

АНОТАЦІЯ

Миронов П. Ф. Ефективність лікування гнійної хірургічної інфекції наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком (експериментальне дослідження) – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 222 – «Медицина». – Сумський державний університет МОН України, Суми, 2021.

Сумський державний університет, Суми, 2021.

Дисертація присвячена дослідженню ефективності поєданого застосування наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку при лікуванні гнійної хірургічної інфекції.

Хірургічна інфекція шкіри та м'яких тканин в наш час займає одне з перших місць в структурі хірургічної захворюваності і складає 30-45 %. Незважаючи на дотримання принципів асептики і антисептики, розвиток малоінвазивних технологій, широке застосування антибактеріальних препаратів, кількість хворих з гнійними рановими процесами не має тенденції до зменшення, а частота хірургічної інфекції залишається стабільно високою і займає третє місце у структурі всіх внутрішньо-лікарняних інфекцій.

Викликає занепокоєння велика кількість післяопераційних гнійних ускладнень, яка після умовно «чистих» операцій становить 3-15 %, та від 5 до 30 % – після операцій з гострою хірургічною патологією. Летальність при таких захворюваннях як некротичний целюліт і фасціїт сягає 50 %, а при септичних станах може досягати 60 %. Останнім часом ситуація ускладнилася зростанням числа полірезистентних патогенних мікроорганізмів, стійких не лише до антибіотиків, але і до антисептиків.

Вивчення біологічних і фізичних властивостей низькочастотного ультразвуку призвело до його широкого використання в хірургії. Ультразвукова хірургічна обробка гнійних ран створила гарну доказову базу протягом

останніх 50-ти років і може стати методом вибору завдяки малому травматизму, скороченню термінів лікування, відсутністю побічних ефектів та є економічно обґрунтованою. Низькочастотний ультразвук суттєво прискорює терміни очищення рани від фібрину та некротичних тканин, підсилює дію багатьох антибіотиків і антисептиків, сприяє депонуванню медикаментів у поверхневих шарах ран, стимулює внутрішньоклітинний біосинтез і регенеративні процеси, покращує мікроциркуляцію, підвищує фагоцитарну активність лейкоцитів.

За останні два десятиліття значно зросло застосування наноматеріалів для загоєння ран та профілактики інфекцій. Особливу увагу привертають наночастинки срібла, які, за рахунок збільшення хімічного потенціалу, великої питомої поверхні, високої проникаючої здатності і адсорбційної активності, володіють широким антибактеріальним спектром дії як проти грамнегативної, так і грампозитивної мікрофлори та не викликають резистентності у мікроорганізмів. Наночастинки срібла здатні створювати стійкий антибактеріальний ефект та водночас мають протизапальні властивості, що дозволяє використовувати їх у якості антисептичного засобу та у складі перев'язувального матеріалу.

Метою роботи було експериментальне обґрунтування поєданого застосування наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку при лікуванні гнійної хірургічної інфекції.

Відповідно до поставлених задач використовувались такі методи дослідження: загальноклінічні, планіметричні, морфометричні, бактеріологічні, гістологічні, цитологічні, статистичні, атомно-емісійну спектроскопію з індуктивно зв'язаною плазмою, просвічуючу електронну мікроскопію, атомно-абсорбційну спектроскопію, растрову електронну мікроскопію, енергодисперсійну рентгенівську спектроскопію.

В мікробіологічних дослідженнях були вивчені антимікробні властивості наночастинок срібла та їх поєданого застосування з низькочастотним ультразвуком проти збудників гнійної хірургічної інфекції.

Цитотоксичні властивості наночастинок срібла були досліджені на культурі клітин дермальних фібробластів.

Експериментальне дослідження *in-vivo* було проведене на 240 білих нелінійних лабораторних щурах-самцях. Усі лабораторні тварини були розподілені на контрольну (лікування 0,05 % розчином Хлоргексидину, 60 щурів) та експериментальну (180 щурів) серії, кожна з яких була поділена на дві групи: гострі гнійні рани та гнійні рани, що тривалий час не загоюються. В кожній експериментальній групі виділяли по 3 підгрупи: лікування наночастинами срібла (30 щурів), низькочастотним ультразвуком з частотою $26,5 \pm 1,98$ кГц (30 щурів), та наночастинами срібла в поєднанні з низькочастотним ультразвуком (30 щурів).

