto 20 minučių. Po poveikio laiko, 1 ml fenolio/organizmo tirpalo buvo nuimta ir pridėta 9 ml NEUB. Dešimteriopai pakartoti praskiedimai buvo paruošti praskiedimo induose, turinčiuose 9 ml neutralizatoriaus sultinio (NEUB) per 10^{-6} skiedimo. Trys tinkamų praskiedimų 1 ml mėginiai buvo filtruojami su membrana, pirmiausiai pridedant 10—20 ml fiziologinio druskos tirpalo (PHSS) į filtro korpusą ir po to pridedant 1 ml tinkamai praskiesto mėginio. Po to filtras buvo skalaujamas maždaug 100 ml PHSS. Filtrai buvo steriliai pašalinti iš filtro korpuso ir

patalpinti ant 7H11 agaro lėkštelių. Lėkštelės buvo inkubuojamos ir drėkinimo kameroje prie $37 \pm 2^\circ\text{C}$ 21 dieną.

Neutralizacijos verifikavimas. 1 ml dezinfekuojančios medžiagos mėginio buvo pridėta į 8 ml NEUB. Dezinfekuojanti medžiaga/neutralizatorius sultinys buvo palikti susibalansuoti iki tos pačios temperatūros, kaip tiriami mėginiai. Viena ir tiriamų organizmų kultūros buvo pridėta į mišinį ir gerai išmaišyta. Inkubavimas buvo tęsiamas atitinkamą laiką, kuris maždaug užimtų mėginio filtravimą. Papildomai 1 ml tiriamo organizmo mėginio buvo pridėta į 9 ml NEUB ir gerai išmaišyta (1:10 praskiedimai). Abiejų vamzdelių dešimteriojai pakartoti praskiedimai buvo paruošti praskiedimo induose, turinčiuose 9 ml neutralizatoriaus sultinio (NEUB) per 10^{-6} skiedimo. Trys tinkamų praskiedimų 1 ml mėginiai buvo filtruojami su membrana, pirmiausiai pridedant 10–20 ml fiziologinio druskos tirpalo (PHSS) į filtro korpusą ir po to pridedant 1 ml tinkamai praskiesto mėginio. Po to filtrai buvo skalaujami maždaug 100 ml PHSS. Filtrai buvo steriliai pašalinti iš filtro korpuso ir patalpinti ant 7H11 agaro lėkštelių. Lėkštelės buvo inkubuojamos ir drėkinimo kameroje prie $37 \pm 2^\circ\text{C}$ 21 dieną.

C. Rezultatai

Pradinis bandomosios kultūros titras buvo $4,7 \times 10^7$ cfu/ml. Pozityvus kontrolės titras buvo $6,5 \times 10^6$ cfu/ml. terpė, naudojama šioje stadijoje, efektyviai parodė neutralizaciją su 92,2% atsistatymu dezinfekuojančioje medžiagoje/neutralizacijos sultinyje, palyginus su terpės ruošiniu.

Tiriamųjų plokštelių laukiami skaičiavimai buvo nepakankamai įvertinti it todėl pateikti skaičiai viršijo „>“, pažymint, kad paskaičiavimas yra apytikris ir kad tikslūs skaičiai yra anapus aptikimo ribos.

Skaičiuojant dezinfekuojančios medžiagos log ir procentines redukcijas prieš *M. bovis*, padaryti skaičiavimai, kurie yra didesni negu skaičiai, gauti mažesni, negu log ir procentinės redukcijos („<“). Šito tikslas yra pademonstruoti, kad įvestų praskiedimų rezultatai yra apytikriai ir anapus tikslios aptikimo ribos. Visos redukcijos buvo apskaičiuotos, naudojant pozityvią kontrolę, kaip pradinį startinį organizmo titrą. Log ir procentinių redukcijų rezultatai yra susumuoti žemiau. Kaip bandymo kultūros atsparumo matas, *M. bovis* atsparumas fenoliui parodė $\approx 1,81$ log redukcijas per 20 minučių, laikant 0,8% fenolio.

LT 5643 B**Pirmoji replikacija:**

Išlaikymo laikas	Log redukcija	Procentinė redukcija
15 minučių	< 0,12	< 12,3%
30 minučių	< 0,22	< 40,0%
45 minučių	< 1,57	< 97,2%
60 minučių	< 1,56	< 97,2%

Antroji replikacija:

Išlaikymo laikas	Log redukcija	Procentinė redukcija
15 minučių	< 0,26	< 44,8%
30 minučių	< 0,20	< 36,9%
45 minučių	< 1,58	< 97,3%
60 minučių	< 1,53	< 97,1%

D. Išvados

Šio išradimo sidabro kompozicijos yra veiksmingos prieš tuberkuliozės bakteriją. Būdas, apimantis šio išradimo sidabro kompozicijų skyrimo pakopą yra veiksmingas prieš tuberkuliozės organizmus.

10 PPM SIDABRO PRIEŠ *CANDIDA ALBINANTS* ATCC #10231, *TRICHONOMAS VAGINALIS* ATTC #20235 IR *MRSA STAPHYLOCCOCUS AUREUS* ATTC #BAA-44 VEIKSMINGUMO ĮRODYMAS

Šio bandymo tikslas buvo iliustruoti šio išradimo sidabro kompozicijos veiksmingumą prieš *Candida albicans* ATCC10231, *Trichomonas vaginalis* ATCC20235 ir vaistui atsparaus *Staphylococcus aureus* ATCC BAA-44 veiksmingumą.

Candida albicans, mielės, ir *Trichomonas vaginalis*, pirmuonys, gali sukelti eilę sveikatos problemų, apimančių vaginos infekcijas, rombinius išbėrimus ir pienligę. Žemiau pateikti rezultatai parodė, kad šio išradimo sidabro kompozicijos pagamina 100% abiejų organizmų užmušimą. Rezultatai parodė šio išradimo sidabro kompozicijų panaudojimą moterų higienos produktuose ir produkte, skirtame gydyti rombinį išbėrimą.

Staphylococcus aureus gali sukelti eilę kraujo apsinuodijimų, kai jis patenka į žaizdą. Jis buvo paprastai pabandytas gydyti penicilinu, bet organizmas paprastai nekito iki to taško, kuriame vyksta atsparumas penicilinui. Sekanti sėkminga antibiotiko apsauga buvo meticilinas, bet meticilinui pasipriešinantis štamai tapo vis daugiau įprasti, ypač ligoninėse. Šie štamai yra žinomi kaip MRSA (meticilinui atsparūs *Staphylococcus aureus*) ir buvo praminti "superinfekcija". Žmonės, kurie kontaktavo su MRSA galėjo mirti kelių dienų bėgyje. Remiantis šio bandymo pateiktais rezultatais, buvo atrasta, kad šio išradimo sidabro kompozicija gali užmušti 91,6% MRSA per kelias minutes ir 99,5% per valandą. Rezultatai parodė šio išradimo sidabro kompozicijos panaudojimą užmušant MRSA, žinomos infekcijos gydymą.

B. Būdai ir rezultatai.

Naudojant apsauginį greitą bandymo tyrimą su šio išradimo kompozicija, apimančia 10 ppm sidabro vandenyje, buvo gauti sekantys rezultatai. Rezultatai parodė, kad šio išradimo sidabro kompozicijos gali būti veiksmingos prieš mielinės infekcijas, pirmuonių infekcijas ir atsparių vaistams bakterijų infekcijas.

Candida albicans ATCC #10231. Pradinė *Candida albicans* mielių koncentracija buvo $6,8 \times 10^5$ cfu/ml. Po 10 minučių, 30 minučių, 1 valandos arba vienos dienos kontakto su sidabro kompozicija, kolonijų nebuvo aptikta.

Trichomonas vaginalis ATCC #30235. Pradinė *Trichomonas vaginalis* pirmuonių koncentracija buvo $6,0 \times 10^4$ cfu/ml. Po 10 minučių, 30 minučių, 1 valandos arba vienos dienos kontakto su sidabro kompozicija buvo 0 neveiknumas 100 organizmų. Tai yra, kad vienas šimtas (100) *Trichomonas vaginalis* parazitų buvo analizuojama mikroskopiškai žiuželio neveiknumui nustatyti. Nei vienas iš vieno šimto (100) parazitų neparodė veiksnio po netgi dešimt (10) minučių, kontakte su sidabro kompozicija, nustačius mirtiną sidabro kompozicijos poveikį į parazitus. Kitos dvidešimt penkių (25) procentų parazitų išorinės membranos nutraukė kontaktą per vieną (1) dieną.

Staphylococcus aureus MRSA ATCC #BAA-44. Pradinė meticilinui atsparios *Staphylococcus aureus* (MRSA) koncentracija buvo $6,0 \times 10^6$ cfu/ml. Po kontakto su sidabro kompozicija, nustatyta 500000 cfu/ml po 10 minučių kontakto (91,6% užmušta), 700000 cfu/ml po 30 minučių kontakto (98,8% užmušta), 30000

LT 5643 B

cfu/ml po 1 valandos kontakto (99,5% užmušta) ir keletas negu 10 cfu/ml po vienos dienos kontakto (virtualiai bendras užmušimas).

**10 PPM SIDABRO, 14 PPM SIDABRO + 1,5% H₂O₂ IR 22 PPM SIDABRO
VEIKSMINGUMO ĮRODYMAS, SLOPINANT DNR POLIMERAZĘ IR GRĮŽTAMĄJĄ
TRANSKRIPTAZĘ ESANT HEPATITUI B**

A. Bandymo tikslas

Šio bandymo tikslas buvo iliustruoti šio išradimo sidabro kompozicijos veiksmingumą prieš hepatitą B. Šis bandymas rodo, kad šio išradimo sidabro kompozicijos turi antivirusinių savybių. Bet kuris panaudotas antivirusinėje terapijoje agentas yra nedaug arba nėra toksiškas, todėl buvo analizuojamas sidabro kompozicijų toksiškumas.

Hepatitą B sukelia DNR virusas iš *hepadnaviridae* virusų šeimos. Hepatito B virusas (HBV) yra 3,2 kb DNR virusas, beveik išimtinai besidauginantis kepenų ląstelėse (hepatocitai). Replikacija apima du pagrindinius fermentus: DNR polimerazę ir grįžtamąją transkriptazę. Šio bandymo rezultatai rodo, kad šio išradimo sidabro kompozicijos sąveikauja su replikacijomis, įskaitant DNR polimerazę arba grįžtamąją transkriptazę. Šio bandymo rezultatai rodo, kad šio išradimo sidabro kompozicijos turi antivirusinių savybių. Šio bandymo rezultatai rodo, kad šio išradimo sidabro kompozicijos gali būti veiksmingos prieš hepatitą B.

Detaliau, kai hepatitas B patenka į naujo šeimininko kūną, jis infekuoja kepenis, jeigu jis praeina imuninę sistemą. Esant infekcijai, virusas prisikabina prie kepenų ląstelių membranos ir viruso pagrindinė dalis įeina į kepenų ląstelę. Tada pagrindinė dalis atpalaiduoja savo DNR kiekius ir DNR polimerazę į kepenų ląstelės branduolį. Kepenų ląstelės viduje virusas dauginasi grįžamosios transkripcijos ir transliacijos būdais, kurie apima grįžamosios transkriptazės ir DNR polimerazės fermentus. DNR polimerazė skatina kepenų ląsteles gaminti DNR hepatito B kopijas. Šios viruso kopijos yra atpalaiduojamos iš kepenų ląstelės membranos į kraujotaką. Iš čia jie gali infekuoti kitas kepenų ląsteles ir tokiu būdu veiksmingai daugintis. Hepatito B viruso inkubacinis periodas yra maždaug 6—25 savaitės (t.y. laikas prieš fizinį arba bendrą histologinių arba fizinių simptomų aptikimo atsiradimą), Tačiau yra keletas biocheminių ir histologinių pakitimų, kurie atsiranda ankstyvoje stadijoje, esant infekcijai su hepatito B virusu.

B. Medžiagos

Buvo panaudoti tirpalai, apimantys 10 ppm, 14 ppm, 22 ppm ir 32 ppm sidabro kompozicijų tirpalai pagal šio išradimo aprašymą. Buvo gauti dATP, dGTP, dCTP ir [³H]-dTTP nukleotidai iš standartinių pramoninių šaltinių, kaip lamivudino (sintetinis antiretroviruso agentas) ir zidovudino (AZT) junginiai. Atskirtas hepatito B virusas buvo naujai gautas iš asmens, turinčio hepatito B infekciją ir buvo paimtas Haffine institute, Mumbal, Indijoje (WHO patvirtinta testavimo laboratorija). Tyrimo ląstelės kultūros (Vero ir Hep2) buvo auginamos kaip susiliejančios monosluksniai tipiniais ląstelių kultūros būdais.

C. Būdai

1) DNR polimerazės slopinimo tyrimo būdas.

Bendras požiūris. Hepatito B virusas, ekstrahuojamas iš žmogaus subjekto, yra inkubuojamas su žymėtais nukleotidais ir aktyviu inhibitoriumi. Procentinis slopinimas yra skaičiuojamas de novo virusinės nukleorūgšties, sintetinės lamivudino atžvilgiu, pagrindu, kaip pozityvi kontrolė, ir fosfato buferio druska, kaip negatyvi kontrolė.

Specifinė procedūra. Atskirtas hepatito B virusas buvo lizuotas į neturintį polimerazės fermento ekstraktą, kuris neturi užteršiančių fermentų. Į reakcijos mišinį, apimantį dATP, dGTP, dCTP ir [³H]-dTTP nukleotidus (25 ml) buvo pridėta viruso ekstrakto (25 ml). Į mišinį, apimantį viruso ekstraktą ir nukleotidus, buvo pridėta aktyvaus inhibitoriaus (3 ml). Gautas mišinys buvo inkubuojamas 37°C 24 valandas.

Buvo atliktas atskiras negatyvios kontrolės eksperimentas, kuriame buvo panaudota fosfato buferio druska (PBS, 3 ml) vietoje inhibitoriaus (3 ml).

Buvo atliktas atskiras pozityvios kontrolės eksperimentas, kuriame buvo panaudotas žinomas DNR polimerazės inhibitorius (3 ml lamivudino 3 mg/ml koncentracijos) vietoje tyrimo inhibitoriaus (3 ml).

Reakcija buvo sustabdyta, pridėjus 25 ml EDTA ir 25 ml TCA (trichloracto rūgšties). Popierius buvo plaunamas tris kartus su TCA ir po to etilo alkoholiu. Filtravimo popierius buvo džiovintas ore ir įdėtas į scintiliatorių su žėrinčiu kokteiliu. Radioaktyvumas buvo išmatuotas skysčio scintiliaciniu skaitikiu (Blue Star). Panaudojus skaičiavimo kontrolę, švari sidabro kompozicija buvo praleista per pilną

LT 5643 B

procedūrą be viruso užkrato, siekiant kontroliuoti potencinę interferenciją scintiliacijos skaitiklio metode.

Nuoroda šiam būdui yra P.S. Venkateswaran, I. Millman ir B.S. Blumberg "Effect of extract from *Phyllanthus niruri* on hepatitis B and woodchuck hepatitis viruses: in vitro and in vivo studies", Proc. Nati. Acad. Sci. USA, 1987, 84, 274—278, kuris čia yra įtrauktas su nuoroda.

2) Grįžtamosios transkriptazės slopinimo bandymo procedūra

Buvo panaudotas *Moloney murine leukemia* viruso grįžtamosios transkriptazės (MoMuLV) pramoninis virusų fermentų preparatas. 50 ml MoMuLV preparato buvo sumaišyta su dATP, dGTP, dCTP ir [³H]-dTTP nukleotidų mišiniu.

Mišinys buvo sumaišytas su 3 ml tiriamo inhibitoriaus ir gautas mišinys buvo inkubuotas 37°C 24 valandas.

Buvo atliktas negatyvios kontrolės eksperimentas, kuriame vietoje inhibitoriaus buvo panaudota fosfato buferio druska (PBS, 3 ml).

Buvo atliktas pozityvios kontrolės eksperimentas, kuriame žinomas atvirkštinės transkriptazės inhibitorius (3 ml AZT 0,625 mg/ml koncentracijos) buvo panaudotas vietoje tiriamo inhibitoriaus.

Reakcija buvo sustabdyta, pridodant 25 ml EDTA ir 25 ml TCA. Tada reakcijos mišinys buvo užteptas ant joninio popieriaus (DEAE popierius). Popierius buvo plaunamas tris kartus su TCA ir po to etilo alkoholiu. Filtravimo popierius buvo džiovintas ore ir įdėtas į scintiliatorių su žėrinčiu kokteiliu. Radioaktyvumas buvo išmatuotas skysčio scintiliaciniu skaitikiu (Blue Star).

3) Toksiškumo tyrimo procedūra

Ląstelės buvo paimtos iš sveikų, susiliejančių Vero ir Hep2 ląstelių kultūrų, kurios buvo laikomos peržiūrint kas 3—4 dienos. Vieną dieną prieš tyrimą ląstelės buvo išimtos iš kultūrų, naudojant standartines technikas ir suspenduotos augimo terpėje ir dispenduotos į mikrotitrų plokštelės vamzdelius ir patalpintos į 5% CO₂ inkubatorių 37±2°C. Kiekvienos tiriamos medžiagos mėginys (100 ml) buvo įvestas į vamzdelį (trigubai) su 100 ml PBS, kaip kontroliniu. Kas 24 valandas vamzdeliai buvo tiriami didelio galingumo invertuotu mikroskopu, siekiant patikrinti citopatinį poveikį (CPE). Visi rezultatai yra pateikti 5 lentelėje.

D. Rezultatai

Atvirkštinės transkriptazės slopinimo tyrimo rezultatai:

5a lentelė

Mėginys	% Slopinimas
negatyvi kontrolė (PBS)	0
pozityvi kontrolė (AZT)	31,33
10 ppm sidabras	89,52
14 ppm sidabras ir 1,5% H ₂ O ₂	86,93
22 ppm sidabras	84,46

DNR polimerazės slopinimo tyrimo rezultatai:

5b lentelė

Mėginys	% Slopinimas
negatyvi kontrolė (PBS)	0
pozityvi kontrolė (lamivudinas)	31,33
10 ppm sidabras	77,73
14 ppm sidabras ir 1,5% H ₂ O ₂	65,6
22 ppm sidabras	60,89

Šio išradimo sidabro kompozicijos yra labai efektyvios, slopinant DNR polimerazę.

Atvirkštinės transkriptazės slopinimo tyrimo rezultatai:

5c lentelė

Mėginys	% Slopinimas
negatyvi kontrolė (PBS)	0
pozityvi kontrolė (AZT)	18,06
10 ppm sidabras	89,52
14 ppm sidabras ir 1,5% H ₂ O ₂	86,93
22 ppm sidabras	84,46

LT 5643 B

Taigi, šio išradimo sidabro kompozicijos slopina atvirkštinę transkriptazę. Buvo tikėtasi, kad šio išradimo sidabro kompozicijos yra veiksmingos prieš žmogaus susirgimus, sukeliamus virusais, tokiais kaip hepatitas B.

Toksiškumo tyrimo rezultatai:

Mėginys	Vero	Hep2
kontrolė (AZT)	CPE nėra	CPE nėra
10 ppm sidabras	CPE nėra	CPE nėra
14 ppm sidabras ir 1,5% H ₂ O ₂	CPE pozityvus	CPE pozityvus
22 ppm sidabras	CPE nėra	CPE nėra

Šie rezultatai rodo, kad iš esmės sidabro kompozicijos nėra toksiškos. Kaip buvo tikėtasi, vandenilio peroksidas, kuris žinomas kaip toksiškas, rodo citotoksinį poveikį. Todėl sidabras turėtų būti nežalingas ląstelėms, kai naudojamas *in vivo*.

12. SIDABRO KOMPOZICIJOS, KAIP VANDENS DEZINFEKUOJANČIOS PRIEMONĖS, VEIKSMINGUMO ĮRODYMAS

a. Tikslas

Testai buvo vykdomi tam, kad pademonstruoti šio išradimo kompozicijos veiksmingumą geriamojo vandens dezinfekavimui.

B. Būdai

Natūralaus upės vandens mėginys buvo papildytas dviem pasėliais *Klebsiella oxytoca*. 100 ml šio papildyto vandens tirpalo mėginio buvo įvesta į 0,05 ppm, 0,1 ppm, 0,2 ppm, 0,5 ppm arba 1,0 ppm išradimo sidabro kompoziciją. Po 5–60 minučių inkubacijos, pavyzdžiai buvo filtruojami membrana. Filtras buvo skalaujamas maždaug 100 ml sterilaus vandens. Filtrai buvo steriliai išimti iš filtro korpuso ir padėti ant koliforminių maistinių agarų lėkštelių. Lėkštelės buvo inkubuotos augimo sąlygomis 24 valandas ir įvertintos.

6 lentelė

Mėginys	Sidabras (ppm)	Kontaktas (min)	Viso koliformas (per ml)	Cfu/100 ml
Gamtinis vanduo	-	-	36	TNTC
1	1.00	5.0	0	0
2	1.00	10.0	0	0
3	1.00	15.0	0	0
4	1.00	30.0	0	0
5	0.50	10.0	0	0
6	0.50	30.0	0	0
7	0.50	60.0	0	0
8	0.20	5.00	0	0
9	0.20	10.0	0	0
10	0.20	30.0	0	0
11	0.20	60.0	0	0
12	0.10	10.0	0	0
13	0.05	20.0	0	0

15 TNTC = per daug skaitlingas
apskaičiavimui.

Sidabro kompozicijos įrodė, kad yra netikėtai veiksmingos. Netgi per trumpą laiką, (20 min.) inkubacijos žemiausioje tyrimo koncentracijoje (0,05 ppm), bakterija buvo užmušta. Prie 0,20 ppm ir daugiau pilnas užmušimas įvyko po 5 minučių. Yra aišku, kad pilnas užmušimas užima mažiau nei 5 minutes.

32 PPM SIDABRO, KAIP PAVIRŠINĖS DEZINFEKUOJANČIOS MEDŽIAGOS VEIKSMINGUMO ĮRODYMAS

Aplinkos apsaugos agentūra (EPA) patvirtino šio išradimo 32 ppm sidabro kompoziciją kaip plataus spektro paviršinę dezinfekuojančią medžiagą, skirtą panaudoti ligoninėse, medicinos apsaugoje, gyvenamuose namuose, komercinėse patalpose ir komercinėse įmonėse. Ji buvo patvirtinta naudoti prieš kai kuriuos iš labiausiai mirtingumą keliančių patogenų, įskaitant: gram-pozityvią bakteriją, tokią kaip *Staphylococcus aureus* (šiuo metu nustatyta kaip mirtiniausia bakterija JAV ligoninėse), gram-negatyvią bakteriją, tokią kaip *Salmonella choleraesuis* (nuodijanti maistą) ir nozokominius arba ligoninėje įgytus patogenus, tokius kaip *Pseudomonas aeruginosa* (dažnai pasitaikanti burnoje ir plūviuose).

LT 5643 B

Šio išradimo sidabro kompozicijos gali būti purškiamos į vidų arba aplink pažeistus plotus, nesukeliant pavojaus žmogaus arba gyvūno sveikatai ir gerai savijautai. Jos gali dezinfekuoti paviršių, parinktą iš grupės, susidedančios iš sienų, stalų, kėdžių, šviesos įrangos, vonių, stiklo, porceliano, metalo, glazūruotos keramikos, emaliuotos arba dažytos purškiant arba valant šio išradimo sidabro kompozicija. Pateiktas dezinfekavimo būdas apima vieną arba kelias paviršiaus valymo pakopas, siekiant dezinfekuoti, taikant šio išradimo kompoziciją, panaudojus puršiklį, šluostę, kempinę arba audinio gabalėlį, ištiesai sudrėkinant plotą, kad dezinfekuoti, leidžiant drėgnam paviršiui pastovėti mažiausiai 10 minučių mažiausiai 20°C temperatūroje (laiko/temperatūros sąveika gali būti reguliuojama Arrhenius lygtimi arba kitomis priemonėmis, žinomomis šioje srityje), ir nušluostant paviršių švari popieriumi arba rankšluosčiu. Paviršių dezinfekavimo kompozicijos apima tas, kurios turi 5—10 ppm sidabro. Šio išradimo paviršių dezinfekavimui pateikta kompozicija apima (32±3) ppm sidabro. Kita šio išradimo paviršių dezinfekavimui pateikta kompozicija apima (22±3) ppm sidabro.

SIDABRO KOMPOZICIJOS, KAIP SUPERDEZINFEKUOJANČIOS MEDŽIAGOS VEIKSMINGUMO ĮRODYMAS

Šio bandymo tikslas yra parodyti šio išradimo sidabro kompozicijos (10 ppm sidabro, 14 ppm sidabro su 1,5 masės % vandenilio peroksido ir 32 ppm sidabro) antimikrobinį aktyvumą prieš tiriamą organizmą. *Yersinia pestis*, buboninio maro etiologinis agentas. Darant standartinį užmušimo per laiką bandymą su *Y. pestis* suspensija, buvo pademonstruotas šio išradimo sidabro kompozicijų veiksmingumas prieš buboninio maro bakteriją.

B. Medžiagos ir būdai

Y. Pestis, D27 štamai, buvo auginami ant Kolumbijos agarų lėkštelėse maždaug 24 valandas 30°C 5% CO₂ inhibitoriuje. Produktas nuo plokštelės buvo nugrindytas į suspensiją, naudojant sterilų 3 ml HPLC vandenį. Suspensija buvo perkelta į 50 ml kūginės centrifugos vamzdelį. Tada plokštelė buvo skalaujama, papildomai naudojant 20 ml HPLC vandens. Šis vanduo buvo supiltas į centrifugos vamzdelį. Vamzdelis buvo centrifuguojamas 3500 x g 5 minutes. Paviršinis skystis

buvo nupiltas ir gumulėlis buvo pakartotinai suspenduotas 1 ml HPLC vandens, siekiant gauti galutinę maždaug 10^{10} ląstelių mililitrui koncentraciją.

Būdas apima sekančias pakopas:

1. 9,9 ml sidabro kompozicijos mėginio buvo patalpinta į sterilų 20 mm x 150 mm vamzdelį. Vamzdelis buvo subalansuotas 20°C vandens vonioje.
2. Į kiekvienas sidabro kompozicijos vamzdelį buvo įvesta 100 ml tiriamojo organizmo suspensijos nuliniam laikui. Vamzdelis tuo pat buvo pasuktas ir grąžintas į vandens vonią.
3. 1 ml organizmo/sidabro kompozicijos mišinio buvo perkelta į 99 ml neutralizatoriaus 250 ml Erlenmeyer kolboje prie 2 min., 3 min., 4 min. ir 5 min. su 10 ppm sidabro arba prie 2 min., 4 min., 6 min., ir 8 min. su 14 ppm sidabro su 1,5 v/v % H_2O_2 . Kolba buvo kruopščiai maišoma.
4. Neutralizuota suspensija tuo pat palaipsniui buvo praskiesta 1:10 fiziologiniame druskos tirpale (PPS).
5. Gyvybingų organizmų eilė atrinktuose praskiedimo vamzdeliuose buvo tirta, naudojant membranos filtraciją. Vienas ml mėginių buvo patalpinta dublikatu. Membranos buvo plaunamos maždaug 150 ml (arba 250 ml, jeigu mėginys buvo paimtas iš neutralizatoriaus kolbos) sterilaus fosfato buferine druska ir perkeltos ant Kolumbijos agaro lėkštelių. Visi likę (98 ml) 4 ir 5 min. neutralizatoriaus kolbų kiekiai taip pat buvo patalpinti ant lėkštelių. Lėkštelės buvo inkubuojamos 30°C 5% CO_2 inhibitoriuje 72 valandas.
6. Kiekvieno filtro kolonų kiekis buvo suskaičiuotas ir buvo įvertinti logaritmų sumažėjimai.

C. Rezultatai

10 ppm sidabro rezultatai pateikti 7 lentelėje.

7 lentelė

<u>Laikas</u>	<u>Log redukcija</u>	<u>Procentinis užmušimas</u>
2 min.	2,63	99,77
4 min.	3,20	99,94
6 min.	3,46	99,97
8 min.	3,68	99,98

LT 5643 B

Šiems duomenims suskaičiuoti pritaikyta regresijos lygtis yra $Y = 2,3965 + 0,1696 x$.
Tai rodo, kad 6-log redukcijų laikas yra 21,2 minutės.

32 ppm sidabro rezultatai pateikti 8 lentelėje.

8 lentelė

<u>Laikas</u>	<u>Log redukcija</u>	<u>Procentinis užmušimas</u>
2 min.	>7,61	99,999998
4 min.	>7,61	99,999998
6 min.	>7,61	99,999998
8 min.	>7,61	99,999998

14 ppm sidabro su 1,5 v/v % H₂O₂ yra pateikti 9 lentelėje.

9 lentelė

<u>Laikas</u>	<u>Log redukcija</u>	<u>Procentinis užmušimas</u>
2 min.	3,27	99,95
3 min.	4,72	99,998
4 min.	5,36	99,9996
5 min.	6,47	99,99997

Šiems duomenims suskaičiuoti pritaikyta regresijos lygtis yra $Y = 1,371 + 1,024 x$.
Tai rodo, kad 6-log redukcijų laikas yra 4,52 minutės.

Šio išradimo sidabro kompozicijos parodė ryškų baktericidinį aktyvumą prieš *Y. pestis*, buboninio maro etiologinį agentą. 32 ppm kompozicijos davė daugiau negu 7 log redukcijas (iš esmės užmušė) mažiau, negu per 2 min. Duomenys parodė, kad 10 ppm sidabras per 20 minučių pasiekia 6 log užmušimą. Sidabras ir vandenilio peroksidas rodo žymų sinergizmą su apskaičiuotais 6 log iki 5 min. Tai yra žymiai geriau, negu 10 ppm sidabras vienas. Buvo pasirinktas 14 ppm sidabro lygis, nes kitų eksperimentų duomenys parodė, kad šis sidabro lygis derinyje su vandenilio peroksidu pasiekia rezultatus, kurie pasiekiami 32 ppm sidabro produktu.