Експериментальну гостру гнійну рану створювали шляхом підшивання марлевого тампону на 72 год з сумішшю добових культур мікроорганізмів *S. aureus* (1,0 мл), *E. coli* (1,0 мл) та *P. aeruginosa* (1,0 мл) з концентрацією кожного по 5×10^9 КУО/мл. Моделювання гнійних ран, які тривало не загоюються, створювали шляхом підшивання марлевого тампону на 10 діб (з заміною на третю та шосту добу) з сумішшю добових культур мікроорганізмів *S. aureus* (1,0 мл), *E. coli* (1,0 мл) та *P. aeruginosa* (1,0 мл) з концентрацією кожного по 5×10^9 КУО/мл.

З метою оцінки бактерицидного ефекту наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку вивчали якісний та кількісний склад мікрофлори ран на 1-шу, 3-тю, 5-ту, 7-у, 10-ту, 14-ту та 21-шу добу експерименту.

Для оцінки ефективності лікування враховували терміни очищення ранових поверхонь від гнійно-некротичних тканин, терміни появи грануляцій, крайової епітелізації та повного загоєння ран.

Планіметричні дослідження динаміки ранового процесу виконували на 1-шу, 3-тю, 7-у, 14-ту та 21-шу добу експерименту. В ці ж терміни проводили цитологічне дослідження мазків відбитків за методикою М. П. Покровської та М. С. Макарова у модифікації Д. М. Штейнберга та гістологічне дослідження

тканин ранового дефекту.

Синтезовані наночастинки срібла, розмірами 25-60 нм, виявили високу антимікробну активність проти грампозитивних та грамнегативних збудників гнійної хірургічної інфекції *in vitro* та *in vivo*. Мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) наночастинок срібла коливалась в межах від 12,5 мкг/мл до 25 мкг/мл, а мінімальна бактерицидна концентрація (МБК) – від 12,5 мкг/мл до 50 мкг/мл. Поєднане застосування наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку дозволило різко скоротити бактеріостатичну та бактерицидну концентрації наночастинок срібла: для *S. aureus* та *P. aeruginosa* МІК зменшилася до 0,05 мкг/мл, для *E. coli* – до 0,4 мкг/мл, для *K. pneumoniae* – до 0,8 мкг/мл, для *P. vulgaris* – до 0,2 мкг/мл, для *S. pyogenes* – до 0,1 мкг/мл, для *C. albicans* – до 0,012 мкг/мл; МБК для *E. coli* та *P. vulgaris* складала 0,8 мкг/мл, *S. aureus* – 0,1 мкг/мл, *C. albicans* – 0,05 мкг/мл, *K. pneumoniae* – 1,6 мкг/мл, *S. pyogenes* – 0,4 мкг/мл, *P. aeruginosa* – 0,2 мкг/мл. Поєднане застосування наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку прискорювало швидкість елімінації збудників та покращувало антибіоплівкову активність наночастинок срібла.

На культурі клітин дермальних фібробластів не спостерігалось цитотоксичної дії наночастинок срібла через 72 год при концентраціях нижче 3,2 мкг/мл, та через 24 год – при концентраціях наночастинок срібла нижче 6,4 мкг/мл. Ефективна антимікробна концентрація наночастинок срібла у поєднанні з низькочастотним ультразвуком ($26,5 \pm 1,98$ кГц) не перевищувала допустимих цитотоксичних значень, що дозволяє застосовувати наночастинки срібла при лікуванні гнійної хірургічної інфекції у концентраціях нижче 1,6 мкг/мл.

Результати експериментального дослідження на лабораторних щурах *in vivo* вказують на позитивну динаміку загоєння та прискорення всіх фаз ранового процесу гострих гнійних ран та гнійних ран, що тривало не загоюються при поєднаному використанні наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку.

Поєднане застосування наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку ($26,5 \pm 1,98$ кГц) при лікуванні гострих гнійних ран дозволяє прискорити загоєння за рахунок швидшого очищення ран від гнійно-некротичних тканин, кращої елімінації бактеріальної мікрофлори, швидших термінів появи грануляцій та епітелізації, порівняно з лікуванням 0,05 % розчином Хлоргексидину, монотерапією наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком. Повне закриття ранових дефектів гострих гнійних ран настало на 11,3 днів швидше ($p \leq 0,0001$), порівняно з лікуванням розчином Хлоргексидину; на 5,1 доби швидше ($p < 0,05$), порівняно з монотерапією наночастинок срібла; та на 2,2 доби швидше ($p < 0,05$), в порівнянні з монотерапією низькочастотним ультразвуком.

При лікуванні гнійних експериментальних ран, що тривало не загоюються, з поєднаним використанням наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку ($26,5 \pm 1,98$ кГц), у порівнянні з лікуванням 0,05 % розчином Хлоргексидину, монотерапією наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком, спостерігалось швидше очищення ран від гнійно-некротичних тканин, краща елімінація бактеріальної мікрофлори, швидші терміни появи грануляцій та епітелізації, і, як наслідок, швидше загоєння ран. Повна епітелізація гнійних ран, що тривало не загоюються, при поєднаному використанні наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку наступила на 6,9 днів швидше ($p < 0,05$), порівняно з лікуванням 0,05 % розчином Хлоргексидину; на 2,9 доби швидше ($p < 0,05$), порівняно з монотерапією наночастинками срібла; та на 4,2 доби швидше ($p < 0,05$), у порівнянні з монотерапією низькочастотним ультразвуком.

При дослідженні крові щурів, концентрація срібла не перевищувала показники контрольної групи і була в межах від 0,06 мкг/л до 0,16 мкг/л. Місцеве використання наночастинок срібла як у якості монотерапії, так і у поєднанні з низькочастотним ультразвуком ($26,5 \pm 1,98$ кГц), при лікуванні експериментальних гострих гнійних ран та гнійних ран, що тривало не загоюються, не здійснює системної резорбтивної дії, не викликає підвищення

вмісту срібла в крові та в прилеглих до рани тканинах, однак має тенденцію до накопичення наночастинок срібла безпосередньо на поверхні гнійних ран.

Наукова новизна одержаних результатів.

1. Досліджена антимікробна активність наночастинок срібла, розміром 25-60 нм, по відношенню до збудників гнійної хірургічної інфекції: *S. aureus*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *C. albicans*.

2. Вперше запропоновано поєднане застосування наночастинок срібла, розміром 25-60 нм, та низькочастотного УЗ ($26,5 \pm 1,98$ кГц) для підсилення антимікробної активності наночастинок срібла.

3. Вперше досліджені цитотоксичні властивості наночастинок срібла, розміром 25-60 нм, на культурі клітин дермальних фібробластів.

4. Вперше запропоновано спосіб лікування гнійного ранового процесу наночастинами срібла та низькочастотним ультразвуком. Доведена ефективність та доцільність поєданого застосування наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку при лікуванні експериментальних гострих гнійних ран та гнійних ран, що тривало не загоюються (патент України на корисну модель № 139132, заявка № u 2019 05464 від 21.05.2019, опубл. 26.12.2019, бюлетень № 24).

5. Вперше досліджена можливість розвитку резорбтивної дії розчину наночастинок срібла, розміром 25-60 нм, при його поєданому застосуванні з низькочастотним ультразвуком ($26,5 \pm 1,98$ кГц) та проведено аналіз кумулятивної здатності наночастинок срібла в тканинах експериментальних гнійних ран.

Практичне значення одержаних результатів.

Спосіб поєданого використання наночастинок срібла разом з низькочастотним ультразвуком ефективний проти збудників гнійної хірургічної інфекції, патогенетично обґрунтований, має доведену ефективність на прикладі лікування експериментальних гострих гнійних ран та гнійних ран, що тривало не загоюються.

Проведене дослідження дозволило визначити комплекс особливостей

морфофункціонального стану експериментальних гнійних ран за умов застосування наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку і може бути використане як підґрунтя під час дослідження процесів регенерації гнійних ран у експериментальній медицині та практиці гнійної хірургії.

Поєднане використання низькочастотного ультразвуку та наночастинок срібла істотно зменшує необхідну антибактеріальну концентрацію наночастинок срібла, що дозволяє їх застосовувати без цитотоксичної дії. Одержані результати можуть бути основою подальшого дослідження токсичності наночастинок срібла для організму людини.