DUOMENŲ SUVESTINĖ

Sekanti A lentelė apima aukščiau gautų rezultatų suvestinę, išreiškus išradimo sidabro kompozicijos poveikiais į plačią žmogaus ligas sukeliančių mikrobu įvairovę, kai kuriais atvejais lentelėje esantys duomenys nėra aprašyti aukščiau. Tačiau, rezultatai buvo gauti, naudojant aukščiau aprašytas procedūras taip, kad kiekvienas iš šios srities specialistų lengvai pakartotų rezultatus. Žmogaus ligos išgydytos ir patogenai, užmušti sidabro kompozicija

Lentelė A

<u>Liga</u>	<u>Patogenas</u>	<u>Veiksminga koncentracija</u>
Furunkulai	<i>Staphylococcus aureus</i>	Užmuštas @ 5 ppm
Osteomelitai	<i>Staphylococcus aureus</i>	Užmuštas @ 5 ppm
bakterinė dizenterija	<i>Shigella boydii</i> ;	Užmuštas @ 2.5 pp
Nudegimo infekcijos	<i>Pseudomonasaeruginosa</i>	Užmuštas @ 5 ppm
Dantų akmenys	<i>Streptococcus mutans</i>	Užmuštas @ 5 ppm
Diareja (kraujo)	<i>Shigella boydii Escherichia</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Diareja	<i>coli Haemophilus</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Ausų infekcija	<i>influenzae streptococcus</i>	Užmuštas @ 1.25 p
Ausų infekcija	<i>pneumonie Salmonella</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Vidurių šiltinė	<i>tyhimurium Haemophilus</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Epiglotitas (vaikų)	<i>influenzae Staphylococcus</i>	Užmuštas @ 1.25 p
Akių infekcijos	<i>aureus Pseudomonas</i>	Užmuštas @ 5 ppm
Ragenos opos-keratitai	<i>aeruginosa Salmonella</i>	Užmuštas @ 5 ppm
Apsinuodijimas maistu	<i>arizona Salmonella</i>	Užmuštas @ 5 ppm
Apsinuodijimas maistu	<i>tyhimurium Escherichia</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Apsinuodijima maistu	<i>oo/i streptococcus 'aeca/is</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Endokarditas	<i>Streptococcus gordonii</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Endokarditas	<i>Haemophilus influenzae</i>	Užmuštas @ 5 ppm
Meningitas	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Užmuštas @ 1.25 p
Meningitas	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Meningitas	<i>streptococcus pneumonie</i>	Užmuštas @ 5 ppm
Meningitas	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Nosokominės infekcijos	<i>Pseudomonasaeruginosa</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Nosokominės infekcijos	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Užmuštas @ 5 ppm
Nosokominės infekcijos (iš ligoninių)		Užmuštas @ 1.25
Pneumonija	<i>Staphylococcus aureus</i>	Užmuštas @ 5 ppm
Pneumonija	<i>Haemophilus influenzae</i>	Užmuštas @ 5 ppm
Pneumonija	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Užmuštas @ 1.25 p

<u>Liga</u>	<u>Patogenas</u>	<u>Veiksminga koncentracija</u>
Pneumonija	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Kvėpavimo takų infekcijos	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Užmuštas @ 1.25 p
Kvėpavimo takų infekcijos	<i>E. coli</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Kvėpavimo takų infekcijos	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Raudoniukė	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Užmuštas @ 1.25 p
Septicemija	<i>Enterobacter aeropyogenes</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Fistulės infekcijos	<i>Haemophilus influenzae</i>	Užmuštas @ 1.25 p
Sinusitas	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Impetigas	<i>Staphylococcus aureus</i>	Užmuštas @ 1.25 p
Odos infekcijos	<i>Staphylococcus aureus</i>	Užmuštas @ 5 ppm
Odos infekcijos	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Užmuštas @ 1.25 p
Streptokokinė angina	<i>Streptococcus pyogenes</i>	Užmuštas @ 1.25 p
Pūlinis artritas	<i>Haemophilus influenzae</i>	Užmuštas @ 1.25 p
Gerklės infekcijos	<i>Haemophilus influenzae</i>	Užmuštas @ 1.25 p
Dantų kariesas	<i>Streptococcus mutans</i>	Užmuštas @ 5 ppm
Uretritas (vyrų)	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Užmuštas @ 10 ppr
Šlapimo trakto infekcijos	<i>E. coli</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Šlapimo trakto infekcijos	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Šlapimo trakto infekcijos	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Užmuštas @ 5ppm
Šlapimo trakto infekcijos	<i>Streptococcus faecalis</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Šlapimo trakto infekcijos	<i>Enterobacter aeropyogenes</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Šlapimo trakto infekcijos	<i>Trichomonas vaginalis</i>	Užmuštas @ 10 ppr
Vaginitas (moterų)	<i>Escherichia coli</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Žaizdų infekcijos	<i>Enterobacter aeropyogenes</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Žaizdų infekcijos	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Žaizdų infekcijos	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Užmuštas @ 5 ppm
Žaizdų infekcijos	<i>Streptococcus faecalis</i>	Užmuštas @ 2.5 pp
Žaizdų infekcijos	<i>Candida albicans</i>	Užmuštas @ 10 ppr

SIDABRO KOLOIDO, PAGAMINTO KAIP HIDROGELIS, VEIKSMINGUMAS

Pažangi žaizdų priežiūra leidžia pripažinti faktą, kad optimalus žaizdos gydymas yra laikyti ją steriliai ir apsaugoti nuo desikacijos ir aplinkos taršalų. Tradiciniai bintai yra veiksmingi, apsaugant nuo aplinkos taršalų, net labai neefektyvūs, apsaugant nuo desikacijos. Bintai gali būti paverčiami antimikrobiniais, pridėdant įvairių dezinfekuojančių medžiagų, bet šios medžiagos dažnai yra šurkščios ir užmuša kūno ląsteles, o taip pat ir mikrobus. Šiuo metu žaizdų priežiūra buvo iš pagrindų pakeista, panaudojant vandenilio medžiagas, kurios gali būti pusiau kietos (amorfine medžiaga) arba kaip minkšta lakšto tipo medžiaga. Vandenilis yra hidrofilinis, todėl užketa kelių žaizdos desikacijai. Lakšto tipo medžiaga yra

veiksminga apsaugant nuo aplinkos teršalų ir dėl hidrofilinio charakterio vandenilis gali faktiškai absorbuoti žaizdos išskiriamą skysčio perteklių.

Vandeniliai yra sudaromi, sujungiant hidrofilinį polimerą su kitais ingredientais vandeniniame tirpale. Polimerai sudaro gelį, po ko seka pH, temperatūros ir kitų sukeltų veiksnių pasikeitimas. gelyje taisyklingos molekulinio tinklo polimeras apsupa vandeninio tirpalo sritis. Nors kompozicija gali būti amorfiškai pusiau kieta arba kieta lakšto tipo medžiaga, didelė tūrio dalis linkusi apimti vandeninį tirpalą, kas yra priešingai hidrofiliniam polimerui. Hidrofiliniai polimerai, kurie yra tinkami hidrogelių gamybai, apima želatiną, karboksimetilceliuliozę (ir kitus celiuliozės darinius), kiti augalų karbohidratų polimerai arba dumblių kilmės, tikie kaip alginatas, karagenas, ksantano guma, akacijos pupelių guma, traganto guma, guaro guma, arabiška guma ir kitos augalų gumos, akrilinius rūgščių kopolimerus (toks, kaip Carbopol) ir šių arba panašių hidrofilinių polimerų derinius.

Vandeninis komponentas geriau turi įvairias priedų medžiagas, kurios sustiprina vandenilio fizines savybes ir/arba pagerina žaizdų gijimą. Šie apima įvairius vitaminus, aminorūgštis ir augimo faktorius, pridedamus pagerinti gijimui ir sumažinti randų formavimąsi, siekiant sumažinti randuotumą. Įprasti anestetikai, tokie kaip novokainas, lidokainas ir jų dariniai taip pat gali būti įtraukti kaip priedai komforto padidimui. Kadangi sterilios žaizdos išlaikymas yra didžiausias tvarstomajai medžiagai iškeltas uždavinys, naudingai yra įtraukti įvairūs antimikrobiniai ir dezinfekuojantys agentai. Šie apima organines rūgštis, tokias kaip citrinų rūgštis, skista acto rūgštis, benzoinė rūgštis, propioninė rūgštis ir pieno rūgštis.

Alkoholiai, tokie kaip izopropanolis arba etanolis, yra tinkami panaudoti kaip organinės dezinfekuojančios medžiagos, įskaitant chlorintus fenolius, tokius kaip "TCP" (2,4,6 teichlorfenolis), biguanidus, chlorheksidiną (kai sumaišytas su cetrimidu), chlorheksidino gliukonata ir chlorheksidino acetata. Gali būti įtrauktos dezinfekuojančios paviršinio aktyvumo medžiagos, įskaitant amfoterines paviršinio aktyvumo medžiagas ir aldehidus, tokius kaip formaldehidas ir gliutaraldehidas. Halogeno dezinfekuojančios medžiagos apima jodą, jodoforus ir polividono jodą, yra veiksmingi kaip peroksida ir kiti oksigenatoriai, tokie kaip vandenilio peroksidas. Kiti gydomieji ingredientai apima aliuminio cinko sutraukiamuosius agentus, furano darinius ir chinolino darinius, tokius kaip klikvinolis. Tiek kiek šie visi antimikrobiniai

LT 5643 B

agentai gali būti gydomieji, visi jie turi polinkį pažeisti audinį ir/arba gali lengvai išvystyti mikrobo atsparumą jiems.

Kaip plačiai aprašyta aukščiau, išradimo sidabro koloidas yra labai antimikrobiškai veiksmingas, yra labai švelnus žmogaus audiniui ir yra veiksmingas prieš mikrobo atsparumą. Abu amorfiniai geliai ir vandenilio plėvelė kartu yra palankūs koloidinio sidabro veiksmingų lygių įnešimui į drėgną gydomąją aplinką. Iš vienos pusės amorfinis hidrogelis lėtai atpalaiduoja koloidinį sidabrą, kadangi jis lėtai suminkštėja audinio eksudate ir palaipsniui pradeda tirpti. Iš kitos pusės, amorfinis hidrogelis atiduoda drėgmę į audinį ir tuo pačiu metu padaro sidabro koloidą tinkamą uždėti į vietą. Be to, mažas koloidinio sidabro kiekis, esantis tvarstomojoje medžiagoje, turi pranašumą prieš molekulinį sidabrą, kurio laipsninė redukcija per ištęstą laiką atpalaiduoja sidabro jonus, kurie pasižymi puikiu oligodinaminiu aktyvumu.

Po pradinio bandymo buvo parinktas karbopolis, kaip veiksmingas hidrogelio sudarymo agentas, skirtas panaudoti su koloidiniu sidabru. Buvo pagaminta bazinė kompozicija, kuri iš esmės apėmė sekančius ingredientus, kaip pateikta 9a lentelėje.

9a lentelė

Ingredientas	Funkcija	Tiekėjas
Koloidinis sidabro tirpalas (22 ppm arba 32 ppm)	Aktyvus, antimikrobinis ir atskiedžiantis	American Biotech Labs
Karbopolis EDT2020	Reologinis modifikatorius	Neveon
Trietanolaminas	Neutralizatorius, skvarbos agentas	E. Merck
Propilenglikolis	Drėkiklis	E. Merck

Visų žaliavinių medžiagų pirmiausiai buvo tirta:

1. Antibakterinis aktyvumas

2. Fizinės ir cheminės savybės:

1. Išvaizda
2. Kvapas
3. pH
4. Juslumas
5. tankis
6. Putodaros savybė
7. Tekėjimo galimybė

Koloidinis sidabro tirpalas (22 ppm arba 32 ppm):

Šioje kompozicijoje sidabro tirpalas yra naudojamas kaip aktyvus komponentas (antimikrobinis agentas) Jis yra vienintelis skiediklis šioje specifinėje kompozicijoje.

A. Antibakterinis aktyvumas:

Kultūra	Slopinimo zonos diametras	
	22 ppm	32 ppm
MRSA	17 mm	18 mm
E. coli	14 mm	NA
Ps. aeruginosa	21 mm	22 mm

B. Fizinės ir cheminės savybės:

- | | |
|----------------------|-----------------------------|
| 1. Išvaizda | bespalvis skaidrus tirpalas |
| 2. Kvapas | bekvapis |
| 3. pH | 5,0 |
| 4. Juslumas | nenustatyta |
| 5. Tankis | 1,0 |
| 6. Putodaros savybė | nenustatyta |
| 7. Tekėjimo galimybė | nenustatyta |

Karbopolis

Karbopolis yra chemiškai žinomas kaip karboksipolimetilenas arba karboksivinilo polimeras. Jis yra akrilo rūgšties kopolimeras ir yra

LT 5643 B

smarkiai joninis (t.y. hidrofilinis) ir lengvai rūgštinis junginys. Karbopolio polimerai turi būti neutralizuojami, siekiant maksimalaus klampumo. Jie yra naudojami farmacijos, kosmetikos ir tekstilės srityse kaip tirštinimo, suspendavimo, dispergavimo ir emulsinimo agentai. Šioje kompozicijoje karbopolis yra naudojamas kaip gelinimo arba tirštinimo agentas.

A. Antibakterinis aktyvumas nenustatyta

B. Fizinės ir cheminės savybės:

- | | |
|----------------------|-------------------------|
| 1. Išvaizda | sausai, balti milteliai |
| 2. Kvapas | bekvapis |
| 3. pH | nenustatyta |
| 4. Juslumas | nenustatyta |
| 5. Tankis | nenustatyta |
| 6. Putodaros savybė | nenustatyta |
| 7. Tekėjimo galimybė | nenustatyta |

Trietanolaminas (TEA) $C_6H_{15}NO_3$ (mol m: 149,19)

Šioje kompozicijoje trietanolaminas, kaip alkilinio agentas, neutralizuoja karbopolį, siekiant pakelti klampumą. Jis taip pat didina aktyvaus agento skvarbos jėgą.

A. Antibakterinis aktyvumas nenustatyta

B. Fizinės ir cheminės savybės:

- | | |
|----------------------|---------------------------|
| 1. Išvaizda | bespalvis klampus skystis |
| 2. Kvapas | lengvas amoniako |
| 3. pH | nenustatyta |
| 4. Juslumas | nenustatyta |
| 5. Tankis | 1,1242 g/cc |
| 6. Putodaros savybė | nenustatyta |
| 7. Tekėjimo galimybė | nenustatyta |

Propilenglikolis $C_3H_8O_2$ (mol m: 76,09)

Propilenglikolis chemiškai žinomas kaip 1:2 propandiolis. Jis yra naudojamas kaip drėkiklis ir joslumo modifikatorius šioje kompozicijoje.

A. Antibakterinis aktyvumas nenustatyta

C. Fizinės ir cheminės savybės:

- | | |
|----------------------|---------------------------|
| 1. Išvaizda | bespalvis klampus skystis |
| 2. Kvapas | bekvapis |
| 3. pH | nenustatyta |
| 4. Juslumas | nenustatyta |
| 5. Tankis | 1,036 g/cc |
| 6. Putodaros savybė | nenustatyta |
| 7. Tekėjimo galimybė | nenustatyta |

Kai buvo nustatyta standartinė formulė, buvo pagaminta partijų kiekis tam, kad ištirti galimus kompozicijų svyravimus. Nuo 19 bandymo įvykdymo, buvo pasiekti sekantys pastebėjimai.

1. Didinant pH didėja gelio klampumas.
2. Didinant karbopolio kiekį didėja gelio klampumas.
3. Kuo didesnis karbopolio procentas, tuo didesnis lipnumas.
4. Iš aukščiau aprašytų eksperimentų galima daryti išvadą, kad prekinė sėkmė gali būti pasiekta tarp panaudoto karbopolio ir TEA kiekio ir gauto galutinio pH, kuris neturėtų būti didesnis už 8,5. Taigi, kompozicija Nr. 18 buvo laikoma kaip standartas ir partija padalinta iki 10 kg.

PRODUKTO VYSTIMOSI STADIJŲ ĮVADAS

Karbopolio pagrindo gelių kompozicijos buvo standartizuotos su pH, joslumo, lipnumo ir konsistencijos atžvilgiu. Turint tai omeny, buvo paimtos įvairios laboratorinės partijos, naudojant vandenį kaip vandeninę fazę, siekiant gauti tinkamos kokybės ir joslumo produktą, prieš išrenkant pagrindinę partiją.

Partija Nr. SG/001 Kompozicija:

A dalis: distiliuotas vanduo 83,50 g

Karbopolis 00,62 g

NaOH 18% 00,60 g

B dalis: distiliuotas vanduo 1,00 g

LT 5643 B

propilenglikolis	5,00 g
NaOH 18%	1,50 g

Procedūra: Pasvertas A dalyje nurodytas distiliuoto vandens kiekis ir laikomas vandens vonioje 70°C. Į distiliuotą vandenį pridedama karbopolio, pastoviai maišant, kad išvengti gumulų. Į jį pridedama NaOH 18% prie 70°C po 20 minučių. Pasveriami visi ingredientai iš B dalies ir laikomi vandens vonioje 70°C 15-20 min. B dalis maišoma su A dalimi 10-15 min. Atvėsinama iki kambario temperatūros ir tiriama.

Rezultatai: 1. pH 10,8

2. Tekėjimo galimybė 90°C => >5 min.

3. Lipnumas labai lipnus

Partija Nr. SG/002 Kompozicija:

A dalis: distiliuotas vanduo 83,50 g

Karbopolis 00,62 g

TEA 01,20 g

B dalis: distiliuotas vanduo 1,00 g

propilenglikolis 5,0 g

TEA 1,50 gm

Procedūra: Pasvertas A dalyje nurodytas distiliuoto vandens kiekis ir laikomas vandens vonioje 70°C. Į distiliuotą vandenį pridedama karbopolio, pastoviai maišant, kad išvengti gumulų. Į jį pridedama TEA prie 70°C po 20 minučių. Pasveriami visi ingredientai iš B dalies ir laikomi vandens vonioje 70°C 15-20 min. B dalis maišoma su A dalimi 10-15 min. Atvėsinama iki kambario temperatūros ir tiriama.

Rezultatai: 1. pH 7,9 (SOP-08)

2. Tekėjimo galimybė 90°C => >5 min.

3. Lipnumas labai lipnus

Partija Nr. SG/003 Kompozicija:

A dalis: distiliuotas vanduo 86,00 g

Karbopolis 00,62 g

LT 5643 B

TEA	01,20 g
-----	---------

B dalis: distiliuotas vanduo 2,00 g

propilenglikolis	5,0 g
------------------	-------

TEA	1,50 g
-----	--------

Procedūra: Pasvertas A dalyje nurodytas distiliuoto vandens kiekis ir laikomas vandens vonioje 70°C. Į distiliuotą vandenį pridedama karbopolio, pastoviai maišant, kad išvengti gumulų. Į jį pridedama TEA prie 70°C po 20 minučių. Pasveriami visi ingredientai iš B dalies ir laikomi vandens vonioje 70°C 15-20 min. B dalis maišoma su A dalimi 10-15 min. Atvėsinama iki kambario temperatūros ir tiriama.

Rezultatai: 1. pH 8,62

2. Tekėjimo galimybė 90°C => >5 min.

3. Lipnumas labai lipnus

Partija Nr. SG/004 Kompozicija:

A dalis: distiliuotas vanduo 86,00 g

Karbopolis	00,62 g
------------	---------

TEA	01,00 g
-----	---------

B dalis: distiliuotas vanduo 2,00 g

propilenglikolis	5,0 g
------------------	-------

TEA	1,50 g
-----	--------

Procedūra: Pasvertas A dalyje nurodytas distiliuoto vandens kiekis ir laikomas vandens vonioje 70°C. Į distiliuotą vandenį pridedama karbopolio, pastoviai maišant, kad išvengti gumulų. Į jį pridedama TEA prie 70°C po 20 minučių. Pasveriami visi ingredientai iš B dalies ir laikomi vandens vonioje 70°C 15-20 min. B dalis maišoma su A dalimi 10-15 min. Atvėsinama iki kambario temperatūros ir tiriama.

Rezultatai: 1. pH 8,5

2. Tekėjimo galimybė 90°C => >5 min.

45°C => >5 min.

3. Lipnumas labai lipnus

LT 5643 B

Partija Nr. SG/005 Kompozicija:

A dalis: distiliuotas vanduo 86,00 g

Karbopolis 00,62 g

TEA 1,20 g

B dalis: distiliuotas vanduo 2,00 g

propilenglikolis 7,0 g

TEA 1,50 g

Procedūra: Pasvertas A dalyje nurodytas distiliuoto vandens kiekis ir laikomas vandens vonioje 70°C. Į distiliuotą vandenį pridedama karbopolio, pastoviai maišant, kad išvengti gumulų. Į jį pridedama TEA prie 70°C po 20 minučių. Pasveriami visi ingredientai iš B dalies ir laikomi vandens vonioje 70°C 15-20 min. B dalis maišoma su A dalimi 10-15 min. Atvėsinama iki kambario temperatūros ir tiriama.

Rezultatai: 1. pH 8,7

2. Tekėjimo galimybė 90°C => >5 min.

45°C => >5 min.

3. Lipnumas labai lipnus

Partija Nr. SG/006 Kompozicija:

A dalis: distiliuotas vanduo 85,00 g

Karbopolis 00,62 g

TEA 01,00 g

B dalis: distiliuotas vanduo 1,00 g

propilenglikolis 5,0 g

TEA 1,40 g

Procedūra: Pasvertas A dalyje nurodytas distiliuoto vandens kiekis ir laikomas vandens vonioje 70°C. Į distiliuotą vandenį pridedama karbopolio, pastoviai maišant, kad išvengti gumulų. Į jį pridedama TEA prie 70°C po 20 minučių. Pasveriami visi ingredientai iš B dalies ir laikomi vandens vonioje 70°C 15-20 min. B dalis maišoma su A dalimi 10-15 min. Atvėsinama iki kambario temperatūros ir tiriama.

Rezultatai: 1. pH 8,4

LT 5643 B

2. Tekėjimo galimybė 90°C => >5 min.
 45°C => >5 min

3. Lipnumas labai lipnus

Partija Nr. SG/007 Kompozicija:

A dalis: distiliuotas vanduo 172 g

Karbopolis 1,24 g

TEA 2,40 g

B dalis: distiliuotas vanduo 6,00 g

propilenglikolis 10,0 g

TEA 2,80 g

Procedūra: Pasvertas A dalyje nurodytas distiliuoto vandens kiekis ir laikomas vandens vonioje 70°C. Į distiliuotą vandenį pridedama karbopolio, pastoviai maišant, kad išvengti gumulų. Į jį pridedama TEA prie 70°C po 20 minučių. Pasveriami visi ingredientai iš B dalies ir laikomi vandens vonioje 70°C 15-20 min. B dalis maišoma su A dalimi 10-15 min. Atvėsinama iki kambario temperatūros ir tiriama.

Rezultatai: 1. pH 8,28

2. Tekėjimo galimybė 90°C => >5 min.
 45°C => >5 min

3. Lipnumas labai lipnus

Partija Nr. SG/008 Kompozicija:

A dalis: sidabro tirpalas (32 ppm) 86,00 g

Karbopolis 0,62 g

TEA 1,20 g

B dalis: sidabro tirpalas (32 ppm) 2,00 g

propilenglikolis 5,0 g

TEA 1,50 g

Procedūra: Pasvertas A dalyje nurodytas sidabro tirpalo kiekis ir laikomas vandens vonioje 70°C. Į sidabro tirpalą pridedama karbopolio, pastoviai maišant, kad išvengti gumulų. Į jį pridedama TEA prie 70°C po 20 minučių.

LT 5643 B

Pasveriami visi ingredientai iš B dalies ir laikomi vandens vonioje 70°C 15-20 min. B dalis maišoma su A dalimi 10-15 min. Atvėsinama iki kambario temperatūros ir tiriama.

Rezultatai: 1. pH 8,65

2. Tekėjimo galimybė 90°C => >5 min.

45°C => >5 min

3. Lipnumas labai lipnus

Partija Nr. SG/009 Kompozicija:

A dalis: sidabro tirpalas (32 ppm) 172 g

Distiliuotas vanduo 12 g

Karbopolis 1,24 g

TEA 2,40 g

B dalis: sidabro tirpalas (32 ppm) 6,00 g

propilenglikolis 10,0 g

TEA 2,80 g

Procedūra: Pasvertas A dalyje nurodytas sidabro tirpalo kiekis ir laikomas vandens vonioje 70°C. Į sidabro tirpalą pridedama karbopolio, pastoviai maišant, kad išvengti gumulų. Į jį pridedama TEA prie 70°C po 20 minučių. Pasveriami visi ingredientai iš B dalies ir laikomi vandens vonioje 70°C 15-20 min. B dalis maišoma su A dalimi 10-15 min. Atvėsinama iki kambario temperatūros ir tiriama.

Rezultatai: 1. pH 8,54

2. Tekėjimo galimybė 90°C => >5 min.

45°C => >5 min

3. Lipnumas labai lipnus

Partija Nr. SG/010 Kompozicija:

A dalis: sidabro tirpalas (32 ppm) 172 g

Distiliuotas vanduo 24 g

Karbopolis 1,39 g

TEA 2,40 g

B dalis: sidabro tirpalas (32 ppm) 6,00 g

LT 5643 B

propilenglikolis	5,0 g
TEA	2,80 g

Procedūra: Pasvertas A dalyje nurodytas sidabro tirpalo kiekis ir laikomas vandens vonioje 70°C. Į sidabro tirpalą pridedama karbopolio, pastoviai maišant, kad išvengti gumulų. Į jį pridedama TEA prie 70°C po 20 minučių. Pasveriami visi ingredientai iš B dalies ir laikomi vandens vonioje 70°C 15-20 min. B dalis maišoma su A dalimi 10-15 min. Atvėsinama iki kambario temperatūros ir tiriama.

Rezultatai: 1. pH 8,43

2. Tekėjimo galimybė 90°C => >5 min.

45°C => >5 min

3. Lipnumas lipnus

Partija Nr. SG/011 Kompozicija:

A dalis: Distiliuotas vanduo 98 g

Karbopolis 0,76 g

TEA 0,56 g

B dalis: distiliuotas vanduo 3,0 g

propilenglikolis 5,0 g

TEA 1,40 g

Procedūra: Pasvertas A dalyje nurodytas distiliuoto vandens kiekis ir laikomas vandens vonioje 70°C. Į distiliuotą vandenį pridedama karbopolio, pastoviai maišant, kad išvengti gumulų. Į jį pridedama TEA prie 70°C po 20 minučių. Pasveriami visi ingredientai iš B dalies ir laikomi vandens vonioje 70°C 15-20 min. B dalis maišoma su A dalimi 10-15 min. Atvėsinama iki kambario temperatūros ir tiriama.

Rezultatai: 1. pH 8,05

2. Tekėjimo galimybė 90°C => >5 min.

45°C => >5 min

3. Lipnumas labai lipnus

Partija Nr. SG/012 Kompozicija:

LT 5643 B

A dalis: Distiliuotas vanduo 98 g

Karbopolis 0,76 g

TEA 0,34 g

B dalis: distiliuotas vanduo 3,0 g

propilenglikolis 5,00 g

TEA 0,64 g

Procedūra: Pasvertas A dalyje nurodytas distiliuoto vandens kiekis ir laikomas vandens vonioje 70°C. Į distiliuotą vandenį pridedama karbopolio, pastoviai maišant, kad išvengti gumulų. Į jį pridedama TEA prie 70°C po 20 minučių. Pasveriami visi ingredientai iš B dalies ir laikomi vandens vonioje 70°C 15-20 min. B dalis maišoma su A dalimi 10-15 min. Atvėsinama iki kambario temperatūros ir tiriama.

Rezultatai: 1. pH 6,35

2. Tekėjimo galimybė 90°C => >5 min.

45°C => >5 min

3. Lipnumas labai lipnus

Partija Nr. SG/013 Kompozicija:

A dalis: sidabro tirpalas (32 ppm) 86 g

Distiliuotas vanduo 12 g

Karbopolis 0,76 g

TEA 0,32 g

B dalis: sidabro tirpalas (32 ppm) 3,00 g

propilenglikolis 5,0 g

TEA 0,64 g

Procedūra: Pasvertas A dalyje nurodytas sidabro tirpalo ir distiliuoto vandens kiekis ir laikomas vandens vonioje 70°C. Į tirpalą pridedama karbopolio, pastoviai maišant, kad išvengti gumulų. Į jį pridedama TEA prie 70°C po 20 minučių. Pasveriami visi ingredientai iš B dalies ir laikomi vandens vonioje 70°C 15-20 min. B dalis maišoma su A dalimi 10-15 min. Atvėsinama iki kambario temperatūros ir tiriama.

Rezultatai: 1. pH 6,7

2. Tekėjimo galimybė 90°C => >5 min.
 45°C => >5 min
3. Lipnumas labai lipnus

Partija Nr. SG/014 Kompozicija:

A dalis: sidabro tirpalas (32 ppm) 86 g

Distiliuotas vanduo	12 g
Karbopolis	0,78 g
TEA	0,32 g

B dalis: sidabro tirpalas (32 ppm) 3,00 g

propilenglikolis	5,0 g
TEA	0,64 g

Procedūra: Pasvertas A dalyje nurodytas sidabro tirpalo ir distiliuoto vandens kiekis ir laikomas vandens vonioje 70°C. Į tirpalą pridedama karbopolio, pastoviai maišant, kad išvengti gumulų. Į jį pridedama TEA prie 70°C po 20 minučių. Pasveriami visi ingredientai iš B dalies ir laikomi vandens vonioje 70°C 15-20 min. B dalis maišoma su A dalimi 10-15 min. Atvėsinama iki kambario temperatūros ir tiriama.

Rezultatai: 1. pH 6,6

2. Tekėjimo galimybė 90°C => >5 min.
 45°C => >5 min
3. Lipnumas labai lipnus

Partija Nr. SG/015 Kompozicija:

A dalis: sidabro tirpalas (32 ppm) 86 g

Distiliuotas vanduo	12 g
Karbopolis	0,68 g
TEA	0,40 g

B dalis: sidabro tirpalas (32 ppm) 5,00 g

propilenglikolis	7,0 g
TEA	0,6 g

LT 5643 B

Procedūra: Pasvertas A dalyje nurodytas sidabro tirpalo ir distiliuoto vandens kiekis ir laikomas vandens vonioje 70°C. Į tirpalą pridedama karbopolio, pastoviai maišant, kad išvengti gumulų. Į jį pridedama TEA prie 70°C po 20 minučių. Pasveriami visi ingredientai iš B dalies ir laikomi vandens vonioje 70°C 15-20 min. B dalis maišoma su A dalimi 10-15 min. Atvėsinama iki kambario temperatūros ir tiriama.

Rezultatai: 1. pH 6,72

2. Tekėjimo galimybė 90°C => >5 min.

45°C => >5 min

3. Lipnumas lipnus

Partija Nr. SG/016 Kompozicija:

A dalis: sidabro tirpalas (32 ppm) 86 g

Distiliuotas vanduo 12 g

Karbopolis 0,64 g

TEA 0,40 g

B dalis: sidabro tirpalas (32 ppm) 5,00 g

propilenglikolis 7,0 g

TEA 0,6 g

Procedūra: Pasvertas A dalyje nurodytas sidabro tirpalo ir distiliuoto vandens kiekis ir laikomas vandens vonioje 70°C. Į tirpalą pridedama karbopolio, pastoviai maišant, kad išvengti gumulų. Į jį pridedama TEA prie 70°C po 20 minučių. Pasveriami visi ingredientai iš B dalies ir laikomi vandens vonioje 70°C 15-20 min. B dalis maišoma su A dalimi 10-15 min. Atvėsinama iki kambario temperatūros ir tiriama.

Rezultatai: 1. pH 6,87

2. Tekėjimo galimybė 90°C => >5 min.

45°C => >5 min

3. Lipnumas lipnus

Partija Nr. SG/017 Kompozicija:

A dalis: sidabro tirpalas (32 ppm) 86 g

Distiliuotas vanduo 12 g

LT 5643 B

Karbopolis	0,62 g
TEA	0,40 g
B dalis: sidabro tirpalas (32 ppm)	5,00 g
propilenglikolis	7,0 g
TEA	0,6 g

Procedūra: Pasvertas A dalyje nurodytas sidabro tirpalo ir distiliuoto vandens kiekis ir laikomas vandens vonioje 70°C. Į tirpalą pridedama karbopolio, pastoviai maišant, kad išvengti gumulų. Į jį pridedama TEA prie 70°C po 20 minučių. Pasveriami visi ingredientai iš B dalies ir laikomi vandens vonioje 70°C 15-20 min. B dalis maišoma su A dalimi 10-15 min. Atvėsinama iki kambario temperatūros ir tiriama.

Rezultatai: 1. pH 7,05

2. Tekėjimo galimybė 90°C => >5 min.

45°C => >5 min

3. Lipnumas lipnus

Partija Nr. SG/018 Kompozicija:

A dalis: sidabro tirpalas (32 ppm)	86 g
Distiliuotas vanduo	12 g
Karbopolis	0,58 g
TEA	0,40 g
B dalis: sidabro tirpalas (32 ppm)	5,00 g
propilenglikolis	7,0 g
TEA	0,6 g

Procedūra: Pasvertas A dalyje nurodytas sidabro tirpalo ir distiliuoto vandens kiekis ir laikomas vandens vonioje 70°C. Į tirpalą pridedama karbopolio, pastoviai maišant, kad išvengti gumulų. Į jį pridedama TEA prie 70°C po 20 minučių. Pasveriami visi ingredientai iš B dalies ir laikomi vandens vonioje 70°C 15-20 min. B dalis maišoma su A dalimi 10-15 min. Atvėsinama iki kambario temperatūros ir tiriama.