Ключові слова: гнійна хірургічна інфекція, наночастинок срібла, низькочастотний ультразвук, антибактеріальна активність, цитотоксичність.

ANNOTATION

Myronov P. F. Efficacy of purulent surgical infection treatment with silver nanoparticles and low-frequency ultrasound (experimental study) – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The dissertation on gaining the scientific degree of the doctor of philosophy on a specialty 222 – "Medicine". – Sumy State University of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Sumy, 2021.

Sumy State University, Sumy, 2021.

The dissertation is devoted to the research of the efficiency of the combined use of silver nanoparticles and low – frequency ultrasound in the treatment of purulent surgical infection.

Surgical infections of the skin and soft tissues now occupy one of the first places in the structure of surgical morbidity and account for 30-45 %. Despite adherence to the principles of asepsis and antiseptics, the development of minimally invasive technologies, widespread use of antibacterial drugs, the number of patients with wound infection does not tend to decrease, and the incidence of surgical infection remains consistently high and ranks third in nosocomial infections.

A large number of postoperative purulent complications, which after relatively "clean" operations is 3-15 % and from 5 % to 30 % – after operations with acute surgical pathology, is a cause for concern. Mortality in diseases such as necrotic cellulitis and fasciitis reaches 50 %, and, in case of septic conditions, can reach 60 %. Recently, the situation has been complicated by the growing number of multidrug-resistant pathogens resistant not only to antibiotics but also to antiseptics.

The study of biological and physical properties of low-frequency ultrasound contributes to its wide use in surgery. Ultrasonic surgical treatment of purulent wounds has provided a good evidence base over the last 50 years and can be the method of choice due to low trauma, reduced treatment time, no side effects, and besides, this method is economically justified. Low-frequency ultrasound significantly accelerates the cleansing of the wound from fibrin and necrotic tissue, enhances the action of many antibiotics and antiseptics, promotes the deposition of drugs in the superficial layers of wounds, stimulates intracellular biosynthesis and regenerative processes, improves microcirculation, increases phagocytic activity of leukocytes.

Over the last two decades, the use of nanomaterials for wound healing and infection prevention has increased significantly. Particular attention is paid to silver nanoparticles, which, due to increased chemical potential, large specific surface area, high permeability, and adsorption activity, have a broad antibacterial spectrum of action against both gram-negative and gram-positive microflora and do not cause resistance in microorganisms. Silver nanoparticles are able to create a stable antibacterial effect and at the same time have anti-inflammatory properties, which allows them to be used as an antiseptic and as a dressing.

The aim of the study was the experimental substantiation of the combined use of silver nanoparticles and low-frequency ultrasound in the treatment of purulent surgical infection.

According to the set tasks the following research methods were used: general clinical, planimetric, morphometric, bacteriological, histological, cytological, statistical, inductively coupled plasma atomic emission spectrometry, transmission

electron microscopy, atomic absorption spectrometry, scanning electron microscopy, energy-dispersive X-ray spectroscopy.

In microbiological studies, the antimicrobial properties of silver nanoparticles and their combined use with low-frequency ultrasound against pathogens of purulent surgical infection were studied.

The cytotoxic properties of silver nanoparticles were studied in dermal fibroblast cell culture.

An in-vivo experimental study was performed on 240 white nonlinear male laboratory rats. All laboratory animals were divided into control (treatment with 0.05 % chlorhexidine solution, 60 rats) and experimental (180 rats) series, each of which was divided into two groups: acute purulent wounds and purulent wounds that do not heal for a long time. There were 3 subgroups in each experimental group: treatment with silver nanoparticles (30 rats), low-frequency ultrasound with a frequency of 26.5 ± 1.98 kHz (30 rats), and silver nanoparticles in combination with low-frequency ultrasound (30 rats).

An experimental acute purulent wound was created by suturing a gauze swab for 72 h with a mixture of daily cultures of *S. aureus* (1.0 ml), *E. coli* (1.0 ml), and *P. aeruginosa* (1.0 ml) with a concentration of 5×10^9 CFU/ml. Modeling of purulent wounds that do not heal for a long time were created by suturing a gauze swab for 10 days (with replacing on the third and sixth days) with a mixture of daily cultures of microorganisms *S. aureus* (1.0 ml), *E. coli* (1.0 ml) and *P. aeruginosa* (1.0 ml) with a concentration of 5×10^9 CFU/ml.

In order to evaluate the bactericidal effect of silver nanoparticles and low-frequency ultrasound, the qualitative and quantitative composition of the wound microflora on the 1st, 3rd, 5th, 7th, 10th, 14th, and 21st day of the experiment was studied.

To assess the effectiveness of treatment were taking into account the timing of cleaning wound surfaces from purulent-necrotic tissues, the timing of granulation, marginal epithelialization, and complete wound healing.

Planimetric studies of the dynamics of the wound process were performed on the 1st, 3rd, 7th, 14th, and 21st day of the experiment. At the same time, cytological examination of imprint smears according to the method of M. P. Pokrovskaya and M. S. Makarov in the modification of D. M. Steinberg and histological examination of wound defect tissues were performed.

The synthesized silver nanoparticles, 25-60 nm in size, showed high antimicrobial activity against gram-positive and gram-negative pathogens of purulent surgical infection *in vitro* and *in vivo*. The minimum inhibitory concentration (MIC) of silver nanoparticles ranged from 12.5 µg/ml to 25 µg/ml, and the minimum bactericidal concentration (MBC) ranged from 12.5 µg/ml to 50 µg/ml. The combined use of silver nanoparticles and low-frequency ultrasound dramatically reduced the bacteriostatic and bactericidal concentrations of silver nanoparticles: for *S. aureus* and *P. aeruginosa* MIC decreased to 0.05 µg/ml, for *E. coli* – to 0.4 µg / ml, for *K. pneumoniae* – up to 0.8 µg/ml, for *P. vulgaris* - up to 0.2 µg/ml, for *S. pyogenes* – up to 0.1 µg/ml, for *C. albicans* – up to 0.012 µg/ml; MBC for *E. coli* and *P. vulgaris* was 0.8 µg/ml, *S. aureus* – 0.1 µg/ml, *C. albicans* – 0.05 µg/ml, *K. pneumoniae* – 1.6 µg/ml, *S. pyogenes* – 0.4 µg/ml, *P. aeruginosa* – 0.2 µg/ml. The combined use of silver nanoparticles and low-frequency ultrasound accelerated the rate of elimination of pathogens and improved the antibiofilm activity of silver nanoparticles.

No cytotoxic effect of silver nanoparticles was observed in dermal fibroblast cell culture after 72 h at concentrations below 3.2 µg/ml and after 24 h at silver nanoparticles concentrations below 6.4 µg/ml. The effective antimicrobial concentration of silver nanoparticles in combination with low-frequency ultrasound (26.5 ± 1.98 kHz) did not exceed the allowable cytotoxic values, which allows the use of silver nanoparticles in the treatment of purulent surgical infection at concentrations below 1.6 µg/ml.

The results of an experimental study in laboratory rats *in-vivo* indicate a positive dynamics of healing and acceleration of all phases of the wound process of

acute purulent wounds and purulent wounds that do not heal for a long time with the combined use of silver nanoparticles and low-frequency ultrasound.

The combined use of silver nanoparticles and low-frequency ultrasound (26.5 ± 1.98 kHz) in the treatment of acute purulent wounds can accelerate healing by faster cleansing of wounds from purulent-necrotic tissues, better elimination of bacterial microflora, faster granulation, and epithelialization, compared with the treatment of 0.05 % chlorhexidine solution, monotherapy with silver nanoparticles or low-frequency ultrasound. Complete closure of wound defects of acute purulent wounds occurred 11.3 days faster ($p \leq 0.0001$), compared with the treatment of chlorhexidine solution; 5.1 days faster ($p < 0.05$), compared with monotherapy of silver nanoparticles; and 2.2 days faster ($p < 0.05$), compared with low-frequency ultrasound monotherapy.

In the treatment of purulent experimental wounds that do not heal for a long time, with the combined use of silver nanoparticles and low-frequency ultrasound (26.5 ± 1.98 kHz), compared with 0.05 % chlorhexidine solution, silver nanoparticles or low-frequency ultrasound monotherapy, rapid ultrasound cleaning wounds from purulent-necrotic tissues, better elimination of bacterial microflora, faster granulation and epithelialization, and, as a consequence, faster wound healing. Complete epithelialization of purulent wounds that do not heal for a long time, with the combined use of silver nanoparticles and low-frequency ultrasound, occurred 6.9 days faster ($p < 0.05$), compared with treatment with 0.05 % solution of chlorhexidine; 2.9 days faster ($p < 0.05$) compared with silver nanoparticles monotherapy; and 4.2 days faster ($p < 0.05$), compared with low-frequency ultrasound monotherapy.