Rezultatai: 1. pH 7,40

2. Tekėjimo galimybė 90°C => >5 min.

LT 5643 B

45°C => >5 min

3. Lipnumas vienodai tirštas

Partija Nr. SG/019 Kompozicija:

A dalis: sidabro tirpalas (32 ppm) 86 g

Distiliuotas vanduo 12 g

Karbopolis 0,54 g

TEA 0,40 g

B dalis: sidabro tirpalas (32 ppm) 5,00 g

propilenglikolis 7,0 g

TEA 0,6 g

Procedūra: Pasvertas A dalyje nurodytas sidabro tirpalo ir distiliuoto vandens kiekis ir laikomas vandens vonioje 70°C. Į tirpalą pridedama karbopolio, pastoviai maišant, kad išvengti gumulų. Į jį pridedama TEA prie 70°C po 20 minučių. Pasveriami visi ingredientai iš B dalies ir laikomi vandens vonioje 70°C 15-20 min. B dalis maišoma su A dalimi 10-15 min. Atvėsinama iki kambario temperatūros ir tiriama.

Rezultatai: 1. pH 7,65

2. Tekėjimo galimybė 90°C => >5 min.

45°C => >5 min

3. Lipnumas vienodai tirštas

Pastaba: Nors gelio jausmas pagerėjo, konsistenciškai jis nepamatuojamas.

Remiantis aukščiau pateiktais rezultatais, buvo sukurtos sekančios instrukcijos vienam kilogramui partijos.

A dalis Sidabro tirpalas 860 g

Distiliuotas vanduo 100 g

Karbopolis 5,80 g

TEA 4,00 g

B dalis ASAP tirpalas 50,0 g

Propilenglikolis 70,0 g

TEA 6,00 g

Našumas 1,0 kg pritaikant drėgmės praradimą

LT 5643 B

Procedūra: Į švarų sterilizuotą indą paimamas reikalingas distiliuoto vandens ir sidabro tirpalo kiekis. Pastoviai maišant pasiekama tirpalo 70°C. Mažais kiekiais pradedamas pridėti karbopolis, tęsiant maišymą/homogenizaciją. Po visko karbopolis dedamas 30 minučių. (laikas pritaikomas prie partijos dydžio), Po to į A tirpalą pridedama TEA.

Į atskirą indą sumaišomi visi ingredientai iš B dalies. Temperatūra pakeliama iki 70°C ir lėtai B dalis sudedama į A dalį. Pasibaigus homogenizacijai, atvėsinama iki kambario temperatūros.

Atsargumo priemonės: Karbopolio dispersija turi būti pagaminta, naudojant gerus homogenizatorius. Naudojant naują karbopolio dalį, paimama maža bandymo partija. Minimalus kaitinimo laikas tuo ilgesnis, kuo ilgiau kaitinami pavyzdžiai iki didesnio vandens praradimo.

Rezultatai: 1. pH 7,4

2. Tekėjimo galimybė >5 min.

3. Lipnumas vienodai tirštas.

Ši kompozicija buvo lengvai padalinta iki 10 kg. bandomosios porcijos. Susveriant neiškilo jokių problemų. Yra rekomenduojamas išvėdinimas vakuume, siekiant apsaugoti nuo oro įsimaišymo ir garantuoti vienodą užsipildimą.

Ši kompozicija pasižymi sekančiomis fizinėmis ir cheminėmis savybėmis, pateiktomis 10 lentelėje.

10 lentelė

	Bandymas	Sąlygos	Rezultatai
1.	Išvaizda	Auksiniai geltonas peršviečiamas gelis	Pakenčiama
2.	Kvapas	Bekvapis	Bekvapis
3.	Specifinė sunkio jėga	1,02	1.02
4.	Tekėjimo galimybė	45° ir 90° – daugiau, negu 5 min. prateka 205 cm (1 colis) nuo pradžios	45° ir 90° – daugiau, negu 5 min. prateka 2,5 cm (1 colis) nuo pradžios
5.	Putodaros galimybė	< 10 ml	< 10 ml

LT 5643 B

6.	Juslumas/lipnumas	1-vienodai tirštas	1-vienodai tirštas
7.	Klumpumas RT 30 ⁰ 370	32000 ± 5000 30000 + 5000	34000 33500
8.	pH	6,5—8,0	7,4
9.	Užšalimas ir atitirpimas	Praeina SOP 1–10	Lyginamas su pradiniu
10.	Optimalus bangos ilgis (X maks)	22 ppm – 400 +/- 20 nm 32 ppm – 450 +/- 20 nm.	400 nm.** 450 nm.**
11.	Lengvas išlaikymas	Be papildomos dislokacijos	Pakenčiamas
12.	Suderinamumas	Produktui l sąveikaujant su talpykla, spalva nedingo	Remtis 3 lentelę
13.	Drėgmės išėikvojimas	-	10,27 %
14.	Drėgmės paėmimas	-	80 %

Mikrobiologinis įvertinimas

Yra priežasčių manyti, kad sidabro koloidinis gelis turi mikrobiologinių savybių panašių originaliam sidabro koloidui kuris buvo intensyviai tiriamas aukščiau. Tačiau, hidrofilinio polimero pridėjimas gelio pasigaminimui, gali tiesiogiai kirstis su sidabro mikrobiologinėmis savybėmis arba gali slopinti sidabro difuziją taip, kad veiksmingumas krenta. Todėl mikrobiologiniai testai, panašūs tiems, kurie buvo vykdomi su sidabro koloido tirpalu, taip pat buvo atlikti su sidabro koloido hidrogeliu.

Pradžioje hidrogelis buvo tiriamas, siekiant nustatyti ar kompozicija pati sterilizuojasi. Protokolas buvo sekantis:

Buvo paruoštos kolbos su 100 ml sterilios skystos tioglikoliato terpės (anaerobinė bakterija), sterilia sojos pupelių kazeino pasisavinimo terpė (anaerobinė bakterija) ir bulvių dekstrozės sultinys (fungi). Mėginiai su maždaug 100 mg gelio buvo tiriami, aseptiškai perkelti į kolbų vidų. Vienas ruošinys buvo inkubuojamas 37°C ir kitas inkubuojamas kambario temperatūroje vieną savaitę. Po to kolbos buvo patikrintos ir nerodė jokio drumstumo arba mikrobu augimo. Kadangi gelio mėginiai nebuvo gaminami steriliomis sąlygomis, galima daryti išvadą, kad kompozicija pati yra sterilizuojanti. 100 mg gelio naudojama kiekvienam tyrimui. Tai atitinka 2,2 µg 100 ml terpėje arba 0,02214 arba 0,032 µg sidabro ml terpės. Šios koncentracijos

sidabras neturi antimikrobinio aktyvumo ir todėl neteisingi negatyvūs rezultatai gali būti eliminuoti.

Po to buvo panaudota daugybė tiriamųjų organizmų, slopinimo zonos, gautos su arba 22 arba 32 ppm sidabro tirpalu, arba 22 arba 32 sidabro geliu, pagamintu pagal aprašymą aukščiau, kaip pateikta 11 lentelėje, palyginimui. Kiekvieno mikroorganizmo (maždaug 108cfu/ml) 0,1 ml mėginiai arba 18 val. augintos kultūros buvo užpurkštos ant sterilių maistinio agaro plokštelių. Kiekvienoje inokuliuotoje plokštelėje buvo išspausta 10 mm diametro skylė su kamščiatriaukiu. Produkto mėginio kiekis (0.2–0,3 g) patalpintas į kiekvieną skylę ir plokštelė buvo inkubuojama 24 valandas. Po to plokštelės buvo tikrinamos ir buvo išmatuotos sekančios inhibicijos zonos (kiekvienos zonos bendras diametras).

11 lentelė

Kultūra	Sidabro tirpalas		Sidabro gelis	
	22 ppm	32 ppm	22 ppm	32 ppm
<i>E. coli</i>	14mm	14mm	12mm	13mm
<i>Ps. Aeruginosa</i>	21 mm	22mm	21 mm	20mm
<i>B. subtilis</i>	15mm	16mm	14mm	14mm
MRSA 1	17mm	18mm	16mm	17mm
MRSA2	16mm	17mm	16mm	17mm
<i>S. aureus</i> ATCC 6638 P	14mm	14.5 mm	15mm	15mm
<i>S.pyogenes</i>	16mm	18mm	16mm	18mm
<i>S.typhi</i>	17mm	16mm	16mm	16mm
<i>Sh.flexneri</i>	20mm	21 mm	20mm	21 mm
<i>K. pneumoniae</i>	17mm	18mm	18mm	18mm
<i>C. diphtheriae</i>	16mm	18mm	16mm	17mm
<i>C. albicans</i>	39mm	40mm	39mm	40mm

Šie rezultatai rodo, kad gelio slopinimo efektai yra iš esmės ekvivalentiški tiems, kuriuos turi sidabro koloido tirpalas. tai rodo, kad gelinimo polimerai neturi negatyvaus poveikio sidabro koloido antimikrobinėms galioms. Kai kurios kultūros (*S. piogenes*, *C. diphtheriae* ir *S. aureus*) taip pat buvo kultivuotos ant kraujo agaro. Rezultatai patvirtino, kad sidabro gelis taip pat gali būti veiksmingas kraujuojančiai, šlapiuojančiai žaizdai.

Panašūs bandymai buvo vykdomi su tais pačiais bakterijų štamais, naudojant daugybę antibiotinių agentų. kai kuriais atvejais antibiotikai buvo daugiau veiksmingi,

LT 5643 B

negu sidabro junginiai, kitais jie buvo mažiau veiksmingi. Tai rodo, kad panaudoti štamai nebuvo susilpninti arba atstumti štamai (žiūr. 12a ir 12b lenteles).

Gram-pozityvi bakterija (12a lentelė)

Antibiotikas	Conc.	<i>S. aureus</i>	<i>MRSA1</i>	<i>MRSA2</i>	<i>B. subtilis</i>
Ampicilinas	200 mcg	Skaidrus	15mm	18mm	16mm
Cefotaksimas	30 mcg	26mm	Inhibicijos nėra	Skaidrus	12mm
Cefaleksinas	30 mcg	Skaidrus	1.0mm	0.8mm	Skaidrus
Ciprofloksaciną	5mcg	28mm	14mm	14mm	20mm
Kloksacilinas	1mcg	Skaidrus	Skaidrus	13mm	18mm
Co-Trimoksazolis	25 mcg	Skaidrus	Inhibicijos nėra	Inhibicijos nėra	15mm
Gentamicinas	10 mcg	1 Skaidrus	Inhibicijos nėra	11 mm	18mm
Linkomicinas	2mcg	1 Skaidrus	Skaidrus	Skaidrus	18mm
Ofloksaciną	5mcg	Skaidrus	15mm	16mm	22mm
Peflofloksaciną	10 mcg	30mm	11 mm	13mm	21 mm
Roksitromicinas	15 mcg	Skaidrus	1.0mm	12mm	20mm
Tetracikliną	30 mcg	34mm	Inhibicijos nėra	0.7mm	19mm

Gram-pozityvi bakterija (12b lentelė)

Abtbiotikai	Conc.	<i>E.coli</i>	<i>K. pneu-</i> <i>moniae</i>	<i>S.typhi</i>	<i>Ps.</i> <i>aeruginosa</i>
Amikacinas	30 mcg	Skaidrus	18mm	Skaidrus	10mm
Ampicilinas	200 mcg	23mm	18mm	20mm	13mm
Cefotaksimas	30 mcg	21 mm	20mm	22mm	19mm
Ceftizoksimas	30 mcg	18mm	18mm	15mm	Inhibicijos nėra
Chloramfenikolis	30 mcg	22mm	21 mm	23mm	Inhibicijos nėra

Ciprofloksacinas	5mcg	29mm	22mm	25mm	15mm
Co-Trimoksazolis	25 mcg	24mm	19mm	27mm	Skaidrus
Gentamicinas	10 mcg	Skaidrus	17mm	Skaidrus	Inhibicijos nėra
Ofloksacinas	5mcg	Skaidrus	29mm	Skaidrus	15mm
Pefloksacinas	10 mcg	Skaidrus	25mm	Skaidrus	10mm
Piperacilinas	100 mcg	22mm	15mm	16mm	10mm
Tetraciklinas	30mcg	19mm	18mm	16mm	Inhibicijos nėra

Rankų valymo testas

Kadangi hidrogelis turi galimybę padidinti sidabro sukibimą su odos paviršiumi, buvo įvertintas gelio, kaip rankų valiklio, veiksmingumas. Šiam tyrimui buvo pažymėta 2,5 cm savanorių rankų plotas ir po to išvalytas maždaug 1 g gelio. Kontrolinis plotas buvo valomas steriliu distiliuotu vandeniu. Iš plotų buvo paimti tepinėliai ir tepinėlis užteptas juostelėmis ant maistinio agarų. Tepinėlių paėmimas buvo kartojamas kas keturias valandas. Užteptos vietos buvo inkubuokamos 24 val. 37°C ir įvertinami rezultatai.

Kaip parodyta sekančioje 13 lentelėje, kontroliniai tepinėliai užaugino tiek daug bakterijų, kad buvo per didelis kiekis suskaičiuoti (TNTC). Šie plotai apdorojami sidabro geliu, išliekančiu iš esmės steriliu tris valandas ir rodantis lengvą augimą prie keturių valandų. Tai galėtų duoti aukštesnius rezultatus sveikatos apsaugos specialistams, kuriems reikalinga sterilizuoti jų rankų paviršių, nenaudojant grubių arba irigacinių junginių.

13 Lentelė

laikas	Kontrolė	22 ppm	32 ppm
0 val.	TNTC	Augimo nėra	Augimo nėra
1 val.	TNTC	Augimo nėra	Augimo nėra
2 val.	TNTC	Augimo nėra	Augimo nėra
3 val.	TNTC	Augimo nėra	Augimo nėra
4 val.	TNTC	3 Cfū	2 Cfū

LT 5643 B

Nors geliai rodo išskirtines žaizdų gydymo savybes, tipinio hidrogelio trūkumas yra tas, kad mikroorganizmai dažnai gali migruoti matricoje. Todėl, jeigu žaizda yra padengiama hidrogeliu ir vienas iš plotų tampa infekuotas, infekciniai organizmai turi galimybę judėti per hidrogelį ir infekuoti kitas sritis. Galimybė buvo patikrinta, naudojant hidrogelio juostelę tam, kad atskirti atskiras maistinio agarą plokštelės sritis. Kiekviena agarą plokštelė buvo padalinta į dvi sritis, uždedant 2 cm agarą juostelę išilgai plokštelės diametro. Intervalas buvo nustatytas 1,5 cm pločio hidrogelio juostele, kuri iš dalies uždengė kiekvieną agarą galą maždaug 5 mm. Viena plokštelės dalis tada buvo inokuluota maždaug 0,5 ml kultūros ir plokštelė buvo inkubuota tam, kad pamatyti ar mikroorganizmai gali praeiti hidrogelio „tiltą“. 14 lentelėje pateikti rezultatai rodo, kad sidabro hidrogelis pilnai sustabdo migraciją.

14 lentelė

Kultūra	Inkubacijos sritis	Migracijos sritis
<i>E. coli</i>	Sunkiai auga	Neauga
<i>B. subtilis</i>	Sunkiai auga	Neauga
<i>MRSA 1</i>	Sunkiai auga	Neauga
<i>Ps. Aeruginosa</i>	Sunkiai auga	Neauga
Kontrolinis hidrogelis	Sunkiai auga	Auga

Iš aukščiau pateiktų rezultatų buvo atrinktas prototipiškas gelio mišinys ir variantai yra pateikti sekančiuose pavyzdžiuose.

Pavyzdys A

1 kg gelio partijos paimti A dalies ir B dalies komponentai, kaip nurodyta žemiau:

A dalis	Išradimo sidabro koloidas 32 ppm	860 g
	Distiliuotas vanduo	100 g
	Karbopolis	6,8 g
	Trietanolaminas	4,0 g
B dalis	Išradimo sidabro koloidas 32 ppm	50 g
	Propilenglikolis	70 g
	trietanolaminas	6,0 g

LT 5643 B

Į maišytuvą pirmiausiai sudedamas reikalingas distiliuoto vandens ir sidabro tirpalo kiekis ir pradeda maišyti. Lėtai sudedamas į karbopolį (Noveon, USA). Maišymas turi būti pakankamai energingas, kad disperguoti karbopolį ir sulaikyti nuo gumulėlių susidarymo. Maišymo metu palaikoma 60—70°C temperatūra.

Menzūroje sumaišomi visi A ir B ingredientai. kaitinama iki 70°C ir energingai maišant sudedama į A dalį. Tęsimas maišymas ir vėsinama iki kambario temperatūros. Patikrinama partijos išeiga. Ji turi būti maždaug 1000 g. Trietanolaminas padeda karbopolui įeiti į gelį.

Pavyzdys B:

Paruošiami visi ingredientai kaip A pavyzdyje, įskaitant 1% kolageno pridėjimą. Tai padaro gelį tiek antimikrobinį, tiek naudingą kolagenui, kuris daro palaikantį poveikį yra žaizdų gijimo pagreitinimui.

Pavyzdys C:

Paruošiami visi ingredientai kaip A pavyzdyje, bet įskaitant 1—5% alavijo (milteliai arba tirpalas) pridėjimą. Tai suteikia papildomas žaizdų gijimo pagreitinimo savybes.

Pavyzdys D:

Paruošiami visi ingredientai kaip A pavyzdyje, pridedant 1—10% maltodekstrino. Tai suformuoja gelio kompoziciją, kuri skatina žaizdos granuliaciją.

Sidabro hidrogelio rezultatų susumavimas

Buvo įmanoma pagaminti karbopolio pagrindo gelius, naudojant išradimo sidabro koloidinius tirpalus 22 ppm ir 32 ppm. Taip paruošti geliai turi daug pranašumų, atsižvelgiant į visas tirpalo dalis, remiantis jų galimybėmis išlikti vietoje, tuo pačiu išlaikant pirminio sidabro tirpalo savybes. Vaistų amorfinio hidrogelio kilmė duoda teigiamą naudą drėgnų žaizdų gijimo pagreitinimui ir taip pat ribojant nudegintų žaizdų gijimo sunkumą, ribojant terminį šoką. Be to, aktyvus ingredientas, koloidinis sidabro tirpalas buvo tiriamas ląstelių linija pradinėje stadijoje ir surasta, kad jis netoksiškas.

Išsamus gelio fizikinis cheminis įvertinimas buvo padarytas su išdėstytų būdų įvairiomis partijomis ir aprašytų būdų serijų dalys buvo paruoštos, siekiant standartizuoti ir kontroliuoti produktą ir procesus gamybos metu.

Mikrobiologiniai tyrimai buvo vykdomi iš esmės ir rodo, kad gelis išlaiko savo baktericidinę kilmę. Buvo imituoti sidabro migravimo tyrimai ir įtikinamai parodė, kad gelis gali pateikti sidabrą per laiko tarpą į žaizdą. Kompozicijos sudarymas taip pat neleidžia vykti mikrobu migracijai iš išorės į vidų ir *vice versa*.

Šie tyrimai rodo, kad hipotetinis sidabro gelio įvertinimas remiasi publikacija (Journal of Wound care Vol 12, No 8 SEPT 2003), kur alternatyvūs sidabro pagrindo tvarstomoji medžiaga buvo įvertinta žemiau pateiktais bruožais:

1. Inhibicijos antimikrobinė sritis;

2. Mikrobu išbandymo testas;

Mikrobinės transmisijos testas; ir

Tvarstomosios medžiagos sidabro kiekis.

Pirmajame teste sidabro hidrogelis būtų patalpintas B grupėje ir visuose likusiuose testuose sidabro hidrogelis būtų įvestas į A grupę, duodant jai viso 25 taškus, lygiaverčiai su Calgitrol Ag ir Acticot, kurių prekybiniai produktai pažymėti aukščiausiu įvertinimu.

Koloidinio sidabro tirpalo antibakterinės ir antivirusinės savybės suteikė kelis reikšmingus sidabro hidrogelio panaudojimus, išskyrus žaizdų tvarsliajai. kaip aprašyta aukščiau, hidrogelis yra idealus bakterinis rankų valiklis. Be to, nedirginantis sidabro koloido ir hidrogelio bruožas padarė derinį idealiu asmeninio naudojimo lubrikantu vyrų ir moterų seksualiniame gyvenime, naudojant su arba be prezervatyvų arba diafragmų, kur derinys sulaiko bakterijas, grybelis (pažymėtas veiksmingumas į *Candida albicans*) ir pavojingus virusus, tokius kaip ŽIV, ir dezinfekuoja pakartotinio naudojimo pertvaras, tokias kaip diafragmos. Kadangi hidrogelis turi truputi kokio nors aliejaus, jis nepažeidžia prezervatyvų arba diafragmų, kaip tai daro kiti asmeninio naudojimo lubrikantai.

HIDROGELIO RANKŲ VALIKLIS (Pastaba: hidrogelis ir SILGEL yra tie patys išradimo produktai ir čia yra naudojami pakaitomis)

Švarios rankos buvo laikomas kaip atskiras svarbiausias faktorius, užkertant kelią pavojingų mikrobu ir antibiotikų atsparumo plitimui sveikatos

priežiūros srityse. Atitinkamai, buvo nuspręsta patikrinti hidrogelio, žinomo kaip SILGEL, veiksmingumą, kaip rankų higienos produkto, remiantis MMWR, Spalio 25, 2002/VOL 51 Nr. RR-16 nurodymais.

Buvo panaudota sekanti standartinė veikimo procedūra:

Reikalingos medžiagos (SOP):

Standartinė *Serratia marcescens* suspensija (10^8 cfu), vanduo iš čiaupo, sterilios guminės pirštinė, sterilus mėginio tirpalas, sterilus trigubas sojos agaras, sterilios pipetės, sterilūs testavimo vamzdeliai.

Būdas:

1. 5 ml *Serratia marcescens* suspensijos buvo uždėta ant rankų ir ištepta ant rankų paviršiaus.
2. Ant rankų ir 1/3 rankų priekio užpurškiama 3 ml testuojamos medžiagos.
3. Ant rankų užpilama 2 ml vandens iš čiaupo ir pamuilinama (žiūr. 1 fig.).
4. Rankos ir jų galiukai skalaujami vandeniu iš čiaupo 30 sekundžių prie RT.
5. Pakartojama 2 pakopos-4 pakopos procedūros.
6. Po 1, 3, 7 ir 10 plovimų, testui naudojamos sterilios guminės pirštinės yra užmaunamos ant dešinės ir kairės rankų.
7. 75 ml sterilaus mėginio tirpalo yra įpilama į pirštines.
8. Visas rankų paviršius yra vieną minutę masažuojamas.
9. Mėginiai yra gaunami aseptiškai kiekybinei analizei, naudojant pritaikomą skaičiavimo būdą, naudojant sterilų trigubą sojos agarą.
10. Yra panaudota plokštelių apipurškimo technika, naudojant pradinį, 10^{-1} , 10^{-2} ir 10^{-3} , kaip praskiedimus.

Plokštelės yra inkubuojamos 37°C 24 valandas.

MEDŽIAGOS IR BŪDAI

Buvo naudojamos procedūros su aukščiau paminėtu SOP.

Naudota terpė: sterilus trigubas sojos agaras.

Naudotos kultūros: 16 val. senumo *Serratia marcescens* kultūra (tankis maždaug 10^8 CFU/ml)

Inkubacijos temperatūra: 37°C

Inkubacijos laikas: 24 val.

Įvertinti produktai: Silgel 22 ir 32 ppm, spitaderminis, švarus skystis, sterilus

Kairė ranka

Rezultatai yra pateikti 15a—15e, 16a—16e lentelėse

15a lentelė Spitaderm (II priedas)

Plovimų sk. Praskiedimas	CFU/ml			
	Originalus	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1 plovimas	10	nulis	nulis	nulis
3 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
5 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
10 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis

15b lentelė Silgelis 32 ppm

Plovimų sk. Praskiedimas	CFU/ml			
	Originalus	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
3 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
7 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
10 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis

15c lentelė Silgelis 32 ppm

Plovimų sk. Praskiedimas	CFU/ml			
	Originalus	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
3 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
7 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
10 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis

15d lentelė Sterilus (II priedas)

Plovimų sk. Praskiedimas	CFU/ml			
	Originalus	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1 plovimas	30	30	nulis	nulis
3 plovimas	nulis	10	nulis	nulis
7 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
10 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis

15e lentelė Skystas valiklis (II priedas)

Plovimų sk. Praskiedimas	CFU/ml			
	Originalus	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
3 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
7 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
10 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis

Dešinė ranka**16a lentelė** Spitaderm (II priedas)

Plovimų sk. Praskiedimas	CFU/ml			
	Originalus	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
3 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
5 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
10 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis

16b lentelė Silgelis 32 ppm

Plovimų sk. Praskiedimas	CFU/ml			
	Originalus	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
3 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
7 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
10 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis

16c lentelė Silgelis 32 ppm

Plovimų sk. Praskiedimas	CFU/ml			
	Originalus	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
3 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
7 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
10 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis

16d lentelė Sterilus (II priedas)

Plovimų sk. Praskiedimas	CFU/ml			
	Originalus	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
3 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
7 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
10 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis

16e lentelė Skystas valiklis (II priedas)

Plovimų sk. Praskiedimas	CFU/ml			
	Originalus	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
1 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
3 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
7 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis
10 plovimas	nulis	nulis	nulis	nulis

Išvada: Silgel 22 ppm ir Silgel 22 ppm atitiko TMF (bandomojo tyrimo monografas) veiksmingumo, kaip higienos produkto, kuris apibrėžia veiksmingumą kaip 2-log_{10} nustatomojo organizmo kiekvienos rankos po 1-ojo panaudojimo redukciją, ir 3-log_{10} nustatomojo organizmo kiekvienos rankos po 5 minučių 10-ojo panaudojimo redukciją, kriterijų. Be to, SILGEL buvo daugiau efektyvesnis kaip rankų ploviklis, palyginus su Sterillium ir Spitader. Galiausiai SILGEL, įtrinamas kaip rankų valiklis, yra gerai toleruojamas, nes jis pašalina praustuvo poreikį ir nedžiovina naudotojo rankų arba neerzina, bet turi polinkį drėkinti apdorojamą paviršių.

HIDROGELIS KAIP ŽAIZDŲ TVARSLIAVOS MEDŽIAGA

Išvada

Hidrogelio tvarstomosios medžiagos gali būti naudojamos kaip pirminės tvarstomosios medžiagos (amorfines ir impregnuotos marlės) arba kaip pirminės arba antrinės tvarstomosios medžiagos (drobės), siekiant pilnai arba dalinai reguliuoti žaizdų išsausėjimą, gilią žaizdą (amorfines ir impregnuotas marlės), žaizdą su nekrozėmis arba beviltišką, smulkius nudegimus ir radiacinius odos pažeidimus.

Šiandien prekyboje beveik visi hidrogeliai savo sudėtyje neturi antimikrobinio agento. Tai yra todėl, kad antibiotikai ir antiseptikai potencialiai yra citotoksiniai ir dažnai sulaiko odos užsitraukimą.

Kadangi išradimo sidabro/vandens tirpalas nėra citotoksinis, buvo nuspręsta pagaminti hidrogelį, naudojant išradimo suaktyvintas sidabro daleles.

Pastaruoju metu specialiai paruoštas hidrogelis buvo įvestas susidorojimui su radiacijos sukeltais dermatitais. Šios tvarstomosios medžiagos turi aukštą specifinę šilumą, kad suteikti vėsinimo efektą ir mažiausiai tris kartus absorbuoti vandenį, serumą ir kraują.

Pranašumai

- Yra raminančios ir sumažina skausmą;
- Rehidratuoja žaizdos pagrindą;
- Patobulina autolitinį negyvybingų audinių pašalinimą.
- Užpildo žaizdos tūrį (amorfines ir impregnuotas marlės);
- Pateikia minimalią saikingą absorbciją;

- Lengvai taikoma iš pašalinama nuo žaizdos;
- Gali būti naudojamos, kai infekcija įsibėgėja;
- Įgalina apžiūrėti žaizdos plotą;

Trūkumai

- Nėra dažnai rekomenduojamos sunkaus eksudato žaizdoms;
- Kartais reikia papildomo pertvarstymo;
- Jeigu neapdegtos, lengvai dehidratuoja;
- Kartais sunkiai stebimos;
- Kartais gali sukelti išmirkimą;

Procedūra

Šio išradimo hidrogelis buvo paruoštas tvarščio formos kaip numatoma žaizdų tvarstomoji medžiaga. Hidrogelio tvarščio forma gali būti kintama, priklausomai nuo SILDERM.

Rezultatai

SILDERM – praranda drėgmę

Tikslas

- Apibrėžti SILDERM drėgmės praradimo galimybę.

Procedūra:

Reikalinga įranga:

- Analitinis balansas

Reikalingos medžiagos:

- Plastikinis padėklas

Būdas:

- Nustatoma tuščio padėklo masė;
- SILDERM tvarstis padedamas ant padėklo;
- Nustatomas padėklo + SILDERM tvarščio masė.
- Užrašas yra skaitomas, kaip $t = 0$ val.
- Įrašas daromas kas 1 val.
- Įrašas daromas per naktį;
- Tada nubrėžiama laiko su drėgmės praradimu diagrama;
- Nustatomas procentinis drėgmės praradimas.

Rezultatai: žiūrėti 17 lentelę žemiau ir 34 figūrą.

17 lentelė: SILDERM drėgmės praradimo galimybė

Laikas (val.)	Masė
0	68 g
1	64 g
2	60 g
3	56 g
4	51 g
5	48 g
22	40 g

Išvada: Peršasi viena išvada, kad SILDERM tvarstis gali prarasti 30% drėgmės masės.

SILDERM – DRĖGMĖS SUGĖRIMAS

Tikslas

- Apibrėžti SILDERM drėgmės sugėrimo galimybę.

Procedūra:

Reikalinga įranga:

- Analitinis balansas

Reikalingos medžiagos:

- Menzūra

Būdas:

- Nustatoma SILDERM tvarščio masė gramais;
- Užrašas yra skaitomas, kaip $t = 0$ val.
- Menzūra užpildoma vandeniu;
- SILDERM tvarstis patalpinamas į menzurą, pilnai jį įmerkiant;
- Valandos intervalais tvarstis išimamas nusivarvėjimui ir nustatoma jo masė;
- Įrašas daromas per naktį;
- Tada nubrėžiama laiko su drėgmės praradimu diagrama;

- Nustatomas procentinis drėgmės praradimas.

Rezultatai: žiūrėti 18 lentelę žemiau ir 35 figūrą.

18 lentelė

Laikas (val.)	Masė
0	45 g
1	48 g
2	51 g
3	53 g
4	54 g
5	56 g
6	57 g
22	68 g

Išvada: dehidratuotas SILDERM tvarstis gali absorbuoti 52% savo masės drėgmės.

SILDERM – SIDABRO ATPALIDAVIMAS

Tikslas

- Apibrėžti ilgalaikį sidabro nanodalelių atpalaidavimą iš SILDERM.

Procedūra:

- Hidrogelio tvarstomieji bintai yra normaliai uždedami ant žaizdos 48–72 val. Šioje situacijoje gali būti pageidaujama nustatyti antimikrobinį tvarstomosios medžiagos aktyvumą per laiko periodą, atsižvelgiant į sidabro atpalaidavimą.

Reikalinga įranga:

- Inkubatorius, natūrali danga.

Reikalingos medžiagos:

- Sterilios maistinio agarų plokštelės, sterilūs medvilnės tamponai, mikropipetė (tūris 100 µl–1000 µl) 16 val. gyvavimo *Pseudomonas aeruginosa* (laukinio tipo) kultūra.

Būdas:

- SILDERM sukarpomos 4 cm x 3 cm gabalėliais;

LT 5643 B

- SILDERM patalpinamas ant maistinio agaro plokštelės, su *Ps. Aeruginosa* (laukinio tipo) tepinėliu;
 - Inkubuojama 37°C maždaug 18 val.
 - Inhibicijos sritis patikrinama vertikaliai ir horizontaliai;
 - Tada tas pats SILDERM gabalėlis patalpinamas ant maistinio agaro plokštelės, su nauju *Ps. Aeruginosa* (laukinio tipo) tepinėliu;
 - Inkubuojamas kaip aukščiau.
- Ši procedūra minimaliai pakartojama 7 dienas.

Rezultatai: Įrašo metu SILDERM parodė inhibitorinį aktyvumą 3 perkėlimams, kaip pateikta 17 lentelėje žemiau.

19 lentelė: SILDERM išbandymo testas

Perkėlimo Nr.	Vertikali inhibicija	Horizontali inhibicija
1 perkėlimas	52 mm	35 mm
2 perkėlimas	53 mm	35 mm
3 perkėlimas	51 mm	34 mm

Išvada: SILDERM hidrogelis gali veikti atpalaiduotą antimikrobinį aktyvumą per 3 šviežio inokulianto bandymus kas 24 val. absorbuoti 52% savo masės drėgmės. Tolesnis testavimas daro pažangą.

Aukščiau aptartiems įgyvendinimams vidutinė kompozicija yra sekanti:

Maistinis agaras:

Peptonas -10,0 g

Natrio chloridas - 5,0 g

Mėsos ekstraktas – 3,0 g

Distiliuotas vanduo – 900 ml

Agaras – 2,5 g

PH – 7,2 ± 0,2

Toliau yra įmanoma sustiprinti SILDERM kompozicijas su sekančiomis:

Kolagenas

Kolagenas, gausiausias kūno proteinas, yra pluoštinis ir netirpus ir yra gaunamas iš fibroplastų. Jo pluoštai randami jungiančiuose audiniuose, įskaitant

oda, kaulus, raiščius ir kremzles. Gydant žaizdas, kolagenas paskatina naujai susiformavusių kolageno pluoštų ir granuliacinių audinių žaizdoje pašalinimą ir gijimo eigą. Jis taip pat stimuliuoja naujo audinio formavimąsi ir žaizdos negyvybingų audinių pašalinimą, sukurdamas aplinką, skatinančią gijimą.

Maltodekstinės

Maltodekstinės yra žaizdos gijimo promotorius, kuris skatina gijimą makrofagų aktyvavimu ir pritraukimu, tokiu būdu sumažindamas infekciją ir didindamas granuliaciją.

Trombocitų gauti augimo faktoriai (PDGF)

PDGF skatina chemoterapinį atsistatymą ir ląstelių, kurios dalyvauja žaizdos gijime, proliferaciją ir pagreitina granuliacinio audinio susiformavimą. Pagrindė jį yra naudojamas žemesnio laipsnio diabetinių neuropatinių opų gydymui.

Dinatrio EDTA kaip priedas

Dinatrio EDTA žinomas kaip didinantis įvairių junginių, tiek natūralių, tiek sintetinių, antibakterinį poveikį mechanizmu, kuris, buvo manoma, duoda bakterinių ląstelių skvarbos pro sienelę, rezultata, tokiu būdu pagerinant bakterinių junginių įvedimą.

Metallų chelatorius ir bakterijų išorinės membranos skvarbos skatintojas, etilendiamonio tetraacto rūgštis (EDTA), parodė įvairių antimikrobinių agentų padidintus aktyvumus prieš *Pseudomonas aeruginosa*. Pridėjimas subinhibicinės EDTA koncentracijos žymiai sumažino cefprozilo MICus prieš *E. coli* ir *Serratia marcescens*.

Buvo nustatyta, kad imipenemas, ceftazidinas ir cefepimas su 150 mcg EDTA gali padidinti *P. aeruginosa* minėtą inhibicijos zonos diametrą. Tyrimas nustatė, kad etilendiamintetraacto rūgštis (EDTA) veikia *P. aeruginosa* jautrias vietas. Kai EDTA naudojamas junginyje su AgNO₃, žymiai padidina pastarojo antibakterinį poveikį taip, kad *Klebsiella pneumoniae* ir *Staphylococcus aureus* štamai priešinasi 70 mikrogramams/ml Ag NO₃, kur buvo pastebėtas jautrumas 10 mikrogramų/ml šio junginio.

LT 5643 B

Specifinė kompozicija ir testų bandymai buvo skirti apibrėžti šio išradimo sidabro/vandens kompozicijų tinkamumą žaizdų gydymui su dinatrio EDTA. Konkrečiau, dinatrio EDTA buvo pagaminta Vakarų pakrantės laboratorijose, Mumbajuje, Indijoje. Dinatrio EDTA taip pat yra žinoma kaip Na_2EDTA (dinatrio etilendiamintetraacto rūgštis), kurios formulė: $(\text{CH}_2\text{N}(\text{CH}_2\text{COOH})\text{CH}_2\text{COONa})_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ir jos molekulinė masė yra 372,24.

Šiam tyrimui panaudotos medžiagos buvo: maistinis agaras (HiMedia) 1000 ml; B. No. 1G115 exp. Aug 2006; gyvūnų virškinamojo trakto audinys 50,0 g; mielių ekstraktas 1,50 g; jautienos ekstraktas 1,50 g; natrio chloridas 5,00 g; I tipo agar-agaras 25 g; pH 7,4 +/- 0,2.

Mikrobų štamai

32 ppm sidabro/vandens kompozicijos vienos, 22 ppm sudabro/vandens kompozicijos vienos ir 32 ppm sidabro/vandens kompozicijos, o taip pat 22 ppm sidabro/vandens kompozicijos buvo pridėta Na_2EDTA ir kiekviena buvo tiriama prieš mikroorganizmų grupę, įskaitant:

Escherichia coli (dauginis vaistui atsparus štamas) iš išmatų mėginio;

Pseudomonas aeruginosa (dauginis vaistui atsparus štamas) iš seilių; ir

Meticilinui atsparus *Staphylococcus aureus* dauginis vaistui atsparus štamas) iš išmatų mėginio iš pūlių iš juosmens srities.

Aukščiau minėti štamai buvo gauti iš P.D. Hinduja ligoninės (MUMBAI, Indija).

Shigella flexneri (laboratorinis štamas);

Salmonella typhi (lab. štamas)

Bakteriniai štamai buvo auginami 24 val. 37°C ant maistinio agaro (pH 7,4).

32 ppm ir 22 ppm skiediniai buvo pridėti į Na_2EDTA , paruošto steriliame distiliuotame vandenyje. Kiekvienas mikroorganizmas buvo suspenduotas steriliame druskos tirpale ir praskiestas iki 10^6 kolonijas formuojančių vienetų (cfu/ml). Jie buvo užtepti ant maistinio agaro paviršiaus (pH 7,4), naudojant sterilius vatos tepinėlius. 10 mm diametro apskritimai buvo išspausti iš agaro ir juos buvo įvesti 0,1 ml atitinkami skiediniai. Po 24 val. 37°C inkubacijos visos plokštelės buvo tiriamos įvairiose augimo slopinimo vietose ir diametrai mm buvo išmatuoti, naudojant zonos skaitytuvą (Hi Media). Rezultatai yra pateikti 20 lentelėje.

Rezultatai ir komentarai

20 lentelė Sidabras/vanduo + Na₂EDTA

Sistema	<i>E. coli</i>	<i>MRSA</i>	<i>C. albicans</i>
Sidabras/vanduo 32 ppm- ctrl	21 mm	24 mm	27 mm
Sidabras/vanduo 32 ppm + 0,5 % Na ₂ EDTA	22 mm	29 mm	40 mm
Sidabras/vanduo 22 ppm +	20 mm	23 mm	29 mm
Sidabras/vanduo 22 ppm + 0,5 % Na ₂ EDTA	22 mm	31 mm	> 40 mm

Dinatrio EDTA 0,5 ppm puikiai padidina šio išradimo sidabro/vandens kompozicijų potencialumą abejuose 22 ir 32 ppm koncentracijų lygiuose.

Sidabro EDTA kaip savarankiškas antibakterinis vienetas

Buvo paruošti specifinė kompozicija ir testų pavyzdžiai, siekiant nustatyti ar sidabro chelatai, tokie kaip sidabro EDTA (arba AgEDTA) turi antibakterinių savybių. Konkrečiai, pramonėje sutinkamos sidabro EDTA kompozicijos buvo gautos iš AKZO Nobel ir Alpha Chemicals.

Reikalinga įranga:

- Inkubatorius, natūrali danga;

Reikalingos medžiagos:

- Sterilios maistinio agaro lėkštelės, sterilūs vatos tamponai, mikropipetė (100 –1000 µl);

16 val. gyvavimo kultūra iš sekančių štamų (maždaug 10⁸ CFU/ml tankio)

LT 5643 B

Escherichia coli (laukinio tipo) ir *Escherichia coli* (MDR), *Pseudomonas aeruginosa* (laukinio tipo) ir *Pseudomonas aeruginosa* (MDR), *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P ir meticilinui atsparus *Staphylococcus aureus*.

Būdas:

- Duoto tiriamo organizmo 16 val. gyvavimo tepinėlis buvo užteptas ant sterilios maistinio agaro lėkštelės.
- Leidžiama lėkštelėms palaikyti absorbciją 15 minučių.
- Po 15 minučių aseptiškai rutulėliai įspaudžiami į agaro paviršių, naudojant 10 mm kamščiatraukį.
- 100 µl tinkamo mėginio skiedinys išdalinamas ant rutulėlių. Paliekama 15 minučių difuzijai.
- Lėkštelės inkubuojamos 24 val. 37°C ir tiriama rezultatai.
- Išmatuojama slopinimo sritis mm, naudojant HiMedia srities skaitymo aparatą.

Rezultatai: žiūrėti 21 lentelę žemiau ir 36 ir 37 figūras.

21 lentelė: sidabro chelatų palyginamasis įvertinimas

Organizmas	Koncentracija	Slopinimo sritis	
		AKZO	ALPHA
<i>E. coli</i> (laukinio tipo)	28 ppm	20 mm	22 mm
	57 ppm	22 mm	24 mm
	114 ppm	22 mm	25 mm
<i>E. coli</i> (MDR)	28 ppm	20 mm	19 mm
	57 ppm	21 mm	21 mm
	114 ppm	23 mm	22 mm
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (laukinio tipo)	28 ppm	21 mm	20 mm
	57 ppm	27 mm	24 mm
	114 ppm	28 mm	27 mm

<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (MDR)	28 ppm	15 mm	17 mm
	57 ppm	21 mm	20 mm
	114 ppm	25 mm	22 mm
<i>S.aureus</i> (laukinio tipo)	28 ppm	16 mm	15 mm
	57 ppm	19 mm	18 mm
	114 ppm	22 mm	21 mm
MRSA	28 ppm	19 mm	20 mm
	57 ppm	21 mm	22 mm
	114 ppm	26 mm	24 mm

Išvada: sidabro chelatai, tokie kaip sidabro EDTA, turi antibakterinių savybių.

TERAPINIS ANTIBIOTIKŲ DERINYS

Kai tik buvo atrasti, antibiotikai buvo plačiai reklamuojami kaip stebuklingas vaistas ir pažodžiui jie tokie ir buvo. Infekcijos, kurios buvo mirtinos prieš amžiaus pradžią, šiame amžiuje buvo nugalėtos. Bet medicina praėjo beveik pilną ratą. Be recepto arba piktnaudžiavimas antibiotikais – šie netinkami jų naudojimai sudarė sąlygas vystyti bakterijų atspariems štamams ir dar kartą bakterijų štamams kėsintis į sveikatą ir gyvybę.

Kai kurie iš kitų faktorių, kurie prisideda prie bakterijų atsparumo vystymosi yra antibiotikų panaudojimas žemės ūkio tikslams ir maisto papildams žemės ūkyje (pvz., paukštienai, jautienai, kiaulienai ir kt). Pagal apibūdinimą antibiotikai yra labai paplitę US žemės ūkyje ir yra labai paplitę kituose užsienio valstybėse. Antibiotikų terapija žemės ūkyje dažnai prasideda tuo, kad bakterijų rūšis yra siunčiama į laboratoriją. Paukščių gripas (pvz., H5N1 arba "HPAI") tapo labai atsparus antibiotikams dėl to, kad Azijos paukščių augintojai nenoriai naudoja antibiotikus. Pacientams taip pat palengvintas antibiotikų įsigijimas. Neteisingas dozavimas ir nepilnas gydymo laikas taip pat daro įtaką štamo atsparumo vaistui atsiradimui. Yra labai svarbus klinikinis atsparumo problemos įsišaknijimas.

LT 5643 B

Patogeninės bakterijos atsparumas antibiotikams turi keletą poveikių infekcinių ligų gydymui. Daug vaistų, tokių kaip penicilinas, kurie buvo laikomi stebuklingais vaistais, pirmą kartą panaudojant turėjo didelę potenciją veiksmingai kontroliuoti bakteriją, adaptuotis prie jos ir smarkiai sumažinti jų veiksmingumą.

Šiandien atsparumas antibiotikams yra pasaulinė problema. Kai kurios įprastos ir labai patogeninės bakterijos, tokios kaip *Staphylococcus aureus*, konkrečiai atrastos ligoninėse, yra žinomos kaip atsparios viskam, išskyrus vankomiciną, ir atrodo, kad ir vankomicinui greitai taps atsparios taip pat. MRSA (meticilinui atspari *Staphylococcus aureus*) ir VRE (vankomicinui atspari *Enterococci*) yra keletas nosokominių infekcijų sukėlėjos ir kai jos yra aptinkamos ligoninėse, dažnai ligoninių palatos yra uždaromos ir netgi panaikinamos.

Su šia problema atsirado alternatyvi būtinybė arba naujų antibiotikų panaudojimui vietoje senų arba efektyvesniam esamų antibiotikų panaudojimui. Taip pat auganti vaistams atsparios bakterijos grėsmė yra puiki priežastis taikyti šio išradimo sidabro/vandens kompozicijas.

Vienas iš kelių kaip kovoti su didėjančiu bakterijų atsparumu antibiotikams apima derinių terapijos panaudojimą, kur naudojami du arba keli antibiotikai su skirtingais poveikių tipais. Sinerginio antibiotikų derinių poveikio išmatavimui yra taikomi įvairūs in vitro būdai, bet rezultatai gali būti prieštaringi, kai yra naudojami skirtingi testai, taip pat tai nėra bendra atsparumo jiems vystymosi taisyklė.

TIKSLAI IR SIEKIAI

Šis tyrimas buvo atliktas, nusistačius sekančius tikslus ir siekius:

1. Nustatyti klinikinių atvejų dauginį atsparumo vaistui modulį.
2. Nustatyti klinikinių atvejų jautrumą šio išradimo sidabro/vandens tirpalams.
3. Nustatyti antibiotinį derinį (sinergiškai) disko apytikrės reikšmės testu.
4. Nustatyti antibiotikų ir šio išradimo sidabro/vandens kompozicijų minimalią slopinimo koncentraciją.
5. Tirti sinergistinį veikimą tarp antibiotikų ir šio išradimo sidabro/vandens kompozicijų, šachmatiniu bandymu.

MEDŽIAGOS IR BŪDAI

Klinikinių atvejų atrinkimas

Dauginio atsparumo vaistui klinikiniai atvejai buvo atrinkti iš P.D.Hinduja ligoninės ir yra sekantys:

Cadell road, Mahim, Mumbai-400016, Indija.

- *Escherichia coli* (išskirta iš išmatų);
- *Pseudomonas aeruginosa* (išskirta iš seilių);
- Meticilinui atspari *Staphylococcus aureus* (MRSA – išskirtas iš pūlių juosmens srityje).

Terpė, tirpalai ir antibiotikų diskai:

Terpė:

- Maistinis sultinys.
- Maistinis agaras.
- Muller ir Hinton agaras.

Tirpalai:

- Antibiotiniai tirpalai;
- Sidabro/vandens tirpalas (22 ppm).

[vairiems eksperimentams yra panaudoti kompozicijos ir tirpalai yra pateikti 26 lentelėje (čia žemiau).

Buvo panaudotas realus tinkamos koncentracijos antibiotikų diskas. Disko kiekis kiekvienam antibiotikui yra nurodytas 27 lentelėje (čia žemiau).

Inokulianto paruošimas:

Grynų užaugintų kultūros gabalėlis buvo inokuliuotas į maistinį sultinį ir inkubuotas per naktį 37°C. 500 ml per naktį laikytos kultūros buvo perkelta į 5 ml šviežio maistinio sultinio ir inkubuota 4–6 val. maždaug 37°C. Kultūros tankis yra sureguliuotas iki maždaug 10^5 – 10^6 cfu/ml.

Antibiotikų jautrumo testas – Kirby Bauer būdas:

Šiame tyrime antibiotikais impregnuoti diskai yra patalpinami ant agaro lėkštelės, prieš tai inkubuotos su bakterine suspensija. Antibiotikai difuzuoja iš aplink esančios terpės. Tai yra algoritminės redukcijos antibiotikų koncentracijoje, kadangi atstumas

LT 5643 B

nuo disko didėja. Aplink diską atsiradusi skaidri zona rodo organizmo jautrumą antibiotikui. Skaidrios zonos yra išmatuojamos mm ir palyginamos su standartine NCCLS diagrama.

Būdas:

1. Sterilūs vatos tamponai buvo įmerkti į aukščiau minėtus inokuliacinius sultinio vamzdelius ir panaudoti užpurškimui ant M.H. agarų lėkštelių paviršiaus, siekiant gauti susiliejančią augimą.
2. Po to, kai inokuliatas absorbuoja terpę, antibiotikų diskai yra patalpinami ant užpurkštų paviršių su steriliomis chirurginėmis žnyplėmis.
3. Lėkštelės inkubuojamos maždaug 37°C 24 val.
4. Nuskaidėjimas aplink diską rodo organizmo jautrumą. Zona yra išmatuojama diametrais ir palyginama su standartinėmis diagramomis, nurodytomis NCCLS (žiūr. 27 lentelę) (Koneman 5 ed. 1997).

Izoliatų jautrumo nustatymas 10 ppm agarui difuzijos būdu:

Tai buvo nustatyta rutulėlių bandymo būdu, kuriame kiekviena izoliato dalis yra pasodinama į agarą terpę ir pridedama 10 ppm sidabro/vandens tirpalo į rutuliukus, įspaustus į kietą inokuliuotą terpę. Tada yra nustatoma slopinimo zonos dydis.

Būdas:

1. Į 20 ml Muller ir Hinton agarą gabalėlį buvo pridėta 0,5 ml inokulianto ir supilta į Petrio lėkštelę, ir paliekama reaguoti su druska.
2. Rutulėliai buvo įspausti į agarą sluoksnį.
3. Tada buvo pridėtos skirtingos sidabro/vandens koncentracijos į kiekvieną rutulėlį.
4. Lėkštelės buvo inkubuotos 37°C 24 val.
5. Tada yra nustatoma slopinimo zonos dydis.

Antibiotikų derinio nustatymas disko difuzijos būdu.

Tai yra paprastas kokybinis testas, skirtas sąveikos tarp klinikinio izoliato ir antibiotikų derinio nustatymui. Šiame teste antibiotikų diskai yra patalpinami ant agarą plokštelės, inokuliuotos Kirby-Bauer technika. Šie diskai gali būti atskirti atstumu, kuris yra lygus arba truputi didesnis už vidutinius slopinimo, sukulto

LT 5643 B

kiekvieną diską atskirai, diametrus. Ši gauta slopinimo zonos forma nustato sąveikos tarp klinikinio izoliato ir antibiotikų derinio tipą.

Būdas:

1. Sterilūs vatos tamponai buvo įmerkti į aukščiau minėtus inokuliacinius sultinio vamzdelius ir panaudoti užpurškimui ant M.H. agarų lėkštelių paviršiaus, siekiant gauti susiliejančią augimą.
2. Po to, kai inokuliatas absorbuoja terpę, antibiotikų diskai (tiriamas derinys) yra patalpinami ant užpurkštų paviršių su steriliomis chirurginėmis žnyplėmis atstumu lygiu arba truputi didesniu už slopinimo, sukulto kiekvieną diską atskirai, diametrų sumą.
3. Lėkštelės inkubuojamos maždaug 37°C 24 val.
4. Slopinimo zonų forma rodo sąveikos, t. y. sinerginės, antagonistinės arba indiferentinės, tipą.

25 figūra yra diagrama, kuri rodo galimas sąveikas tarp diskų bakterinės sinergijos difuzijos testo.

Konkrečiai, A dalis rodo adityvius arba indiferentinius poveikius; kiekvienas antibiotikas sukuria slopinimo zoną, kuri yra neveikiama gretima; B dalis rodo antagonistinius poveikius, kur kiekvieno antibiotiko slopinimo zonos yra sumažintos esamu kitu antibiotiku. C dalis rodo dviejų galimų sinergistinių sąveikų apraiškas. Kairėje padidinta slopinimo zona atsiranda, kai susitinka du antibiotikai. Dešinėje nėra kaip tokio antibiotinio slopinimo, bet bakterijų augimas yra slopinamas, kur kartu pasklidę du antibiotikai

Antimikrobinių agentų minimalios slopinimo koncentracijos nustatymas. Tai yra makropraskiesto sultinio jautrumo testas. Buvo paruošti serijiniai antimikrobinių agento praskiedimai sultinyje, į kurį buvo pridėta standartizuotos bakterinės suspensijos. Inkubacijos periodo gale vamzdeliuose buvo vizualiai stebimas augimas. Žemiausia antimikrobinių agento koncentracija, kuri slopina matomą augimą, yra paimta kaip MIC.

Naudoti antibiotikai:

Amikacinas: mikacijos inj. (250 mg) Aristo labs, Mumbai Indja.

Pavyzdys Nr. 02D054, mfd apr. 2004

Cefoperazonas: cefranas (200mg/ml) Ranbaxy labs, Jaipur, Indija.

Pavyzdys Nr. 9042601, , mfd 2004.

Būdas:

1. Antimikrobinio agento kiekis yra palaipsniui skiedžiamas tinkamu kiekiu.
2. Vamzdeliai, neturintys antimikrobinio agento rodo augimo kontrolę.
3. Kiekvienas vamzdelis buvo inokuliuotas standartine bakterine suspensija ir inkubuotas maždaug 37°C 24 val.
4. Inkubacinio periodo gale vizualiai buvo stebimas vamzdelių drumstumas. Drumstumas rodo, kad bakterijų augimas nebuvo slopinamas antimikrobinio agento, esančio terpėje, koncentracija.
5. MIC yra žemiausia antimikrobinio agento koncentracija, kuri slopina matomą augimą.

Sinergistinio veikimo tyrimas šachmatiniu bandymu.

Šachmatinis būdas yra naudojamas, kai yra tiriami dauginiai antibiotikai ir/arba dauginiai praskiedimai. Buvo atrinkti serijiniai dviejų tipų praskiedimai taip, kad apimtų nuo vienos šešioliktos iki mažiausiai dvigubos MIC koncentracijos. A vaistas yra palaipsniui skiedžiamas per ordinatę, tuo tarpu B yra laipsniškai skiedžiamas per abzcisę. Gautas šachmatinis išsidėstymas duoda kiekvieną iš dviejų antibiotikų derinį iš vamzdelio, kuris turi didžiausią kiekvieno iš priešingų kampų koncentraciją.

Protokolas:

LT 5643 B

2 x MIC						
MIC						
1:2 MIC						
1:4 MIC						
1:8 MIC						
1:16 MIC						
+ ve C 0						
	0	1:16 MIC	1:8 MIC	1:4 MIC	1:2 MIC	MIC
						2 x MIC

Vaistas B µg/ml

Vaistas A µg/ml

Vaisto praskiedimų atlikimas šachmatiniu tyrimu.

Pirmoji vamzdelių eilutė ir kolona su tik vienu vaistu pateikta individualių MIC reikšmių testo izoliatuose patvirtinimui.

Vienas vamzdelis be antibiotiko yra pozityvi kontrolė.

1. Galutiniame kiekvieno vamzdelio 5 ml tūryje antimikrobiniai vaistai, praskiesti sultinyje, yra pridedami iš tinkamų stipraus sultinio tirpalų.
2. Pridedama 0,1 ml kultūros suspensijos.
3. Inkubuojama maždaug 37°C 24 val.
4. Rezultatai pateikiami, nupiešiant izobologramas, gautas sujungiant taškus, reiškiančius visus derinius su tuo pačiu poveikiu, įskaitant vieno naudoto antibiotiko veiksmingas koncentracijas.

Skaičiavimai:

Elion et al (1954) aprašė MIC rezultatų, gautų frakcinės slopinimo koncentracijos (FIC) indeksu, skaičiavimo būdą, gautą kaip dviejų vaistų derinių FIC reikšmių suma.

FIC indeksas = A vaisto FIC + B vaisto FIC.

A vaisto FIC = A vaisto MIC derinyje su B vaistu

A vaisto MIC

Mažesnis negu 0,5 indeksas akivaizdžiai parodo sinergizmą; Didesnis negu 2,0 indeksas akivaizdžiai parodo antagonizmą.

(Koneman 5 ed. 1997).

26 figūra rodo antimikrobinės sinergijos šachmatinį titravimą.

Kiekviena aikštelė reiškia vamzdelį. Padidintos A antibiotiko koncentracijos pasiskirsčiusios per horizontalią ašį, o B antibiotiko per vertikalią ašį. Subrūkšniuotos aikštelės rodo bakterinį augimą. A plokštelėje antibiotikai rodo papildomą poveikį; Dešinė izoblograma yra tiesi linija. B plokštelė rodo sinergizmą, kur izoblograma yra įgaubta kreivė. C plokštelė rodo antagonistinius rezultatus su išgaubta kreive.

Antibiotinio jautrumo modulio nustatymas Kirby-Bauer būdu.

22 lentelė: naudotų tyrime izoliatų antobiogramos (zonos mm).

Antibiotikai	Zonos išmatavimai (mm)		
	Organizmai		
Amikacinas	20	9	22
Ciprofloksacinas	-	-	20
Kanamocinas	14	-	-
Gentamicinas	19	-	-
Tetraciklinas	-	-	27
Nalidikso rūgštis	-	-	-
Cefoperazonas	-	14	23
Ceflazidimas	10	16	-
Chloramfenikolis	-	-	-

Raktas: slopinimo nėra.

Klinikinių izoliatų jautrumo ASAP-agarui nustatymas difuzijos būdu.

ASAP koncentracija ppm	Zonos išmatavimai (mm)		
	Organizmai		
	E. coli	Pseudomonas	MRSA
32	16	16	13
16	15	14	11
8	11	11	-
4	-	-	-
2	-	-	-

Raktas: slopinimo nėra

Žiūr. 27 figūros nuotraukas.

Antibiotikų derinio nustatymas diskų apytikrės reikšmės testu

Buvo gautos įvairių antibiotikų derinių patikrinto sinergistinio arba papildomo poveikio izoliatams, slopinimo zonos, jautrios galimai sinergijai tik esant MRSA, naudojant amikaciną su cefoperazonu ir amikaciną su tetraciklinu deriniui (28 figūra). Nebuvo gautos slopinimo zonos, darančios įtaką sinerginiam deriniui tuo atveju, kai buvo stebimi kiti du izoliatai, t.y. *E. coli* ir *Pseudomonas* (žiūr. 29 ir 30 figūras).

Antibiotikų minimalios slopinimo koncentracijos nustatymas.

Buvo nustatyta antibiotikų MIC, kuri parodė slopinimo zonas, darančias įtaką galimai sinergijai.

23 lentelė

Amikacino MIC

Stiprus sultinys: 125 mcg/ml

Skiediklis: maistinis sultinys

Kutūra: MRSA

Raktai:

+ augimas

- nėra augimo

Amikacino MIC MRSA buvo nustatytas 0,8 mcg/ml.

Cefoperazono MIC

Stiprus sultinys: 100 mcg/ml

LT 5643 B

Skiediklis: maistinis sultinys

Kultūra: *MRSA*

Vamzdelis Nr.	Koncentracija mcg/ml	Augimas
1	0,2	+
2	0,4	+
3	0,6	+
4	0,8	-
5	1	-
6	2	-
7	3	-
8	4	-
9	5	-
10	+ ve	+
11	- ve	-

Raktas: + augimas

- nėra augimo

Cefoperazono MIC *MRSA* buvo nustatytas 10 mcg/ml.

Sidabro/vandens MIC

Stiprus sultinys 20 ppm sidabro vandens tirpalo

Skiediklis: maistinis sultinys

Kultūra: *MRSA*

Vamzdelio Nr.	Koncentracija ppm	Augimas
1	5	+
2	10	-
3	15	-
4	20	-
5	25	-
6	30	-
7	35	-
8	40	-

9	45	-
10	50	-
11	+ ve	+
12	- ve	-

23 a lentelė

Vamzdelio Nr.	Koncentracija ppm	Augimas
1	1	+
2	2	+
3	3	+
4	4	+
5	5	+
6	6	+
7	7	+
8	8	-
9	9	-
10	10	-
11	+ ve	+
12	- ve	-

Raktas: + augimas

- nėra augimo

Sidabro/vandens MIC MRSA buvo nustatytas 8 mcg/ml.

Sidabro/vandens MIC

Stiprus sultinys 20 ppm

Skiediklis: maistinis sultinys

Kultūra: *E. coli*

24 lentelė

Vamzdelio Nr.	Koncentracija ppm	Augimas
1	1	+
2	2	+
3	3	-
4	4	-

LT 5643 B

5	5	-
6	6	-
7	7	-
8	8	-
9	9	-
10	+ ve	+
11	- ve	-

Raktas: + augimas

- nėra augimo

Sidabro/vandens MIC *E. coli* buvo nustatytas 3 ppm.

Sidabro/vandens MIC

Stiprus sultinys: 20 ppm sidabras/vanduo

Skiediklis: maistinis sultinys

Kultūra: *Pseudomonas*

25 lentelė

Vamzdelio Nr.	Koncentracija ppm	Augimas
1	1	+
2	2	+
3	3	-
4	4	-
5	5	-
6	6	-
7	7	-
8	8	-
9	9	-
10	+ ve	+
11	- ve	-

Raktas: + augimas

- nėra augimo

Sidabro/vandens MIC *Pseudomonas* buvo nustatytas 3 ppm.

Šachmatinio tyrimo sinergistinio poveikio tyrimas

I. Amikacino ir sidabro/vandens derinys.

Amikacino MIC – 0,8 mcg/ml.

Sidabro/vandens MIC – 8 ppm.

Kultūra: *MRSA*.

1,6	-	-	-	-	-	-	-
0,8	-	-	-	-	-	-	-
0,4	+	-	-	-	-	-	-
0,2	++	-	-	-	-	-	-
0,1	++	++	-	-	-	-	-
0,05	++	++	-	-	-	-	-
0	+ ve C	++	++	++	+	-	-

Amikacinas 0 0,5 1 2 4 8 12
(mcg/ml) Sidabras/vanduo (ppm)

Raktas: + augimas

- nėra augimo

MRSA sinerginė koncentracija buvo nustatyta 0,05 msg/ml amikacino ir 1 ppm šio išradimo sidabru/vandeniui.

Apskaičiuotas FIC indeksas:

Amikacino FIC = Amikacino MIC derinyje

Vieno Amikacino MIC

= 0,05/0,8

= 0,0625.

ASAP FIC = Sidabro/vandens MIC derinyje

Vieno sidabro/vandens MIC

= 1/8

= 0,125.

FIC indeksas = Amikacino FIC + sidabro/vandens FIC

= 0,0625 + 0,125

LT 5643 B

= 0,1875.

FIC indeksas yra sinerginis požymis tarp amikacino ir sidabro/vandens.

II. Cefoperazono ir sidabro/vandens derinys.

Cefoperazono Mic – 10 mcg/ml.

Sidabro/vandens MIC – 8 ppm.

Kultūra: *MRSA*.

15	-	-	-	-	-	-	-
10	-	-	-	-	-	-	-
5	+	-	-	-	-	-	-
2,5	++	-	-	-	-	-	-
1,25	++	-	-	-	-	-	-
0,625	++	++	-	-	-	-	-
0	+ ve C	++	++	++	+	-	-

Cefoperazonas 0 0,5 1 2 4 8 12
(mcg/ml) Sidabras/vanduo (ppm)

Raktas: + augimas

- nėra augimo

MRSA sinerginė koncentracija buvo nustatyta 0,625 msg/ml cefoperazonui ir 1 ppm šio išradimo sidabrui/vandeniui.

Apskaičiuotas FIC indeksas:

Cefoperazono FIC = Cefoperazono MIC derinyje

Vieno Cefoperazono MIC

= 0,625/10

= 0,0625.

ASAP FIC = Sidabro/vandens MIC derinyje

Vieno sidabro/vandens MIC

= 1/8

= 0,125.

$$= 0,4/0,8$$
$$= 0,5.$$

$$\begin{aligned}\text{FIC indeksas} &= \text{cefoperazono FIC} + \text{amikacino FIC} \\ &= 0,125 + 0,5 \\ &= 0,625.\end{aligned}$$

FIC indeksas yra sinerginis požymis tarp cefoperazono ir sidabro/vandens.

APTARIMAS

Šiame trijų klinikinių atvejų, atrinktų iš P.D.Hinduja ligoninės, Mumbai, Indija, pavyzdyje gram-negatyvūs izoliatai parodė atsparumą senesniems antibiotikams, tokiems kaip ampicilinas, tetraciklinas, kanamicinas ir senesniems chinolonams, tokiems kaip nalidikso rūgštis, o taip pat ir trečios kartos cefalosporinams – ceftazimidui ir cefoperazonui. Klinikiniai *Pseudomonas* izoliatai, naudoti tyrime, buvo taip pat atsparūs dabartiniam ciprofloksacinui ir pusiau sintetiniam aminoglikozidui ir amikacinui. MRSA gram-pozityvus izoliatas taip pat buvo atsparus kitiems antibiotikams ir taip pat trečios kartos cefalosporinams, kaip ceftazimidas.

Jų jautrumo šio išradimo sidabro/vandens kompozicijoms tyrimas parodė, kad gram-negatyvūs izoliatai yra lengvai jautrūs maždaug 3 ppm sidabro/vandens tirpalams ir buvo atrasta, kad MRSA izoliatas slopinamas 8 ppm sidabro/vandens tirpalais, kaip nustatyta agar difuzija ir makropraskiedžiamo sultinio būdu.

Dviejų antibiotikų derinyje su izoliatais tarpusavio sąveika buvo nustatyta disko difuzijos būdu, kuris atskleidė sinerginius rezultatus tarp cefoperazono ir amikacino prieš MRSA. Šachmatinis bandymas buvo vykdomas to patvirtinimui. Gram-negatyviems izoliatams difuzijos būdu buvo nustatyta, kad tarp antibiotikų nebuvo papildomos sinergijos.

Šachmatinis bandymas buvo vykdomas ir dviejų antibiotikų FIC indeksas buvo nustatytas 0,625, tokiu būdu nustatant amikacino ir cefoperazono derinio papildomą sinergiją arba jos nebuvimą.

Šachmatinis bandymas buvo vykdomas, siekiant ištirti sidabro/vandens tirpalų su amikacinu, o taip pat cefoperazonu derinį. Rezultatai parodė, kad esant išradimo sidabro/vandens kompozicijoms, antibiotiko veiksminga koncentracija yra sumažinama maždaug keturiais balais. Šių derinių FIC indeksas buvo nustatytas

0,1875 kiekvienu atveju, nustatant sidabro/vandens su amikacinu ir sidabro/vandens su cefoperazonu, derinio sinergiją.

Rezultatai parodė, kad sidabro/vandens kompozicijos vaidina svarbų vaidmenį derinyje su antibiotikų terapija, ypatingai prieš dauginio atsparumo vaistams štamus.

26 lentelė

1. Maistinis sultinys

Peptonas – 10,0 g;

Natrio chloridas – 5,0 g;

Mėsos ekstraktas – 3,0 g;

Dekstrozė – 5,0 g;

Fenolis raudonas (indikatorius) – 0,001%;

Distiliuotas vanduo – 900 ml.

2. Maistinis agaras:

Peptonas – 10,0 g;

Natrio chloridas – 5,0 g;

Mėsos ekstraktas – 3,0 g;

Distiliuotas vanduo – 900 ml.

Agaras – 2,0%;

pH – 7,2.

3. Muller ir Hintos agaras:

Kazeino rūgšties hidrolizatas – 29,0 g;

Jautienos krakmolas – 10,0 g;

Bulvių krakmolas – 2,5 g;

Agaras – 1,2%;

Distiliuotas vanduo – 1000 ml.

pH – 7,6.

27 lentelė

Interpretavimo zonos diametrai

(NCCLS dokumentas, 1988)

Antibiotikai	Diskas	Zonos diametras mm		
	Konc. (mcg)	Atsparumas	Tarpinis	Jautrus
Amikacinas (AK)	30	≤14	15 - 16	≥17
Ciprofloksacinas (RC)	5	≤15	16 - 20	≥21
Kanamocinas (KA)	30	≤13	14 - 17	≥18
Gentamicinas (GM)	10	≤12	13 - 14	≥15
Tetraciklinas (TE)	30	≤14	15 - 18	≥19
Nalidikso rūgštis (NA)	30	≤14	14 - 18	≥19
Cefoperazonas (CP)	75	≤15	16 - 20	≥21
Ceftazidimas (FG)	30	≤14	15 - 17	≥18
Chloramfenikolis (CH)	30	≤12	13 - 17	≥18

GENTAMICINO IR SIDABRO/VANDENS KOMPOZICIJŲ, KAIP ŽAIZDŲ ANTISEPTINIŲ MILTELIŲ, DERINYS

Žaizdų antiseptiniai milteliai yra kompozicijos, naudojamos žaizdų, nudegimų arba abscesų po įpjovimo paviršiaus bakterinių infekcijų prevencijai arba gydymui.

LT 5643 B

Žaizdų milteliai paprastai yra plataus spektro antibiotiniai/antiseptiniai preparatai. Tokių miltelių panaudojimas neišskiria kartu naudojamos, kur tinkama, terapijos antibiotikais.

Žaizdų gydymo produktai šiandien sutinkami prekyboje yra povidono jodo pagrindo. Povidono jodas yra labai toksiškas atviroms žaizdoms konkrečiai yra kontraindikuotas diabetikų žaizdoms. Be to, jodas sublimuojasi ir maždaug kas 6 - 8 val. turi būti pakartotinai uždėtas.

Kita potenciali taikymo sritis yra veterinarijos sritis. Kambariniai gyvūnėliai dažnai įsipjauna, nusibrėžia arba susižeidžia dėl kasymosi, kurį sukelia parazitai, o taip pat kiti gyvūnai. Šioje srityje gali padėti nestiprūs, bet plataus spektro antimikrobų preparatai.

Buvo nuspręsta pagaminti žaizdos antiseptinių miltelių, susidedančių iš lėto atpalaidavimo preparato, turinčio gentamicino ir šio išradimo sužadintų sidabro nanodalelių. Talko pagrindo preparatas, turintis maždaug 200 ppm sidabro nanodalelių ir maždaug 100 ppm gentamicino čia yra įvardintas kaip SILDUST.

REZULTATAI**SILDUST – jautrumas**

Tikslas: nustatyti SILDUST ir jo sudedamųjų dalių jautrumą prieš mikroorganizmus.

Procedūra:

Reikalinga įranga:

Inkubatorius, natūrali danga

Reikalingos medžiagos:

- Sterilios maistinio agarų lėkštelės, sterilūs vatos tamponai, mikropipetė (100 –1000 µl); 16 val. gyvavimo kultūra iš sekančių štamų (maždaug 10^8 CFU/ml tankio) *Escherichia coli* (MDR), *Pseudomonas aeruginosa* (MDR) ir meticilinui atsparus *Staphylococcus aureus*.

Būdas:

- Duoto tiriamo organizmo 0,1 ml kultūros buvo užpurkšta, naudojant sterilius vatos tamponus, ant sterilios maistinio agaro lėkštelės. Laikoma išorėje 15 minučių.
- Po 15 minučių aseptiškai rutulėliai įspaudžiami į agaro paviršių, naudojant 10 mm kamščiatraukį.
- 100 µl SILDUST (200 ppm sidabro talko + 100 ppm gentamicino) įvedama į vieną rutulėlį.
- 100 µl SILDUST + 100 ppm gentamicino įvedama į kitą rutulėlį. Taip pat įvedama 200 ppm sidabro talko + 100 µl distiliuoto vandens. Abu paruošti kaip kontroliniai.
- Lėkštelės inkubuojamos 24 val. 37°C ir tiriama rezultatai.
- Išmatuojama slopinimo sritis mm, naudojant HiMedia srities skaitytuvą.

Rezultatai: žiūrėti 28 lentelę žemiau ir 38 figūrą.

28 lentelė: SILDUST jautrumas

Kultūra	Slopinimo zona		
	100 ppm gentamicino	200 ppm ASAP talko	SILDUST*
<i>Escherichia coli</i> (MDR)	24 mm	17 mm	26 mm

SILDUST* - 200 ppm ASAP takas + 100 ppm gentamicino

Išvada: Pastebimas SILDUST (apimantis 200 ppm sidabro talko ir 100 ppm gentamicino) sinerginis aktyvumas.

Raktas:

SILDUST 1 – 200 ppm sidabro talko + 50 ppm gentamicino;

SILDUST 2 – 200 ppm sidabro talko + 100 ppm gentamicino;

SILDUST – antibakterinis aktyvumas

Tikslas: nustatyti SILDUST užmušimo laiką prieš mikroorganizmus.

Procedūra:

Reikalinga įranga:

Inkubatorius, natūrali danga.

Reikalingos medžiagos:

- Sterilus fenolio raudonasis dekstrazės sultinys, 16 val. gyvavimo kultūra iš sekančių štamų (maždaug 10^8 CFU/ml tankio) *Escherichia coli* (MDR), *Pseudomonas aeruginosa* (MDR) ir meticilinui atsparus *Staphylococcus aureus*.

Būdas:

- Steriliame testavimo vamzdyje paruošiama 5 ml mėginio, turinčio 2 g SILDUST.
- Inokuliuojama 0,1 ml kultūros į aukščiau paruoštą tirpalą. Energingai maišoma.
- 0, 5, 10 ...50 minučių intervalais mėginio inokuliuoto gabalėlis, skirtas testavimui įdedamas į 5 ml sterilų fenolio raudonąjį dekstrozės sultinį. Energingai maišoma.
- Inkubuojama 24 val. 37°C ir tiriama rezultatai.
- Stebimas augimas.
- Negatyviai kontrolei, inokuliuoto SILDUST gabalėlis buvo suspenduotas į 5 ml sterilų fenolio raudonąjį dekstrozės sultinį ir inkubuotas 37°C I maždaug 24 valandas.
- Pozityviai kontrolei, tiriamos kultūros gabalėlis buvo įnokuliuotas į 5 ml sterilų fenolio raudonąjį dekstrozės sultinį ir inkubuotas 37°C I maždaug 24 valandas.

Rezultatai: žiūrėti 29, 30 ir 31 lenteles.

29 lentelė *Escherichia coli* (MDR)

Laiko intervalai (min.)	10 ppm gentomicino	200 ppm ASAP talko	SILDUST*	Vokadinas*
0	+	+	+	-
5	+	+	+	-
10	+	+	+	-

LT 5643 B

15	+	+	+	-
20	+	+	+	-
25	+	+	+	-
30	+	+	+	-
25	+	+	+	-
40	+	+	+	-
45	+	+	+	-
50	+	+	-	-
Pozityvi kontrolė	+	+	+	+
Negatyvi kontrolė	-	-	-	-

SILDUST* - 200 ppm ASAP takas + 100 ppm gentamicino

Vokadinas* - 200 ppm taikomo jodo

Raktas: + - augimas

- - nėra augimo

Išvada: derinys rodo sinergistinį poveikį. Vamzdelis su vokadinu (aprašytas žemiau, bandymo gale) parudavo per kelias sekundes, pridėjus miltelių į terpę dėl jodo atpalaidavimo. Nors Vokadinas rodo greitesnį užmušimą, toks didelis jo toksiškumas yra nepageidaujamas, gydant žaizdas.

30 lentelė *Pseudomonas aeruginosa* (MDR)

Laiko intervalai (min.)	10 ppm gentomicino	200 ppm ASAP talko	SILDUST*	Vokadinas*
0	+	+	+	-
5	+	+	+	-
10	+	+	-	-
15	-	+	-	-
20	-	+	-	-
25	-	+	-	-
30	-	-	-	-

25	-	-	-	-
40	-	-	-	-
45	-	-	-	-
50	-	-	-	-
Pozityvi kontrolė	+	+	+	+
Negatyvi kontrolė	-	-		-

SILDUST* - 200 ppm ASAP takas + 100 ppm gentamicino

Vokadinas* - 200 ppm taikomo jodo.

Raktas: + - augimas

- - nėra augimo

Išvada: derinys rodo sinergistinį poveikį

31 lentelė MRSA

Laiko intervalai (min.)	10 ppm gentomicino	200 ppm ASAP talko	SILDUST*	Vokadinas*
0	+	+	+	-
5	+	+	+	-
10	+	+	+	-
15	+	+	+	-
20	+	+	+	-
25	+	+	+	-
30	+	+	+	-
25	+	+	+	-
40	+	+	-	-
45	+	+	-	-
50	-	-	-	-
Pozityvi kontrolė	+	+	+	+
Negatyvi kontrolė	-	-	-	-

LT 5643 B

SILDUST* - 200 ppm ASAP takas + 100 ppm gentamicino

Vokadinas* - 200 ppm taikomo jodo.

Raktas: + - augimas

- - nėra augimo

Išvada: derinys rodo sinergistinį poveikį.

SILDUST – antibakterinis aktyvumas

Tikslas: nustatyti šeimininko bakteriofago jautrumą SILDUST.

Principas: buvo gautas tinkamas skiedinys, siekiant išsklaidyti klaidingas nuomones dėl to, kad SILDUST užmuša šeimininko ląsteles.

Procedūra:

Principas:

- T lyginis bakteriofagas ir šeimininko *Escherichia coli* buvo naudojami, kaip nustatymo sistema. Sidabro koncentracija SILDUST buvo neutralizuojama, praskiedžiant taip, kad neužmušti šeimininko bakterijų. Eksperimentiniai mėginiai buvo paruošti sekančiai:

1. Testas – fagas + SILDUST

2. Kontrolinis – fagas + druska.

Reikalinga įranga:

- Sviurių balansatorius, sluoksninio oro tekėjimo vienetą, inkubatorius.

Reikalingos medžiagos:

- Petrio lėkštelės, markeris, mentelė, mikropipetė.

Būdas:

- Paruošiama 2,5 ml mėginio, turinčio 1 g SILDUST (kuris nerodo antibakterinio poveikio) ir druskos atskiruose steriliuose tyrimo vamzdeliuose.
- Į kiekvieną įdedama 0,1 ml lyzato fago (maždaug 10^{10} infekcinių fago dalelių / ml).
- Gerai išmaišoma sūkuriniame maišytuve ir inkubuojama 37°C.
- Kai $t = 0,1$ ir valandos intervalais išimama 0,5 ml mėginių ir praskiedžiama iki SILDUST bandomojo praskiedimo, kuris nerodo bakterinio poveikio.

- Užtepame šį skiedinį ant šviežiai paruošto šeimininko paviršinio audinio sluoksnio. Tai turi būti daroma tyrimui ir kontrolei.
- Lėkštelė inkubuojama 37°C maždaug 24 valandas.
- 0,1 ml šio skiedinio sumaišoma su 0,5 ml matomai augančia šeimininko medžiaga ir inkubuojama maždaug 37°C 15 minučių.
- Pridedama 7 ml sumalto minkšto agaro į jį.
- Energingai sumaišoma ir užpilama ant maistinio agaro lėkštelės.
- Plokštelė inkubuojama 37°C maždaug 24 valandas.
- Tikrinamos lėkštelės su paviršiniu audiniu ir surašomos lėkštelės, sudarančios dangalų vienetus.

Rezultatai: žiūrėti 32 lentelę.

32 lentelė – SILDUST bandinys

Praskiedimai	Rezultatas
10^{-1}	+
10^{-2}	-
10^{-3}	-
10^{-4}	-

Raktas:

+ yra aktyvių fago dalelių;

- nėra fago dalelių.

SILDUST – antivirusinis aktyvumas

Procedūra: tokia pati kaip "SILDUST – antibakterinis aktyvumas, 2 dalis"

Rezultatai pateikti 33 ir 34 lentelėse.

33 lentelė SILDUST užmušimo laikas

LT 5643 B

Laikas intervalais (val.)	Druska	SILDUST*
0	+	+
1	+	+
2	+	-
3	+	-

SILDUST* -- 200 ppm ASAp talko + 100 ppm gentamicino

Raktas:

+ yra aktyvių fago dalelių;

- nėra fago dalelių.

34 lentelė Fagų sąrašas

Laikas intervalais (val.)	Druska (pfu/ml)	SILDUST* (pfu/ml)
0	TNTC	$1,15 \times 10^5$
1	TNTC	$1,0 \times 10^4$
2	TNTC	$3,0 \times 10^3$
3	TNTC	NIL

SILDUST* -- 200 ppm ASAp talko + 100 ppm gentamicino.

Raktas:

TNTC – per skaitlingas suskaičiavimui.

Pfu/ml – infekcinių fago dalelių matavimas.

Išvada: SILDUST neparodė baktericidinio aktyvumo prieš šeimininko kultūrą 10^{-2} praskiedime. Tame pačiame SILDUST praskiedime buvo tikrinamas antivirusinis aktyvumas ir jis buvo veiksmingas. Buvo rasta, kad bakterijas formuojančių vienetų sumažėjo nuo 10^5 iki 0 per 3 val., kas įrodė, kad SILDUST greičiausiai gali daryti poveikį prieš gyvūnų virusus taip pat.

Eksperimentams, čia aprašytiems aukščiau buvo panaudota sekanti kompozicija:

Kompozicijos sudėtis:

Maistinis agaras – 10,0 g;

Natrio chloridas – 5,0 g;

Mėšos ekstraktas – 3,0 g;

Distiliuotas vanduo – 900 ml;

Agaras – 2,5 g;

PH – $7,2 \pm 0,2$.

Fenolio raudonasis dekstrozės sultinys

Proteozės peptonas – 10,0 g/l;

Jautienos ekstraktas – 1,0 g/l;

Natrio chloridas – 5,0 g/l;

Dekstrozė – 5,0 g/l;

Fenolis raudonasis – 0,018 g/l;

PH – $7,4 \pm 0,2$

Minkštasis agaras:

Agaras – 1,0%;

Druska:

Natrio chloridas – 0,9%.

Vokadinas

Mfg. Lic. Nr AD/200-A;

Bandymo Nr. WNR 5008;

Mfg data: 2005 kovas;

Baigimo data: 2008 kovas;

Aktyvūs ingredientai:

Povidono jodas IP 5 w/w %.

Mfgd. Navketan Research ir Lab. Ltd.

SIDABRO/VANDENS PRIDĖJIMAI Į POVIDONO JODO 10% TIRPALĄ

Kitas priedo pavyzdys, kuris sėkmingai naudojamas kartu su šio išradimo sidabro/vandens kompozicijomis, yra povidono jodas. Jodas yra gerai žinomas medicinoje kaip profilaktikos priemonė, skirta plataus spektro patogenų gydymui. Jodas prekyboje yra sutinkamas įvairių koncentracijų, bet dažniausiai naudojamas ir siūlomas naudoti, 10% koncentracijos. Šiame išradimo įgyvendinimo variante sinergistinis derinys apima maždaug 25—50 tūrio % mainų sidabro/vandens mišinį, pakeičiant 10% jodo tirpalu. Kadangi tarp sidabro/vandens mišinio ir jodo yra galimos įvairios reakcijos, iš eksperimentinių rezultatų aišku, kad sidabro/vandens sinergistinis mišinys su povidono jodu gali funkcionuoti kaip vietinė dezinfekuojanti priemonė (pvz., tepalas) ir/arba kaip profilaktikos priemonė prieš įpjovimų, nudegimų ir įbrėžimų ir kt. infekcijas.

Konkrečiai, 32 ppm sidabro/vandens kompozicijų derinyje su įvairių procentų povidono jodu (PI) sinergistinis poveikis buvo nustatytas eilei bakterijų. Tyrimų būdai ir rezultatai seka toliau. Iš šių rezultatų galima daryti išvadą, kad sudėjus šias dvi medžiagas kartu, egzistuoja sinergistinis ryšys. Šis sinergizmas gali būti panaudotas gauti puikią vietinę dezinfekavimo priemonę.

Sekanti apibrėžtis yra suprantama, kaip konkrečiai iliustruota ir aprašyta aukščiau, kaip apimanti tai, kas yra konceptualus ekvivalentas, tai, kas gali būti akivaizdžiai pakeista ir taip pat kas iš esmės yra šio išradimo idėja. Šios srities specialistui būtų aišku, kad įvairios čia aprašyto įgyvendinimo varianto adaptacijos ir modifikacijos gali būti konfigūruojamos nenukrypstant nuo šio išradimo. Iliustruotas įgyvendinimo variantas buvo pateiktas tik kaip pavyzdinis, bet ne kaip apribojantis šį išradimą. Todėl yra suprantama, kad remiantis pridėtos apibrėžties visuma, išradimas praktikoje gali būti taikomas kitaip, negu čia konkrečiai aprašyta.

APIBRĖŽTIS

1. Sidabro vandenyje kompozicija, apimanti bendrą sidabro koncentraciją maždaug nuo 5 iki 40 milijoninių dalių, kur minėtas sidabras yra sidabro nanodalelių formos, turinčių elementinio sidabro vidų ir paviršių iš mažiausiai vieno sidabro oksido, besiskirianti tuo, kad daugumos sidabro dalelių maksimalus diametras yra mažiau, negu 0,015 mikrometrų, besiskirianti tuo, kad daugumos koloidinių sidabro dalelių minimalus diametras yra didesnis, negu 0,005 mikrometrų ir besiskirianti tuo, kad kompozicija pasižymi antimikrobinėmis savybėmis.
2. Kompozicija pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad ji dar apima vandenilio peroksida.
3. Kompozicija pagal 2 punktą, besiskirianti tuo, kad vandenilio peroksido koncentracija yra maždaug nuo 1 m/v % iki maždaug 3,0 m/v %.
4. Kompozicija pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad dar apima EDTA.
5. Kompozicija pagal 4 punktą, besiskirianti tuo, kad minėta EDTA apima natrio EDTA.
6. Kompozicija pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad kompozicija apima hidrogelį, gautą ištirpinus hidrofilinį polimerą sidabro vandenyje kompozicijoje.
7. Kompozicija pagal 6 punktą, besiskirianti tuo, kad minėta kompozicija yra sudaryta kaip amorfinis gelis.
8. Kompozicija 6 punktą, besiskirianti tuo, kad minėta kompozicija yra sudaryta kaip kietas gelio lakštas.

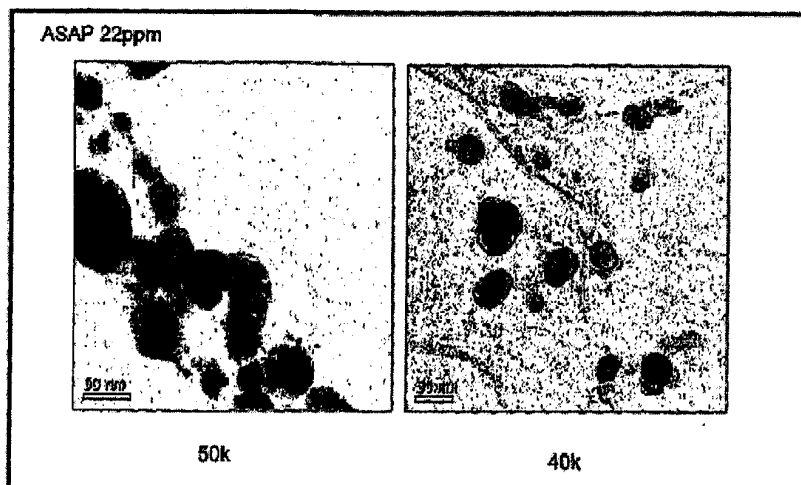
9. Kompozicija pagal 8 punktą, besiskirianti tuo, kad hidrofilinis polimeras yra parinktas iš grupės, susidedančios iš želatinos, karbohidratų polimero ir akrilo rūgšties kopolimerų.
10. Kompozicija pagal 9 punktą, besiskirianti tuo, kad karbonato polimeras apima mažiausiai vieną polimerą, parinktą iš grupės, susidedančios iš celiuliozės darinių, alginato, keragenano ir augalų gumų.
11. Kompozicija pagal bet kurį iš 1-10 punktų, skirta panaudoti gydymui ligos, parinktos iš grupės, susidedančios iš maliarijos, odos grybelių infekcijų, bakterinių odos infekcijų, makšties infekcijų, šlapimo trakto infekcijų, tonzilitų, dubens uždegiminių ligų, faringitų, gonorėjos, konjuktyvito, atito, kvėpavimo trakto infekcijų ir nosies infekcijų, besiskirianti tuo, kad minėtos kompozicijos mėginys yra skyrimas asmeniui, kamuojamam šios ligos.
12. Kompozicija pagal bet kurį iš 1-10 punktų, skirta panaudoti gydymui ligos, parinktos iš grupės, susidedančios iš maliarijos, odos grybelių infekcijų, bakterinių odos infekcijų, makšties infekcijų, šlapimo trakto infekcijų, tonzilitų, dubens uždegiminių ligų, faringitų, gonorėjos, konjuktyvito, atito, kvėpavimo trakto infekcijų ir nosies infekcijų, besiskirianti tuo, kad ji dar apima sidabro EDTA.
13. Mikrobu, parinktų iš grupės, susidedančios iš *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Mycobacteria bovis*, *Mycobacteria tuberculosis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella choleraesuis*, *Staphylococcus aureus*, *Trichomonas vaginalis* ir *Yersinia pestis*, eliminavimo būdas, apimantis šių mikrobu poveikį sidabro EDTA.
14. Būdas pagal 13 punktą, besiskiriantis tuo, kad kuriame minėtas poveikis apima sidabro EDTA nurijimą.
15. Mikrobu, parinktų iš grupės, susidedančios iš *Bacillus anthracis*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Mycobacteria bovis*, *Mycobacteria tuberculosis*, *Pseudomonas*

aeruginosa, *Salmonella choleraesuis*, *Staphylococcus aureus*, *Trichomonas vaginalis* ir *Yersinia pestis*, eliminavimo būdas, besiskiriantis tuo, kad minėtas būdas apima šių mikrobu poveikį mažiausiai viena kompozicija, parinkta iš grupės, susidedančios iš sidabro EDTA, sidabro EDDS, sidabro kurkuminato, sidabro berberino ir sidabro tetraciklino.

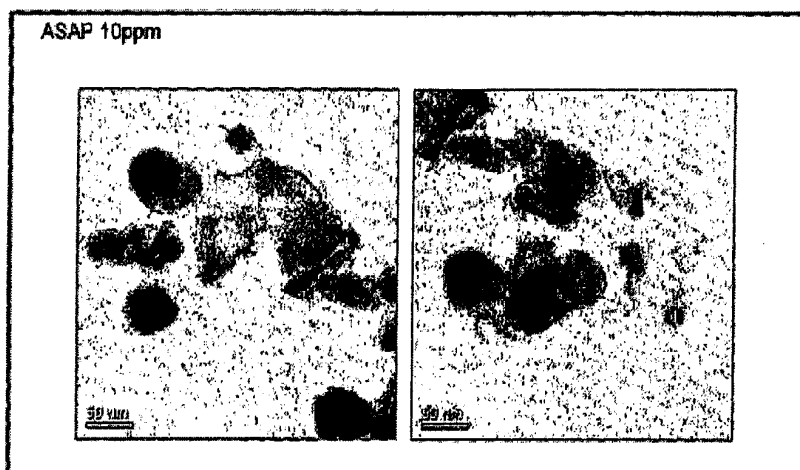
16. Mažiausiai vieno metalo įvedimo į biologinį organizmą būdas, besiskiriantis tuo, kad minėtas būdas apima mažiausiai vieno metalo, parinkto iš metalų grupės, susidedančios iš sidabro, vario, cinko, platinos, titano ir jų mišinių ir jų lydinių prikabinimą prie mažiausiai vieno klatrato, siekiant sudaryti metalo/klatrato struktūrą, ir minėto biologinio organizmo poveikį minėta metalo klatrato struktūra.
17. Būdas pagal 16 punktą, besiskiriantis tuo, kad klatratas apima mažiausiai vieną kaolinitą.
18. Būdas pagal 16 punktą, besiskiriantis tuo, kad klatratas apima mažiausiai vieną zeolitą.
19. Būdas pagal 16 punktą, besiskirianti tuo, kad mažiausiai vienas metalas apima sidabrą.
20. AgEDTA panaudojimas gamybai kompozicijos, skirtos galvijų profilaktiniam gydymui, besiskiriantis tuo, kad AgEDTA yra pridedama į mažiausiai vieną galvijų maistą ir galvijų geriamą vandenį.
21. AgEDTA panaudojimas gamybai kompozicijos, skirtos žmogaus ir gyvūnų profilaktiniam gydymui, besiskiriantis tuo, kad AgEDTA yra pridedama į visą, ką minėti žmonės ir gyvūnai nuryja.
22. Panaudojimas pagal 21 punktą, besiskiriantis tuo, kad minėto AgEDTA yra pridedamas kiekis, pakankamas infekcijų prevencijai.

23. Panaudojimas pagal 21 punktą, besiskiriantis tuo, kad minėto AgEDTA yra pridedamas kiekis, mažesnis negu 20 ppm.
24. AgEDTA panaudojimas žmogaus ir gyvūnų infekcijų gydymui, besiskiriantis tuo, kad AgEDTA yra pridedamas kiekis, pakankamas pagerinti gijimą nuo minėtos infekcijos.
25. AgEDTA panaudojimas žmogaus arba gyvūno infekcijos gydymui, besiskiriantis tuo, kad yra nuriijamas mažiausiai vienas elementas, parinktas iš grupės, susidedančios iš AgEDTA, sidabro EDDS, sidabro kurkuminato, sidabro berberino ir sidabro tetraciklino.
26. AgEDTA panaudojimas žmogaus arba gyvūno odos paviršiaus gydymui, besiskiriantis tuo, kad pasta arba gelis yra sudaryti iš mažiausiai vieno elemento, parinkto iš grupės, susidedančios iš AgEDTA, sidabro EDDS, sidabro kurkuminato, sidabro berberino ir sidabro tetraciklino, ir minėta pasta arba gelis kontaktuoja su žmogaus arba gyvūno odos paviršiumi.
27. Gelio arba pastos produktas, apimantis mažiausiai vieną elementą, parinktą iš grupės, susidedančios iš AgEDTA, sidabro EDDS, sidabro kurkuminato, sidabro berberino ir sidabro tetraciklino.
28. Antibiotiko dozės veiksmingumo didinimo būdas, apimantis pridėjimą į minėtą antibiotiko dozę mažiausiai vienos medžiagos, parinktos iš EDTA ir AgEDTA.
29. Būdas pagal 28 punktą, besiskiriantis tuo, kad AgEDTA yra pridedama į minėtą antibiotiko dozę.
30. Kompozicijos pagal 11 punktą panaudojimas, besiskiriantis tuo, kad minėta kompozicija dar apima atrinktą antibiotiko dozę, kur minėtos atrinktos antibiotiko dozės pagrindą sudaro antibiotikai, pasižymintys mažiausiai tam tikru žinomu veiksmingumu prieš minėtą ligą.

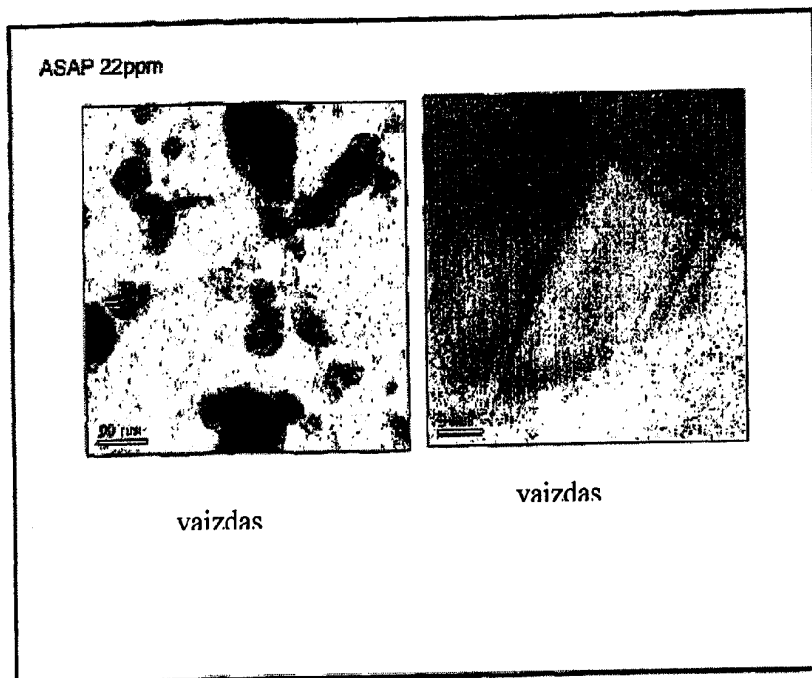
31. Kompozicija pagal 1 punktą, besiskirianti tuo, kad minėta kompozicija dar apima mažiausiai vieną medžiagą, parinktą iš grupės, susidedančios iš AgEDTA, sidabro EDDS, sidabro kurkuminato, sidabro berberino ir sidabro tetraciklino.



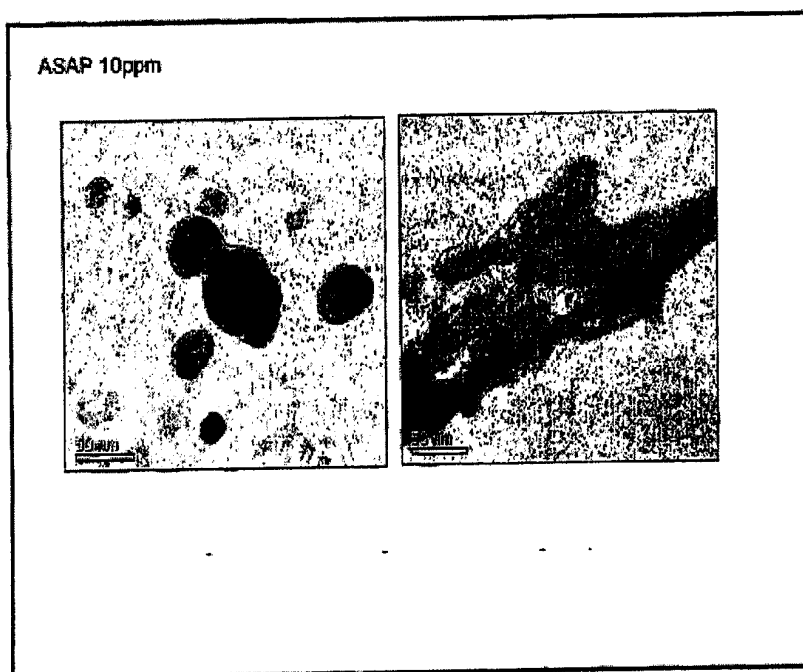
Figūra 1



Figūra 2

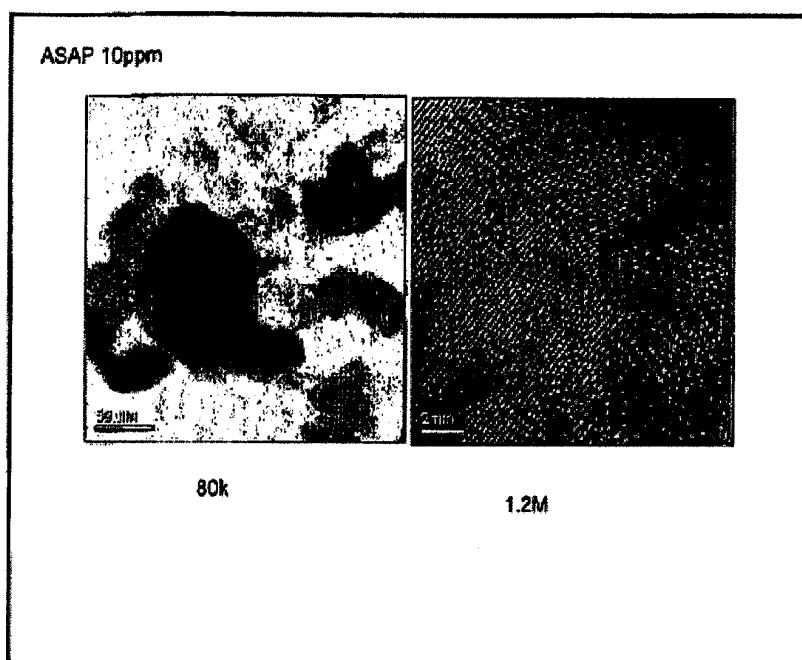


Figūra 3

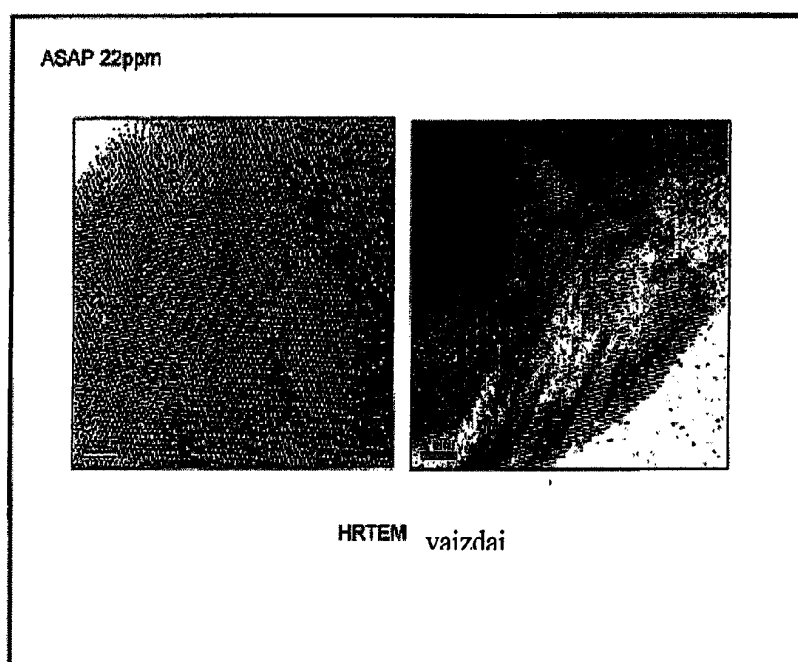


Figūra 4

TEM vaizdai, padaryti su mažu padidiniu, rodantys dalelių dydžius



Figūra 5



Figūra 6

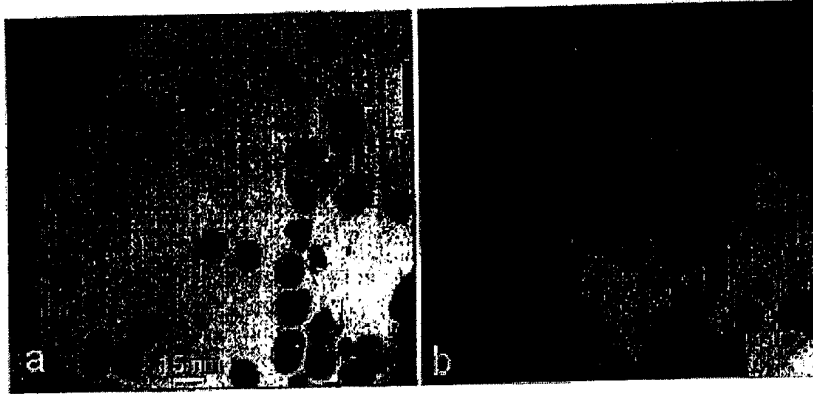


Figura 7a

Figura 7b

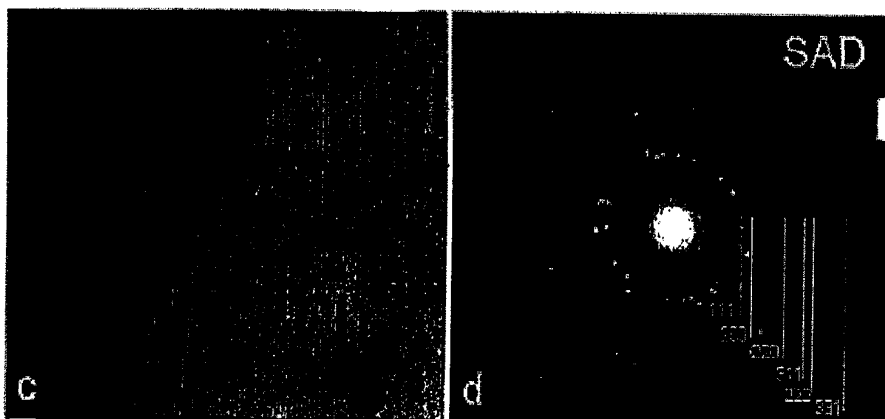
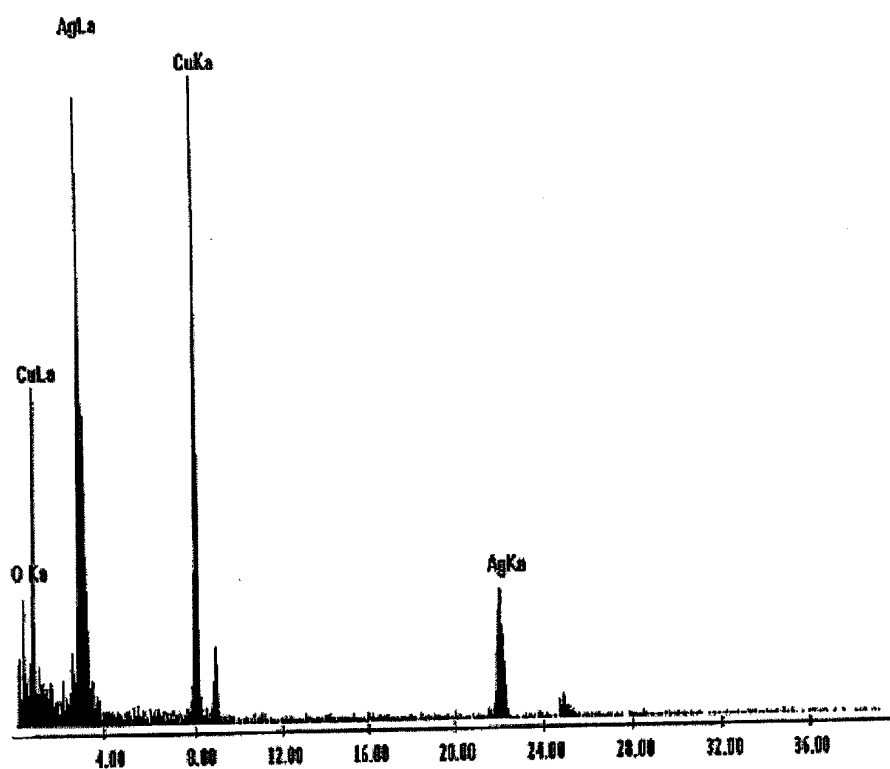


Figura 7c

Figura 7d

Sidabro nanodalelių EDAX spektras

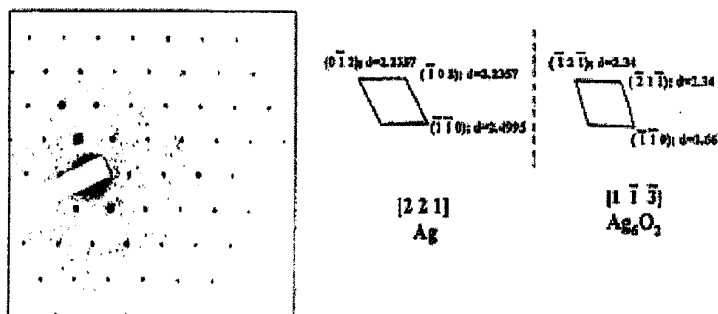


Ag, Cu ir O yra aptikti; deguonis ir varis yra iš TEM tinklelio

Figūra 7e

Visų 5 mėginių tipiškas elektronų difrakcijos modulis (1 arba 2 atsitiktiniai grūdėliai/mėginiai)

Indeksuoti moduliai turi dvi galimybes (fazes)



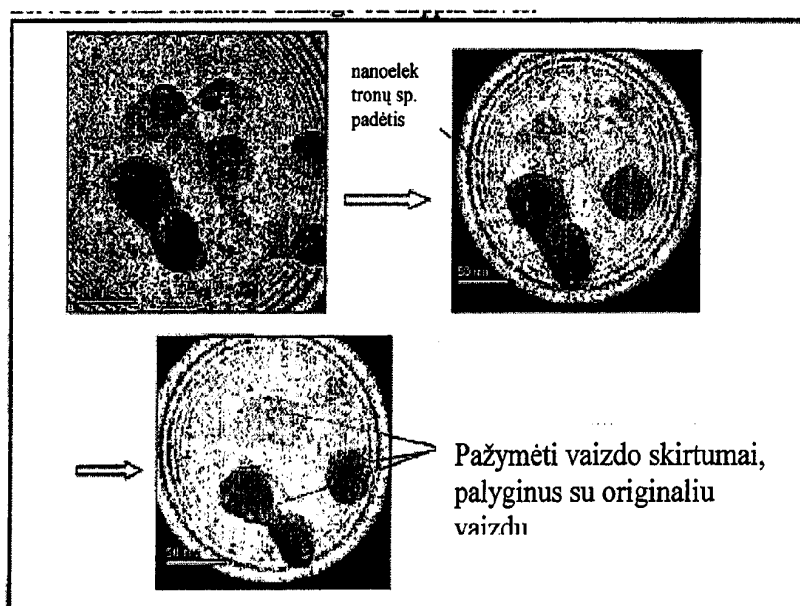
Dvi galimos fazės (d išsidėstymas Armstrongais)

Šešiakampis Ag; erdvinė grupė $P6_3/mmc$ (194)

Šešiakampis Ag_6O_3 ; erdvinė grupė $P-31m$ (162)

Figūra 8

22 ppm sidabro elektronų spindulio radiacinis pažeidimas



Figūra 9

LT 5643 B

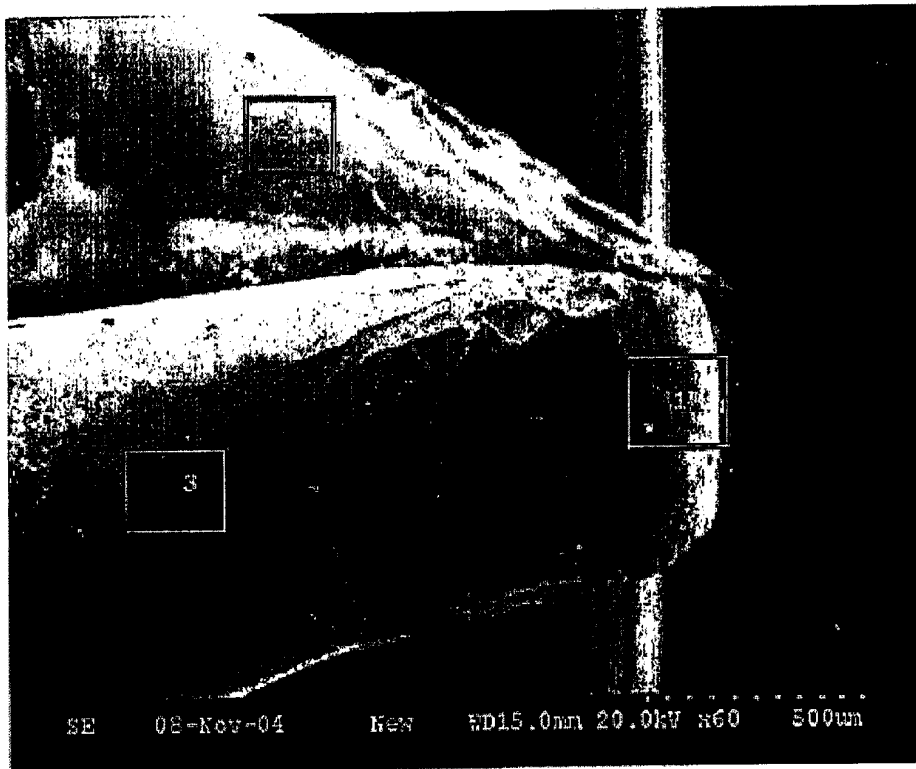
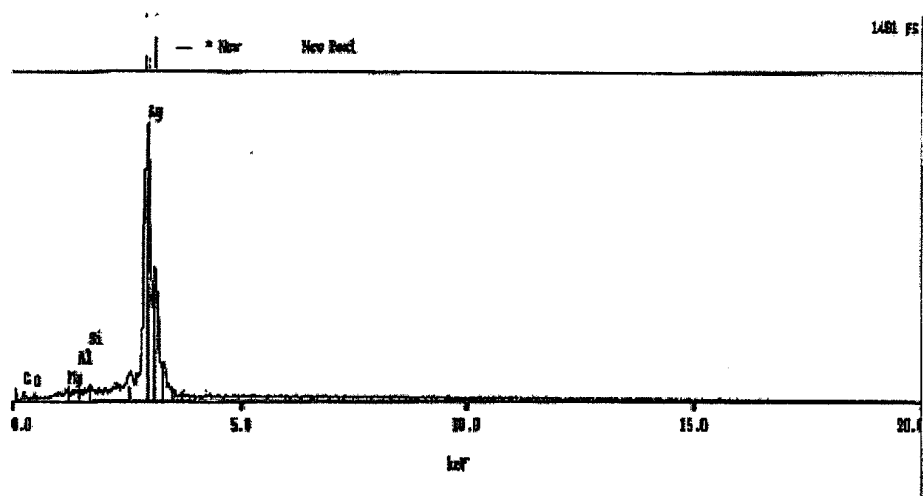
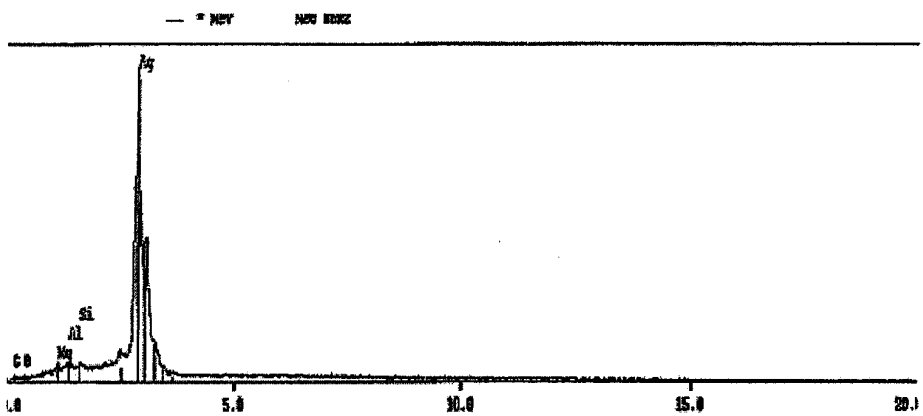


Figura 10



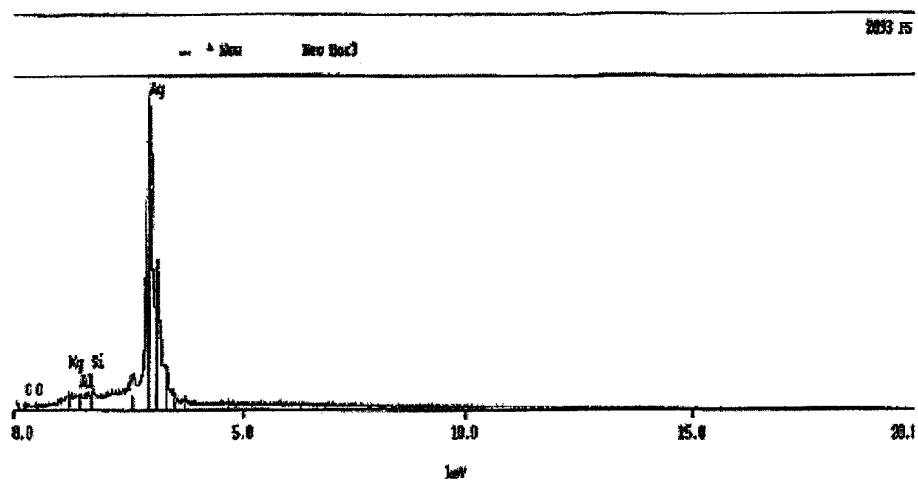
Naujos elektronų dėžutės 1 EDS elementinė analizė

Figūra 11



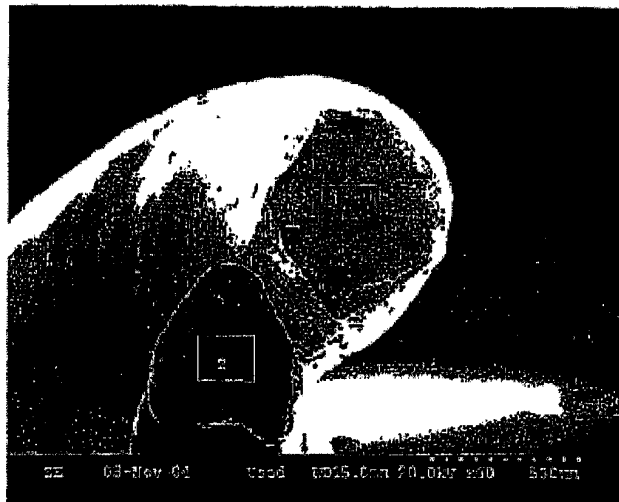
Naujos elektronų dėžutės 2 EDS elementinė analizė

Figūra 12



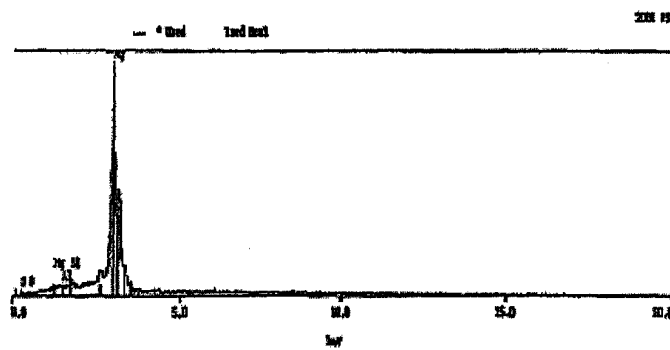
Naujos elektronų dežutės 3 EDS elementinė analizė

Figūra 13

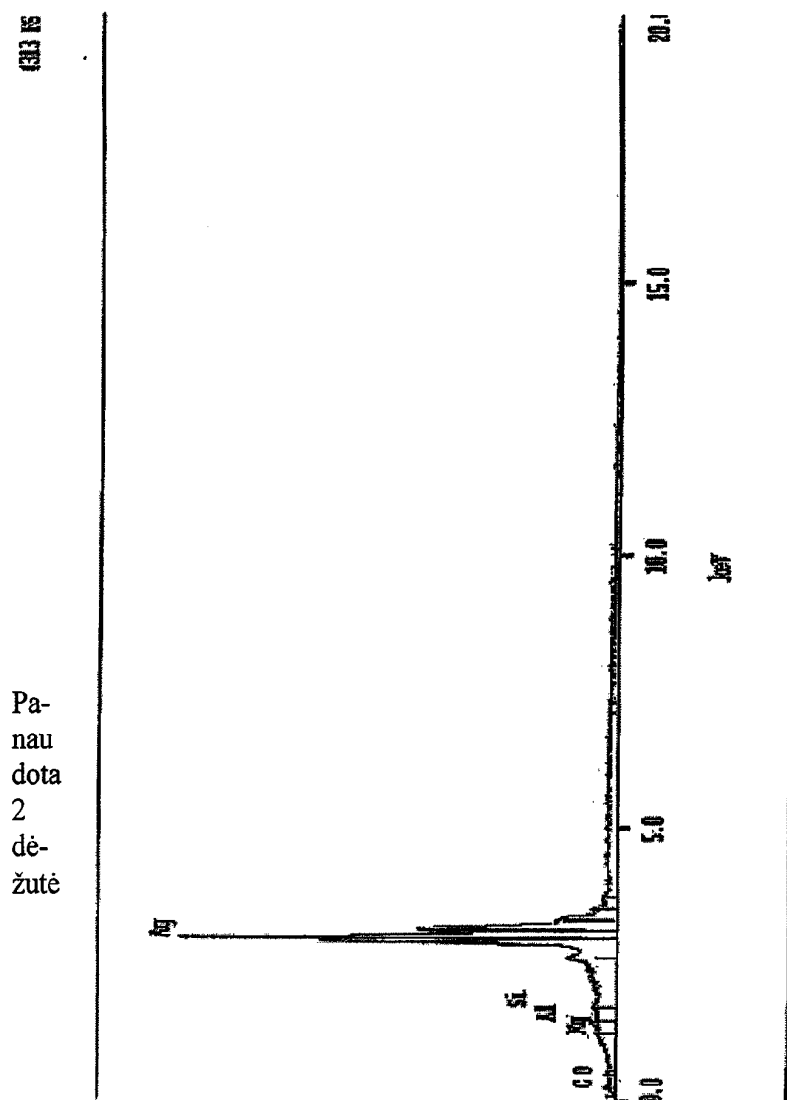


Panautoto elektrono tipas

Figūra 14



Figūra 15



Panaudotos elektronų dėžutės 2 EDS elementinė analizė

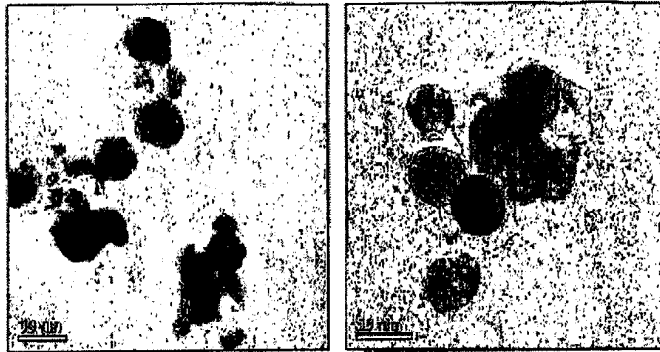
Figūra 16



Panaudotų elektrodų tipas prie 3500x padidinimo

Figūra 17

GNC skystas koloidinis sidabras



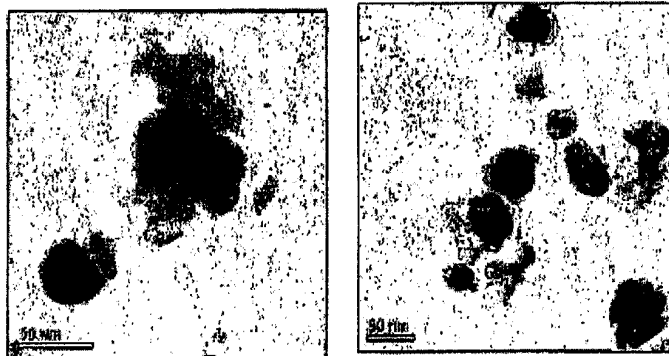
Vaizdas 1 50 k

Vaizdas 1 70k

TEM vaizdai, padaryti prie mažo padidinimo, rodantys dalelių dydžius 50nm intervale

Figūra 18a

GNC skystas koloidinis sidabras

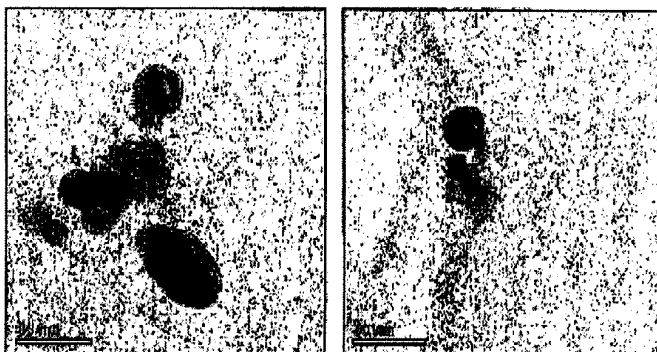


Vaizdas 8 80 k

Vaizdas 9 80k

Figūra 18b

Silverado koloidinis sidabras



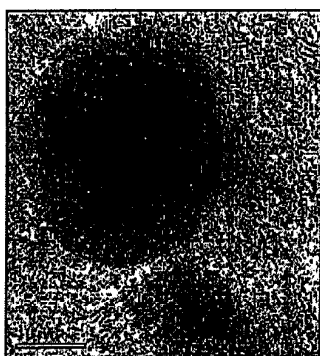
Vaizdas 1 80 k

Vaizdas 3 80k

**TEM vaizdai, padaryti prie mažo padidinimo, rodantys dalelių dydžius 30—70nm
intervale**

Figūra 19a

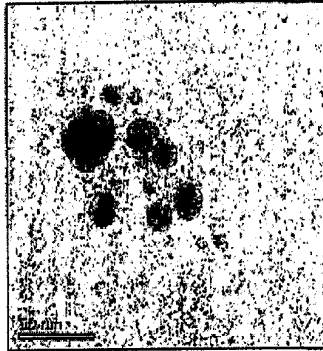
Silverado koloidinis sidabras



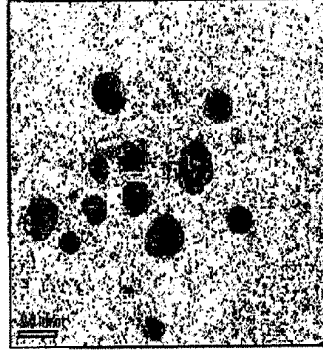
HRTEM vaizdas

Figūra 19b

Bioorganinis koloidinis sidabras



Vaizdas 9 80 k

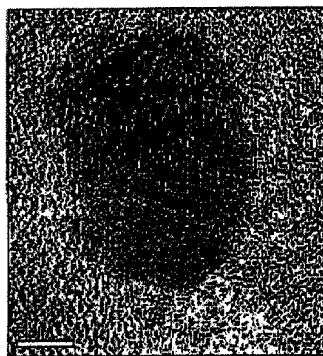


Vaizdas 5 100k

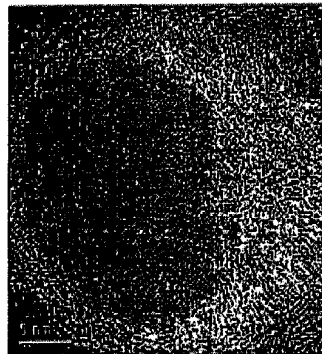
TEM vaizdai, padaryti prie mažo padidinimo, rodantys dalelių dydžius maždaug 20nm

Figūra 20a

Bioorganinis koloidinis sidabras



Vaizdas 4 600 k

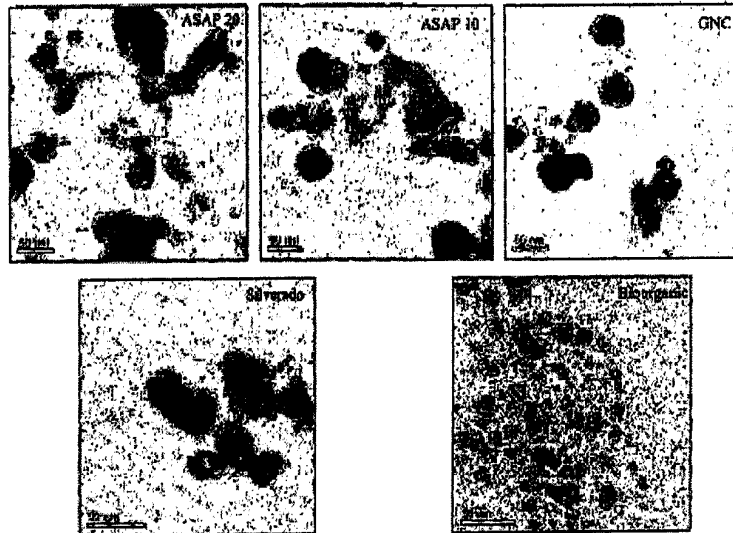


Vaizdas 8 600k

HRTEM sidabro dalelių vaizdai

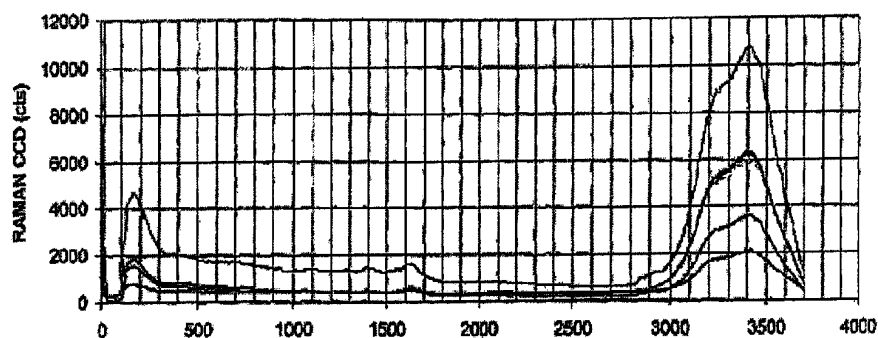
Figūra 20b

5 mėginių TEM vaizdų palyginimas prie 50nm ir 80nm



Figūra 21

Sidabro ir sidabro koloidų atitinkama Ramano mikrofotospektroskopija



Ramano poslinkis (santykinis bangos skaičius 1/cm)

WV (amorf. sidabras) mėginys 1 #

WV (amorf. sidabras) mėginys 1 #

AGX 32 mėginys 2 #

10 PSU (ASAP) mėginys 3 #

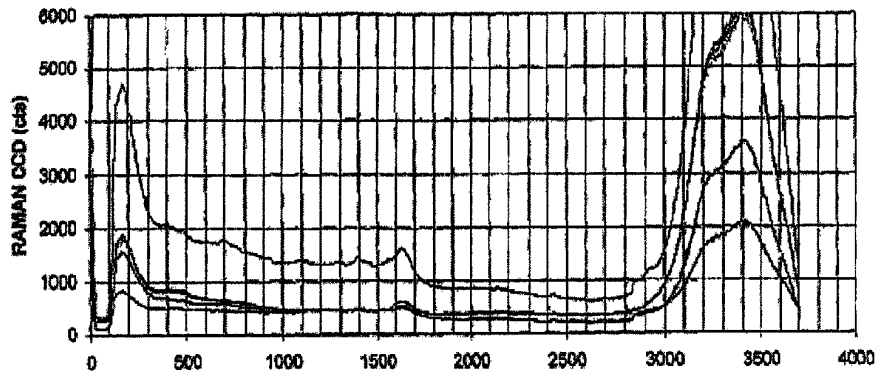
10 PR (ASAP) mėginys 3 #

GNC (silverado) mėginys 4 #

HPLC mėginys 5 #

Figūra 22a

Sidabro ir sidabro koloidų atitinkama Ramano mikrofotospektroskopija



Ramano poslinkis (santykiniš bangos skaičius 1/cm)

WV (amorf. sidabras) mėginys 1 #

WV (amorf. sidabras) mėginys 1 #

AGX 32 mėginys 2 #

10 PSU (ASAP) mėginys 3 #

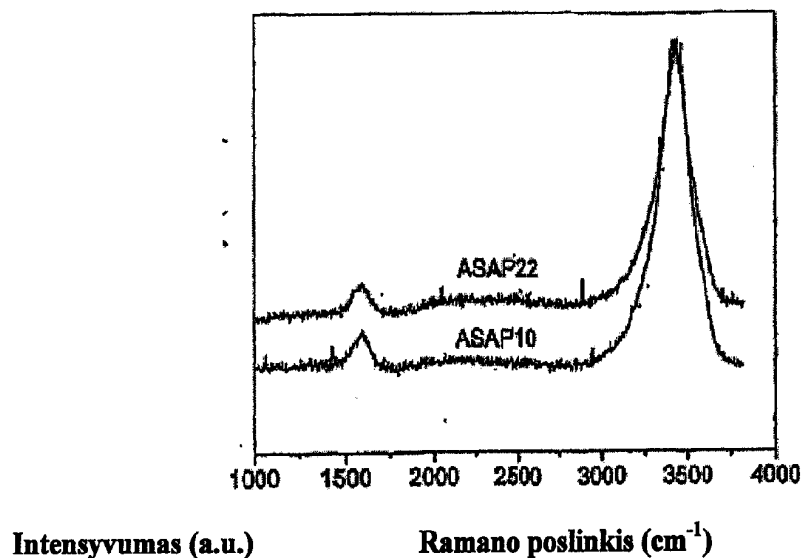
10 PR (ASAP) mėginys 3 #

GNC (silverado) mėginys 4 #

HPLC mėginys 5 #

Figūra 22b

ASAP 10 ir ASAP 22 Ramano spektras



ASAP tirpalų RT Ramano spektrai buvo gauti su CCD, sucentruotu

@ 1600 cm^{-1} $\Delta t = 900 \text{ s}$

@ 2500 cm^{-1} $\Delta t = 300 \text{ s}$

@ 3400 cm^{-1} $\Delta t = 300 \text{ s}$

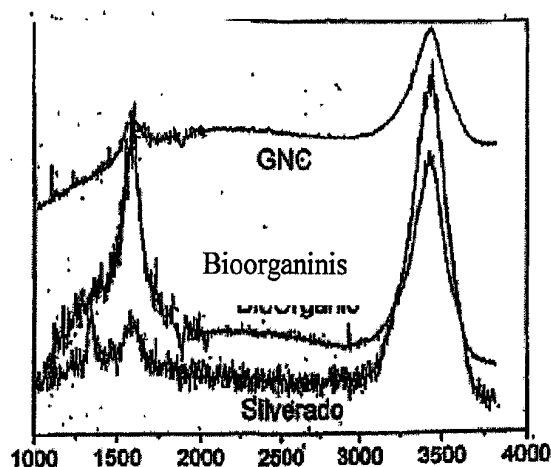
@ 4400 cm^{-1} $\Delta t = 300 \text{ s}$

siekiant uždengti nuo 1000—4000 cm^{-1}

Pikas prie $\sim 1600 \text{ cm}^{-1}$ ir platus pikas prie $\sim 3400 \text{ cm}^{-1}$ atitinka atitinkamai OH išlenktas ir ištęstas linijas. Pikas prie $\sim 1600 \text{ cm}^{-1}$ turi santykinai silpną intensyvumą, todėl integracijos laikas padidėjo iki 900 s. ASAP 22 spektras turi santykinai mažą natūralų foną, palyginius su ASAP 10.

Figūra 23a

GNC, Silverado ir bioorganinis Ramano spektras



Intensyvumas(a.u.)

Ramano poslinkis (cm^{-1})

Sidabro tirpalų Ramano spektrai buvo atlikti buteliukų tinklėlyje su CCD sucentruotu:

@ 1600 cm^{-1} $\Delta t = 900 \text{ s}$

@ 2500 cm^{-1} $\Delta t = 300 \text{ s}$

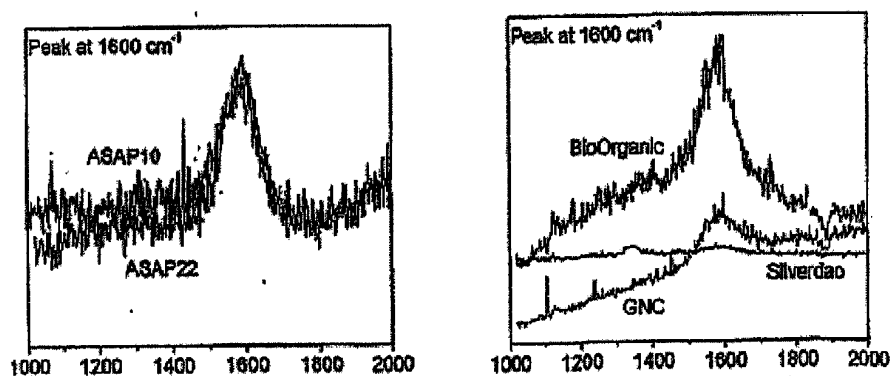
@ 3400 cm^{-1} $\Delta t = 300 \text{ s}$

@ 4400 cm^{-1} $\Delta t = 300 \text{ s}$

Aiškiai matyti žymus natūralus fonas GNC ir bioorganiniame spektruose dėl priemaišų poveikio. Pikas prie $\sim 1600 \text{ cm}^{-1}$ ir platus pikas prie $\sim 3400 \text{ cm}^{-1}$ atitinka atitinkamai OH išlenktas ir ištęstas linijas.

Figūra 23b

ASAP 10, ASAP 22, GNC, Silverado ir bioorganinis
Ramano spektrai ($1000\text{--}2000 \text{ cm}^{-1}$)



Intensy-

vumas (a.u.)

Ramano poslinkis (cm^{-1})

Intensy-

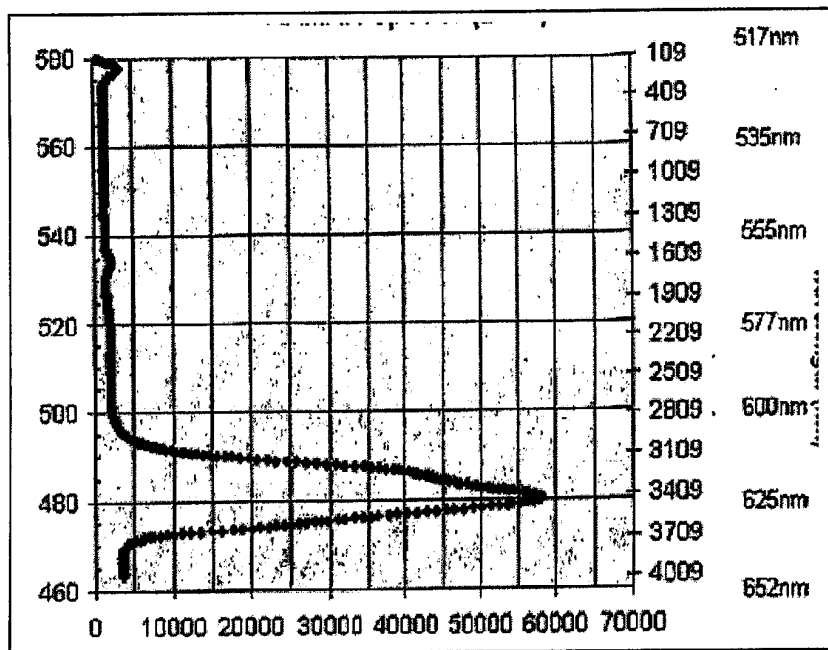
vumas (a.u.)

Ramano poslinkis (cm^{-1})

Aiškiai matyti žymus natūralus fonas GNC ir bioorganiniame spektruose tikriausiai dėl priemaišų poveikio. Papildomai pikai yra asimentiški, palyginus su ASAP tirpalais.

Figūra 23c

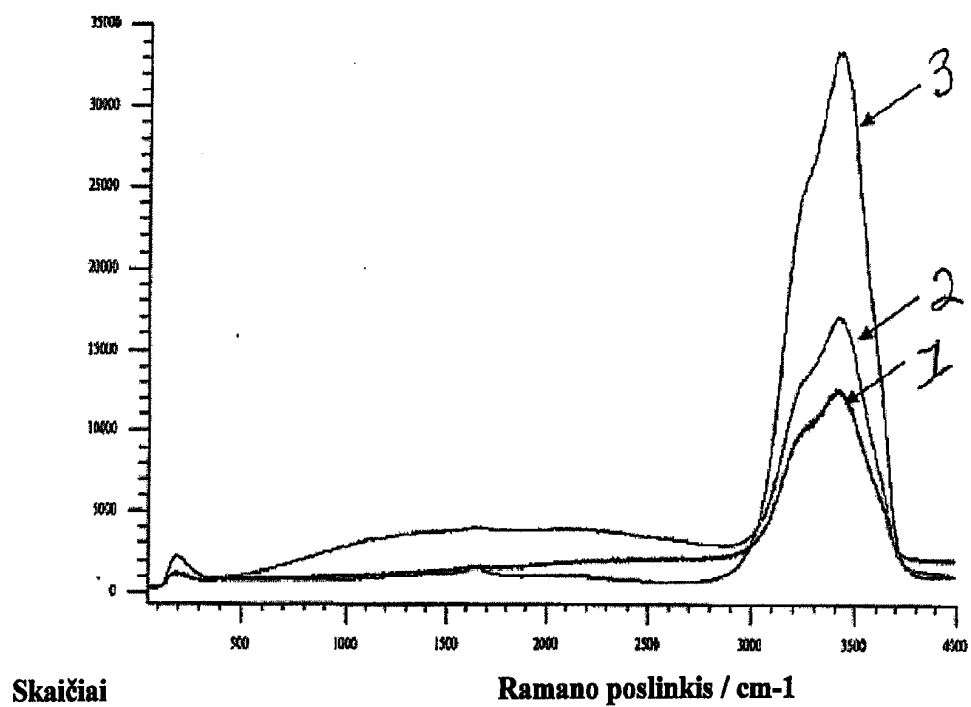
Ramano spektras LRHI



Dažnis (THz) Ramano intensyvumas (cts) Ramano Bangos
poslinkis ilgis (nm)

▪ 70-003-33a (33 val. apdorotas vanduo)

Figūra 24a



Figūra 24b

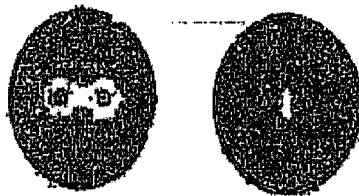
Autonomiškumas



Antagonizmas



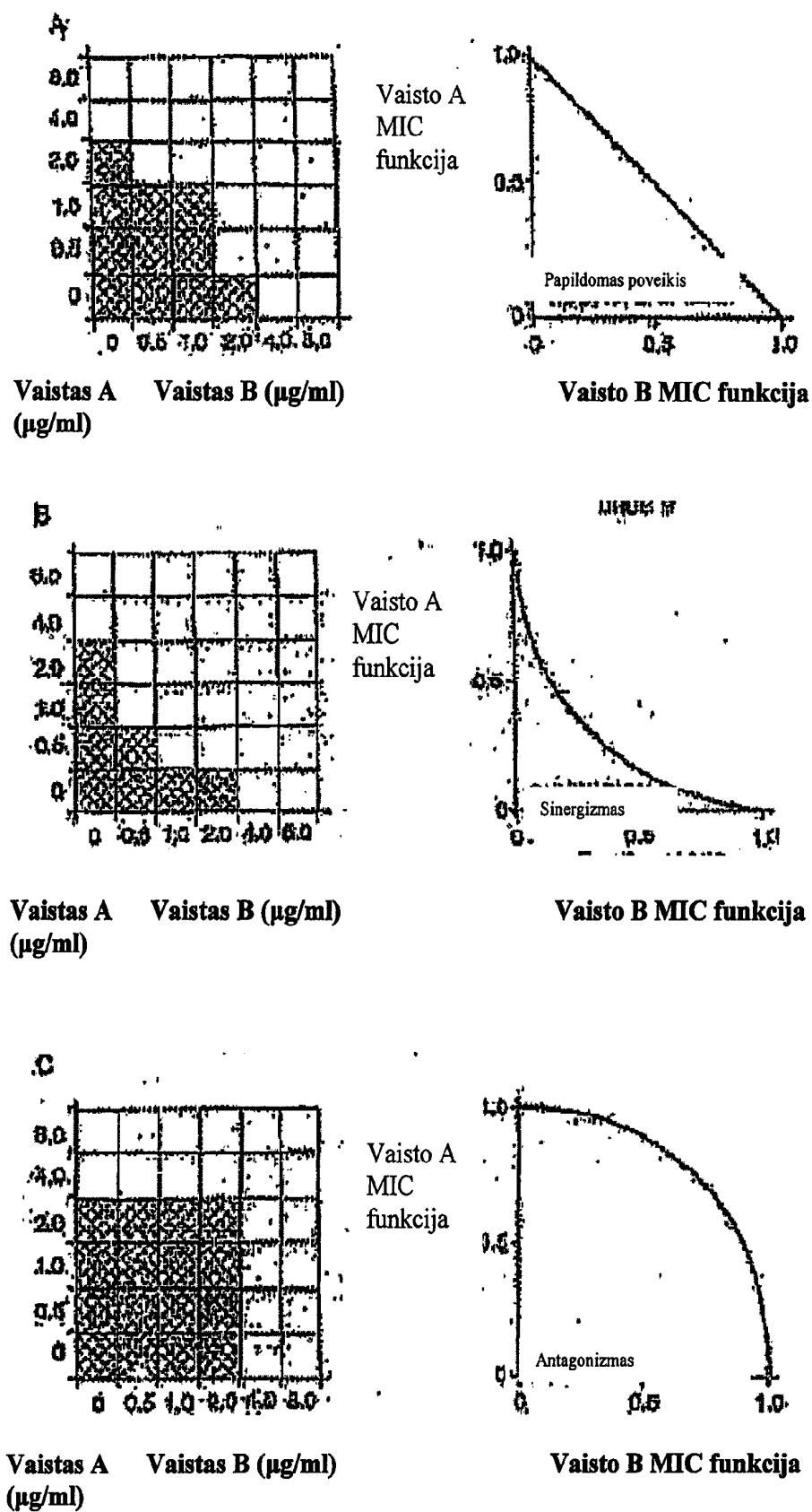
Sinergizmas



Bakterijų sinergijos galimų sąveikų diagramos disko funkcijos teste

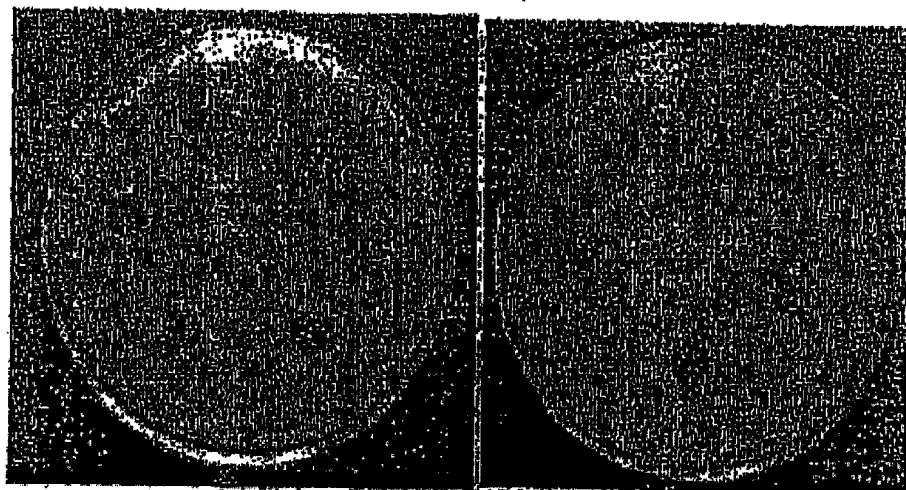
Figūra 25

Šachmatinis titravimas, skirtas antimikrobiniam sinergizmui



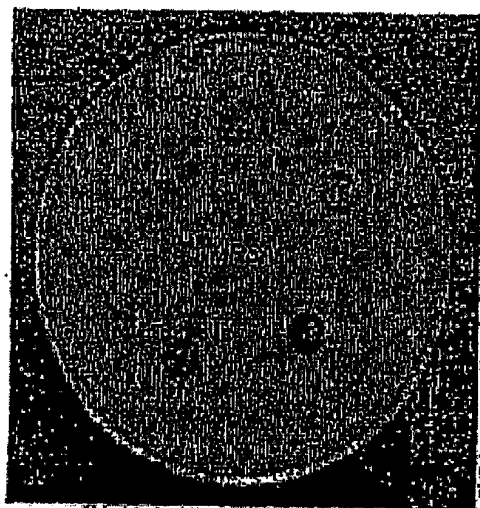
Figūra 26

1 MDR izoliatų jautrumas ASAP



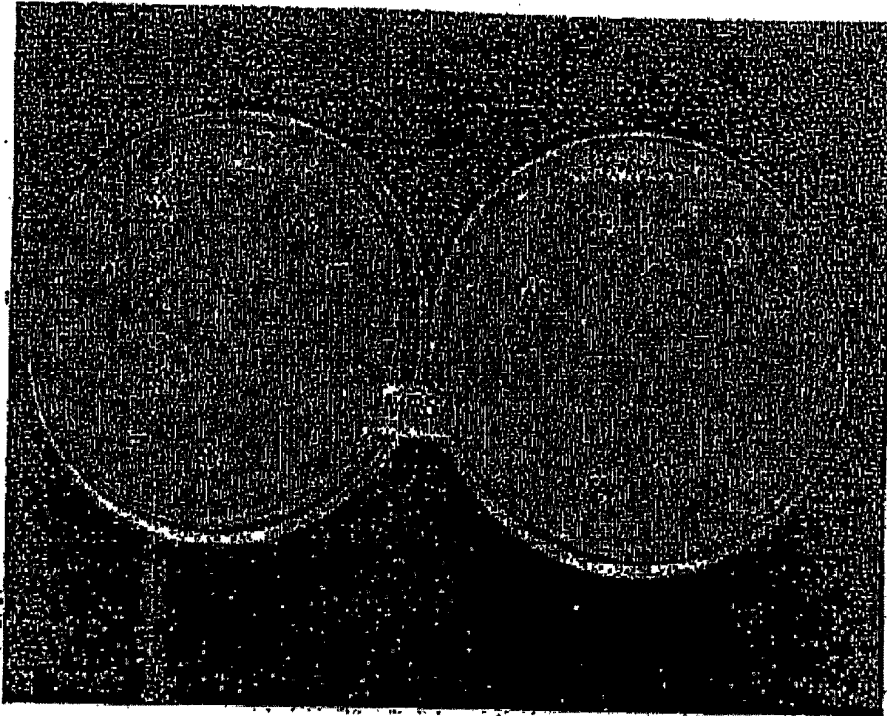
Nuotrauka 1a

Nuotrauka 1b



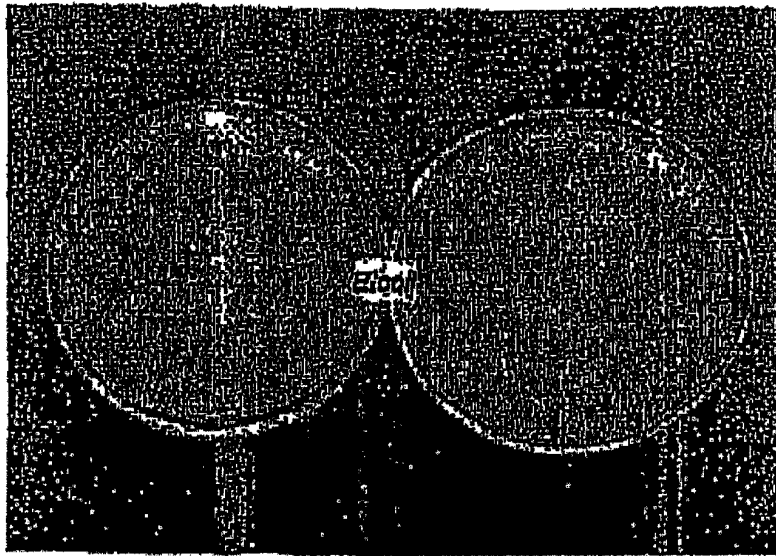
Nuotrauka 1c

Figūra 27



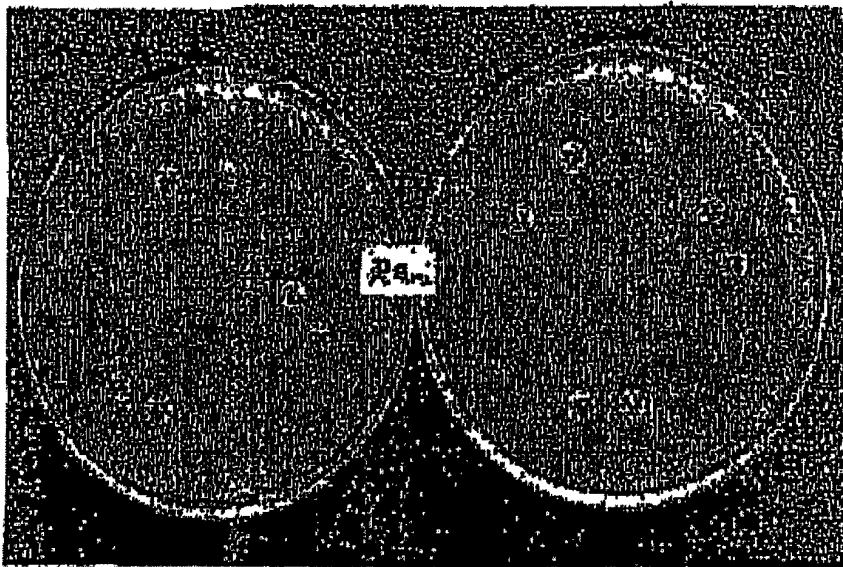
Antibiotiniai deriniai, skirti MRSA

Figūra 28



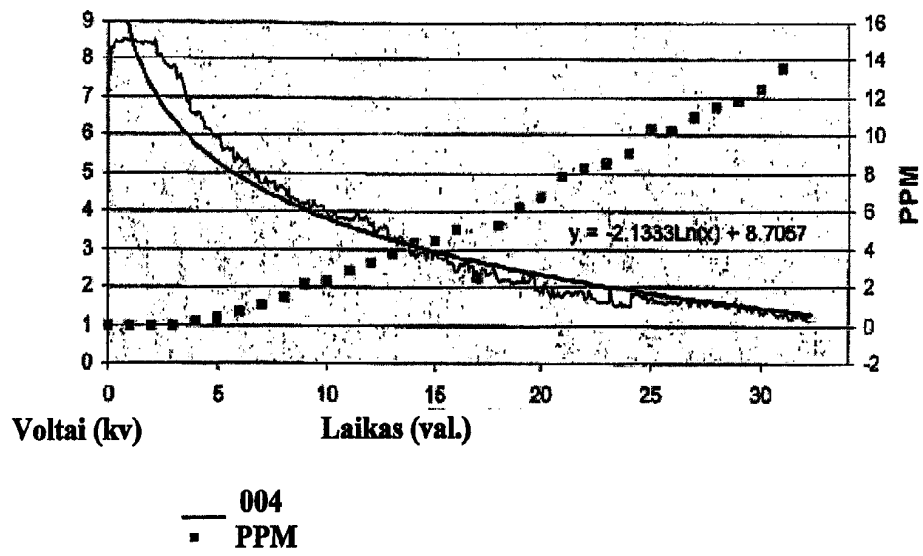
Antibiotiniai deriniai, skirti *E. coli*

Figūra 29

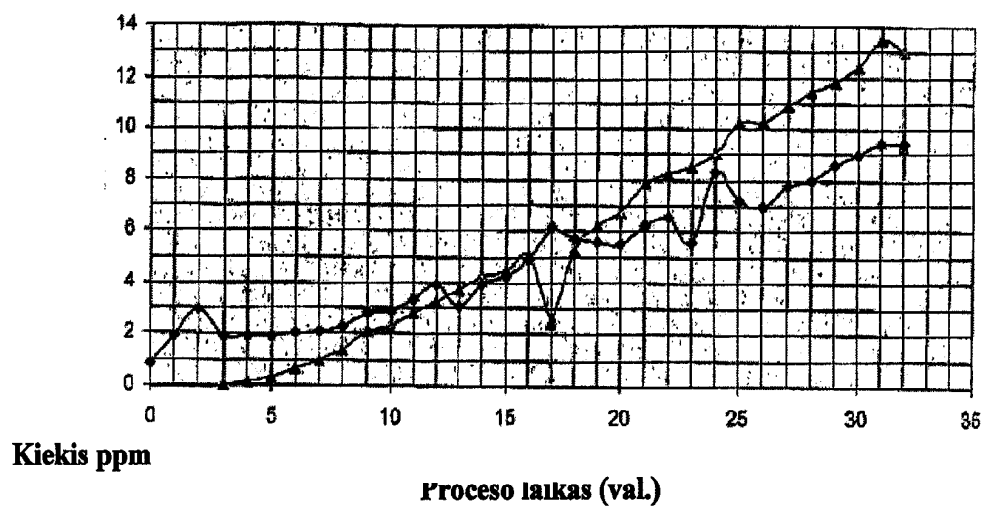


Antibiotiniai deriniai, skirti *Pseudomonas*

Figūra 30

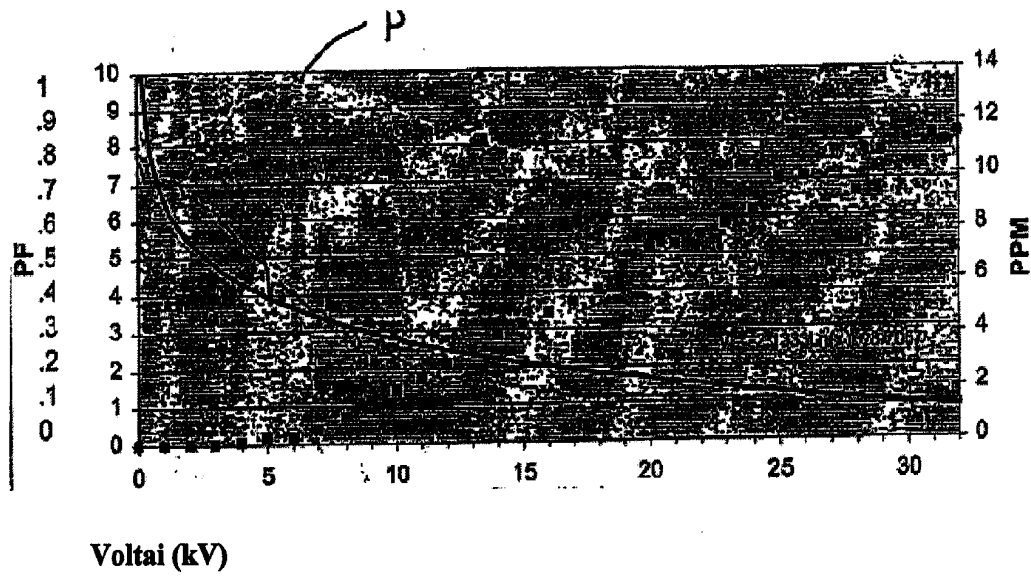


Figūra 31



- ◆— Konduktyvumas (ppm)
- ▲— Ag koncentracija-pradinis H₂O (ppm)
- Ag koncentracija-permaišytas (ppm)
- ✱— Ag koncentracija-pertetavimas (ppm)

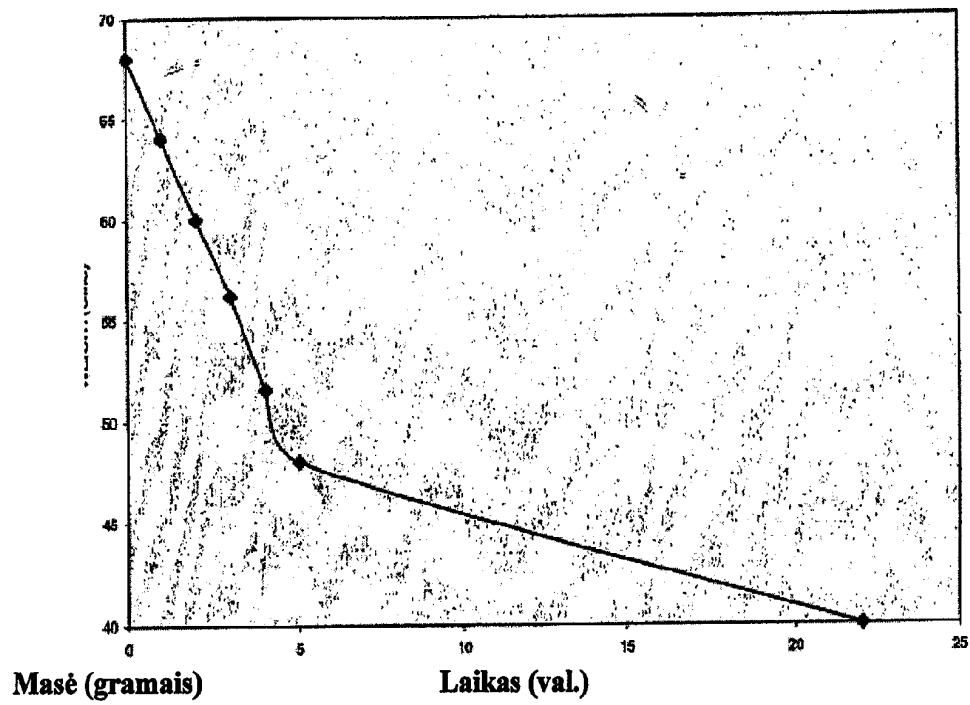
Figūra 32



Laikas (val.)
 — 005
PF
 ■ PPM

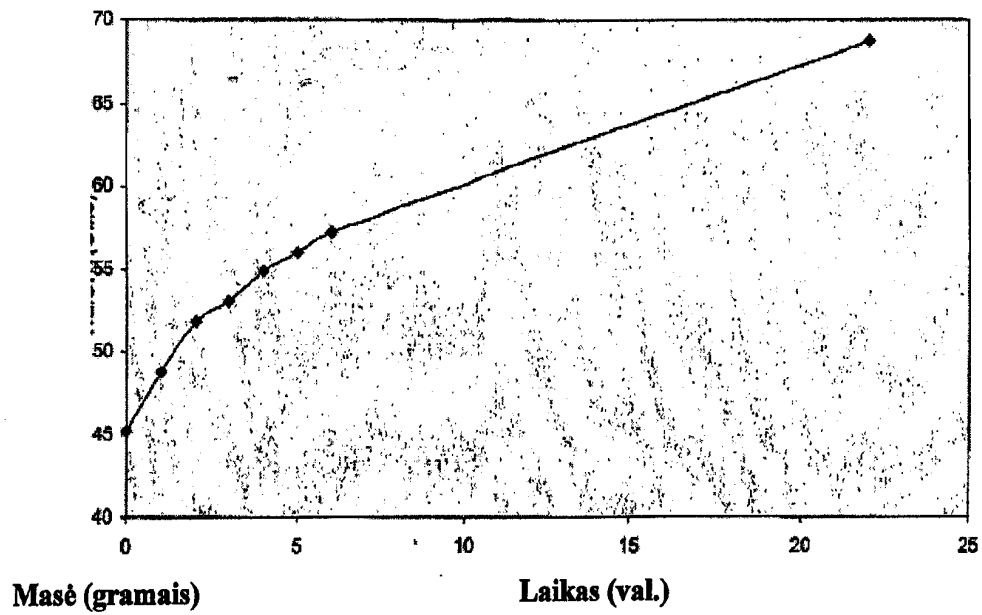
Figūra 33

Drēgmēs praradīmas



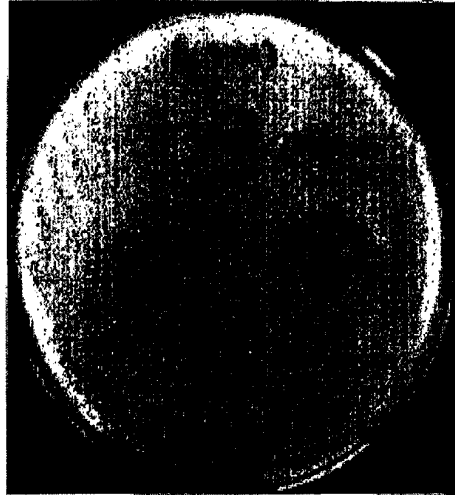
Figūra 34

Drēgmēs sugērimas



Figūra 35

Sidabro chelatų (Akzo) antibakterinis aktyvumas prieš *Pseudomonas aeruginosa* (MDR)



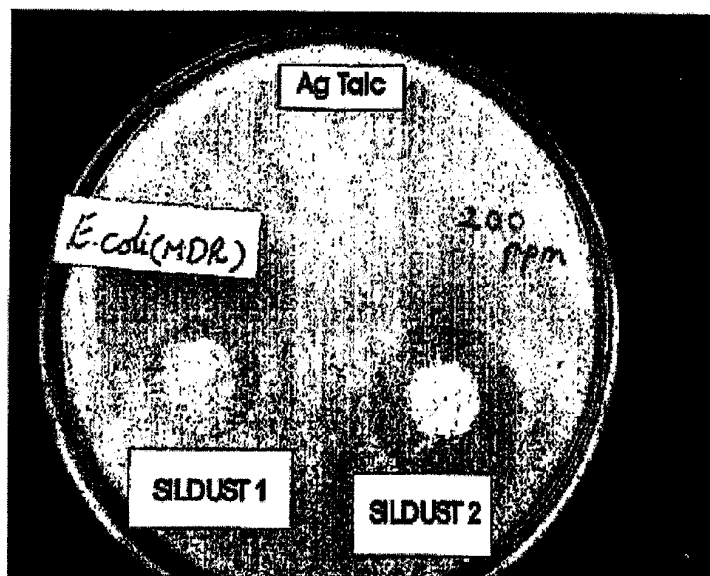
Figūra 36

Sidabro chelatų (ALPHA) antibakterinis aktyvumas prieš *Pseudomonas aeruginosa* (MDR)



Figūra 37

SILDUST jautrumas prieš E. coli (MDR)



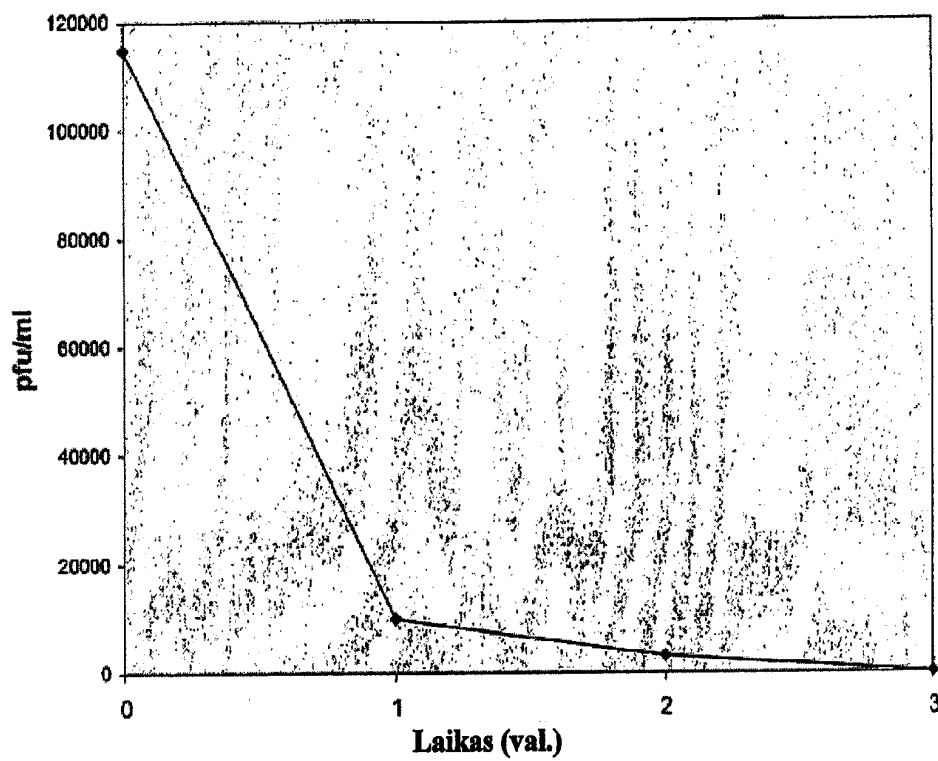
Figūra 38

Raktiniai žodžiai:

SILDUST 1—200 ppm sidabro talko + 50 ppm gentamicino

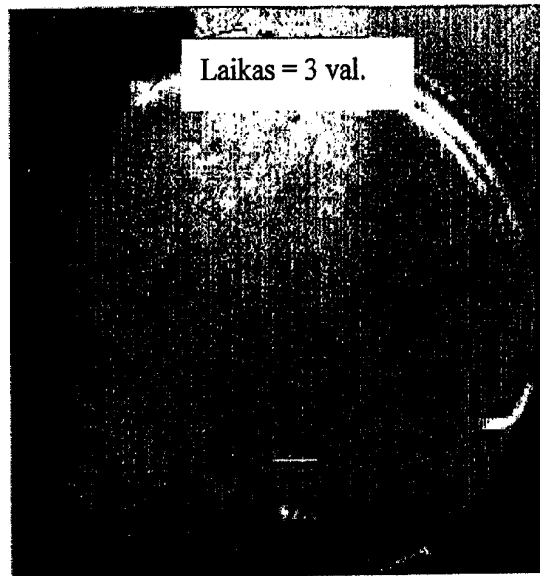
SILDUST 2—200 ppm sidabro talko + 100 ppm gentamicino

SILDUST antivirusinis aktyvumas



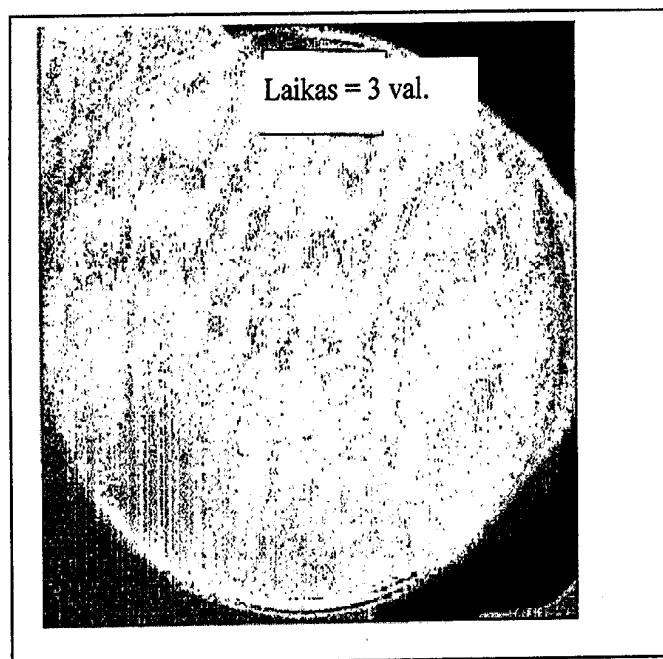
Figūra 39

Kontrolinis, rodantis bakterijas

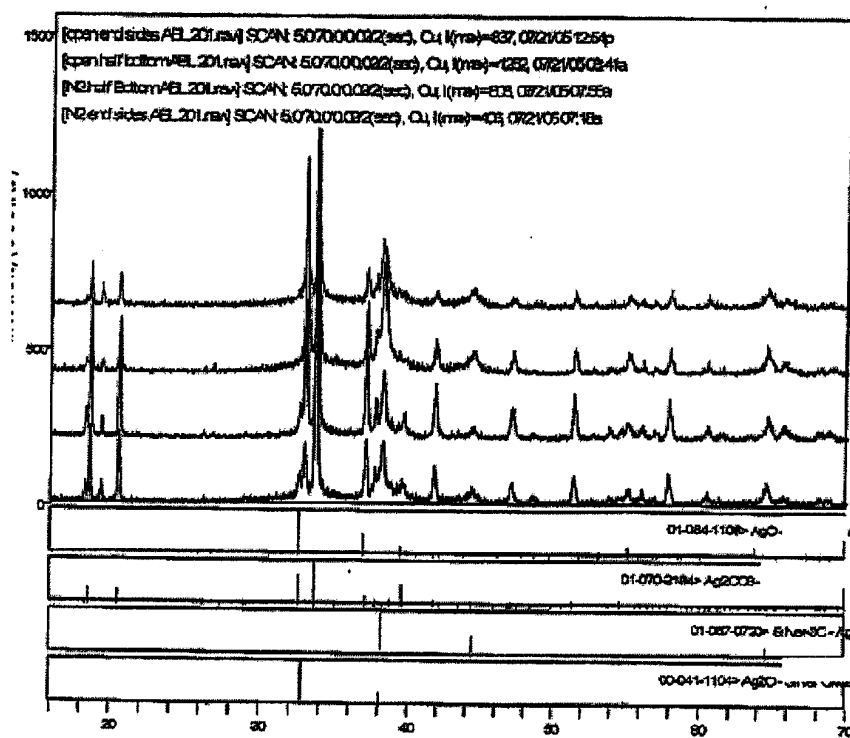


Figūra 40

Tyrimo lėkštelė, nerodanti bakterijų po 3 val.



Figūra 41



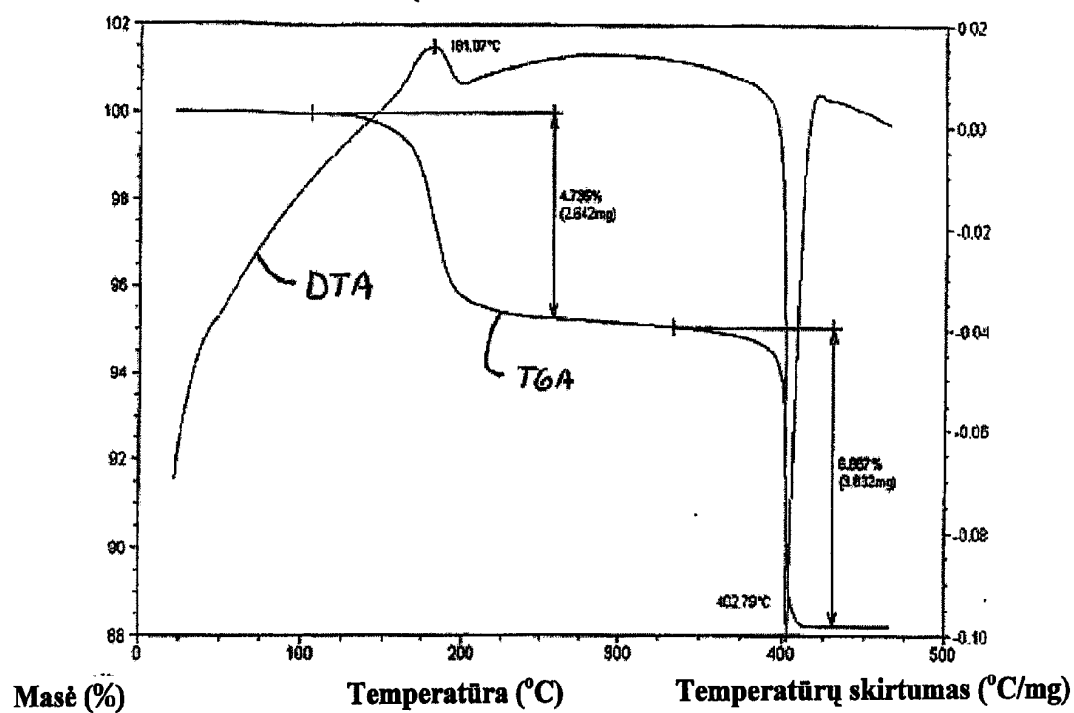
Intensyvumas (skaičiai)

Du-teta (laipsniai)

Rentgeno spinduliuotės difrakcijos moduliai – ABL 200 ppm išdžiovinto N₂ aplinkoje

Figūra 42

TGA—DTA

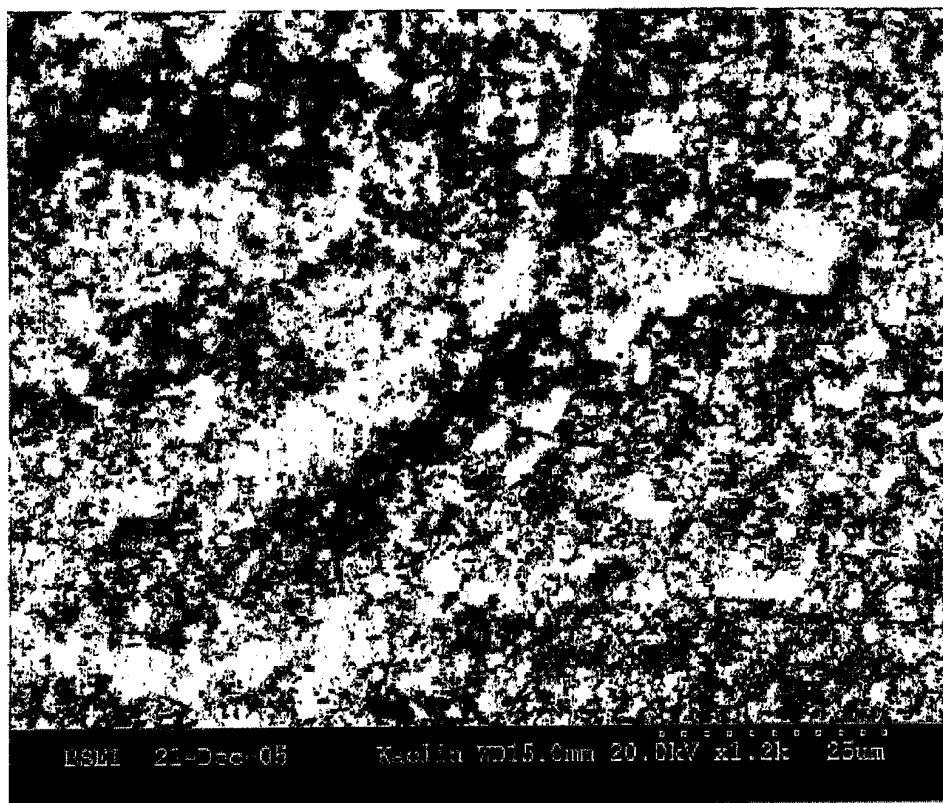


Figūra 43

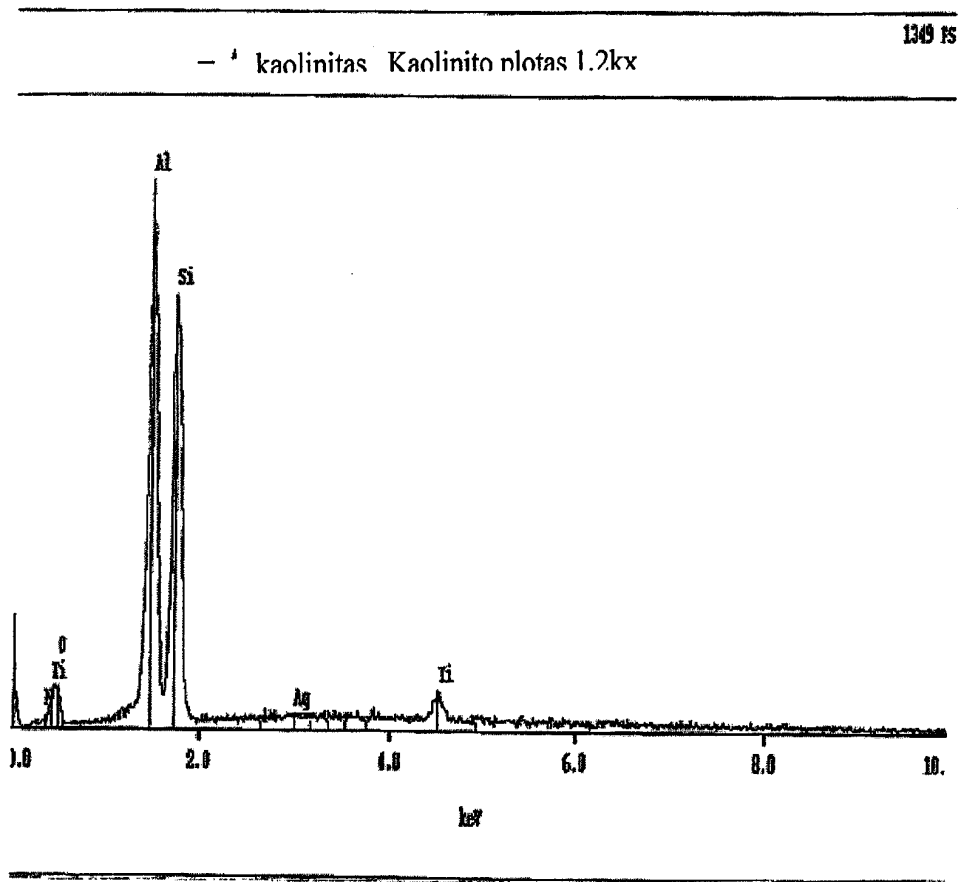
LT 5643 B



Figura 44a



Figūra 44b



Figūra 45a

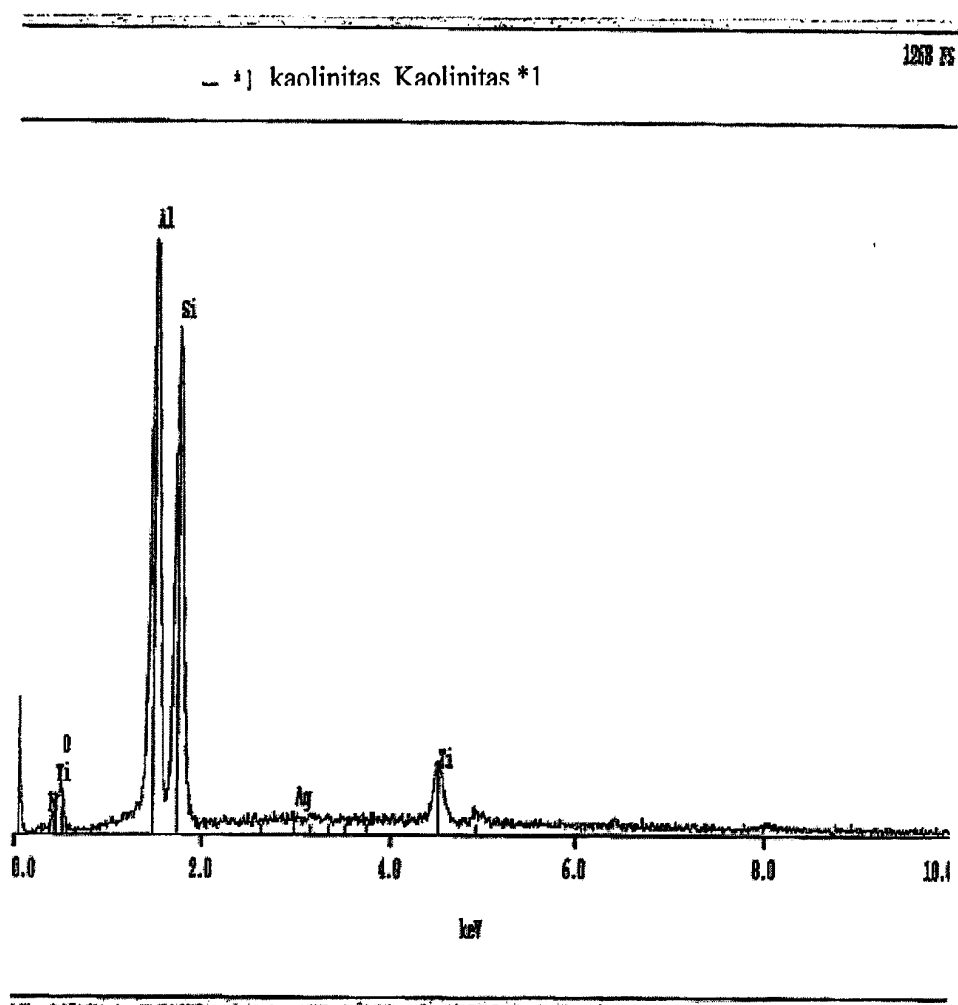
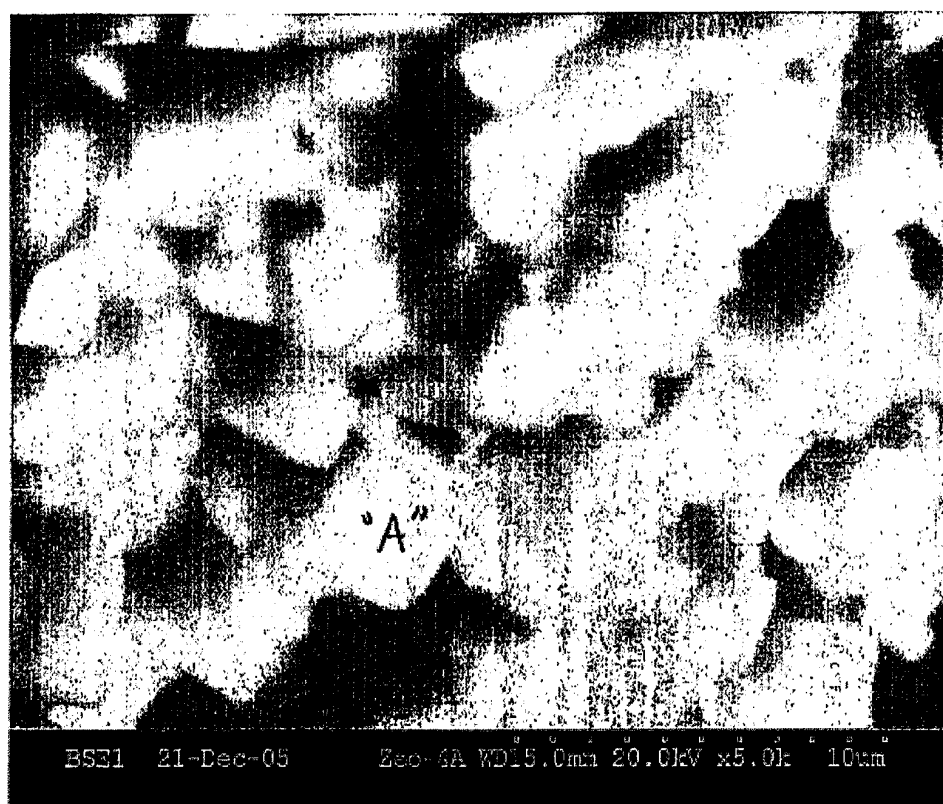


Figura 45b



Figūra 46

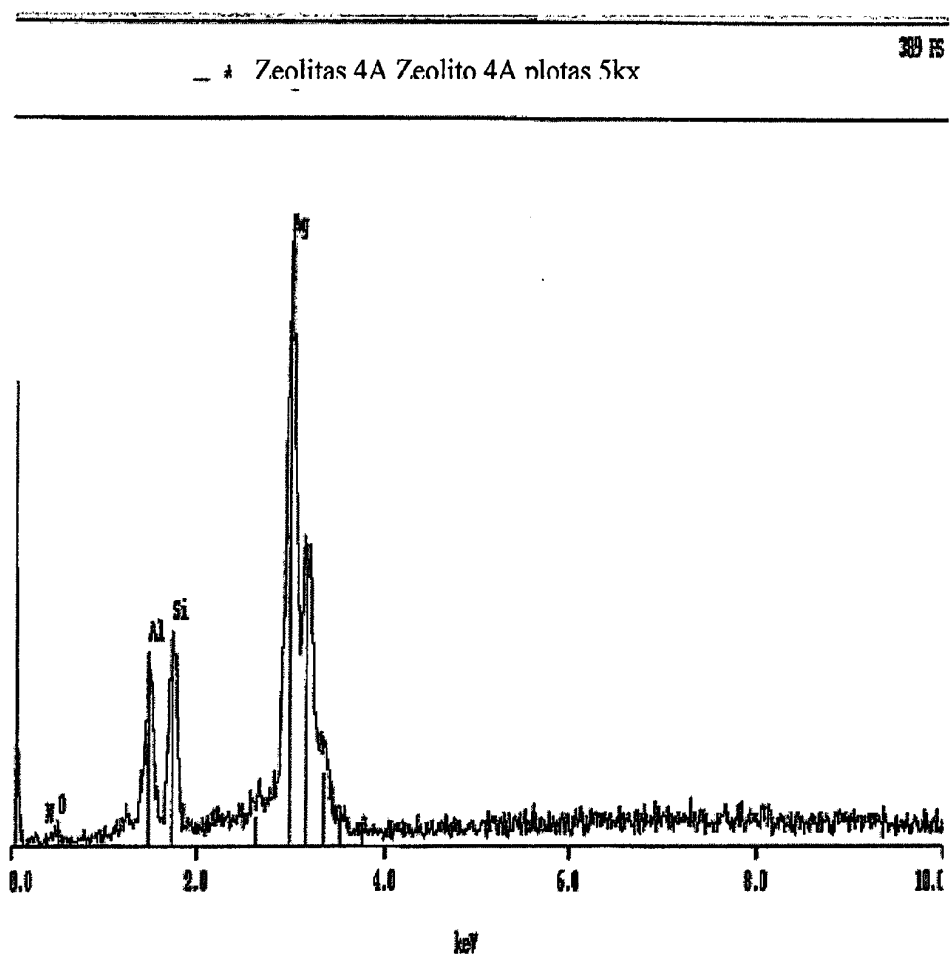
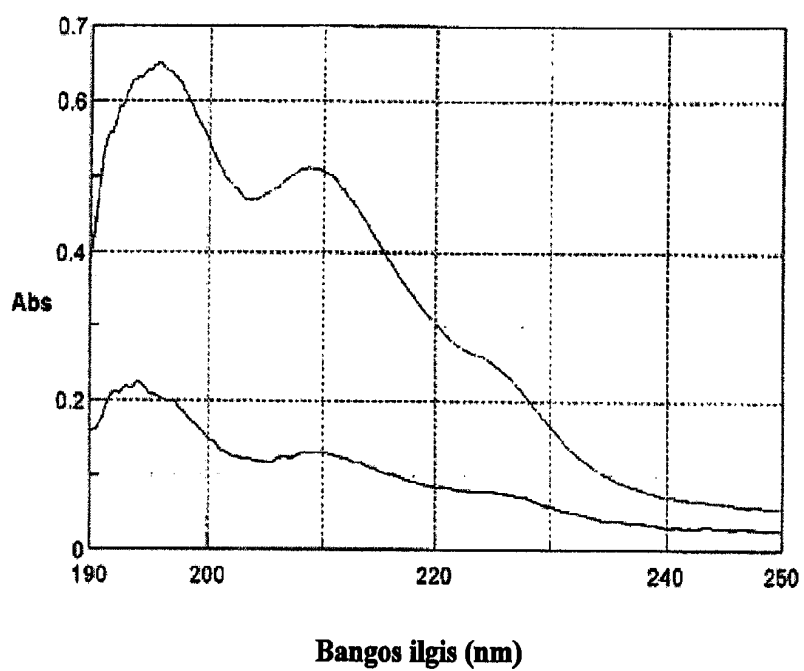
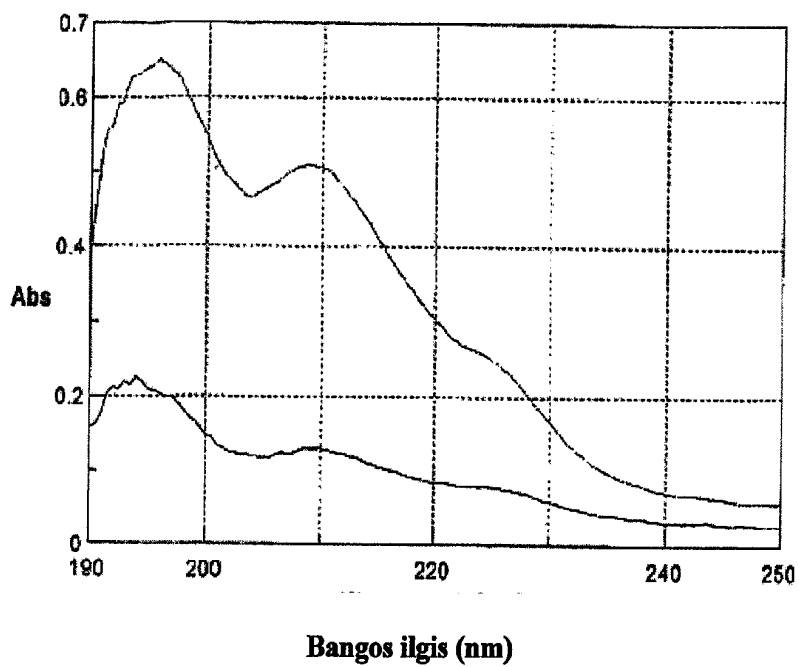


Figura 47

LT 5643 B



Figūra 48a



Figūra 48b