In the study of the rats' blood, the concentration of silver did not exceed the indicators of the control group and ranged from $0.06 \mu\text{g/l}$ to $0.16 \mu\text{g/l}$. Local use of silver nanoparticles both as monotherapy and in combination with low-frequency ultrasound (26.5 ± 1.98 kHz) in the treatment of experimental acute purulent wounds and purulent wounds that do not heal for a long time does not have a systemic resorptive effect, does not cause increasing content of silver in the blood and in the

tissues adjacent to the wound, but tends to accumulate silver nanoparticles directly on the surface of purulent wounds.

The scientific novelty of the obtained results.

1. The antimicrobial activity of silver nanoparticles, size 25-60 nm, against pathogens of purulent surgical infection: *S. aureus*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *P. vulgaris*, *C. albicans* was studied.

2. For the first time, the combined use of silver nanoparticles with a size of 25-60 nm and low-frequency ultrasound (26.5 ± 1.98 kHz) was proposed to enhance the antimicrobial activity of silver nanoparticles.

3. Cytotoxic properties of silver nanoparticles, size 25-60 nm, on dermal fibroblast cell culture were studied for the first time.

4. For the first time a method of treatment of purulent wound process with silver nanoparticles and low-frequency ultrasound was proposed. The efficiency and expediency of the combined use of silver nanoparticles and low-frequency ultrasound in the treatment of experimental acute purulent wounds and purulent wounds that do not heal for a long time have been proven (patent of Ukraine for utility model № 139132, application № u 2019 05464 from 21.05.2019, publ. 26.12.2019, bulletin № 24).

5. For the first time the possibility of developing the resorptive action of a solution of silver nanoparticles, size 25-60 nm, when used in combination with low-frequency ultrasound (26.5 ± 1.98 kHz) was studied and the cumulative ability of silver nanoparticles in experimental purulent wounds was analyzed.

The practical significance of the results obtained.

The method of combined use of silver nanoparticles together with low-frequency ultrasound is effective against pathogens of purulent surgical infection, pathogenetically justified, and has proven effectiveness in the treatment of experimental acute purulent wounds and purulent wounds that do not heal for a long time.

The study allowed to determine a set of features of the morphofunctional state of experimental purulent wounds under the use of silver nanoparticles and low-

frequency ultrasound and can be used as a basis in the study of purulent wound regeneration in experimental medicine and practice of purulent surgery.

The combined use of low-frequency ultrasound and silver nanoparticles significantly reduces the required antibacterial concentration of silver nanoparticles, which allows them to be used without cytotoxic effects. The obtained results may be the basis for further study of the toxicity of silver nanoparticles to the human body.

Key words: purulent surgical infection, silver nanoparticles, low-frequency ultrasound, antibacterial activity, cytotoxicity.

Список опублікованих праць за темою дисертації

1. Myronov P, Bugaiov V, Holubnycha V, Sikora V, Deineka V, Lyndin M, et al. Low-frequency ultrasound increase effectiveness of silver nanoparticles in a purulent wound model. *Biomed Eng Lett* [Internet]. 2020 Oct 17 [cited 2021 Feb 19];10(4):621-31. DOI: 10.1007/s13534-020-00174-5

2. Holubnycha V, Myronov P, Bugaiov V, Opanasyuk A, Dobrozhan O, Yanovska A, et al. Effect of ultrasound treatment on chitosan-silver nanoparticles antimicrobial activity. In: 8th International Conference on Nanomaterials: Applications and Properties [Internet]; 2018 Sept 9-14; Zatoka, Ukraine. IEEE; 2018 [cited 2019 Dec 18]; p. 04NNLS09-1-4. DOI: 10.1109/NAP.2018.8914849

3. Миронов ПФ, Бугайов ВІ, Голубнича ВМ, Погорелов МВ. Застосування наночастинок срібла в умовах ультразвукової кавітації при лікуванні гнійної хірургічної інфекції. *Харківська хірургічна школа*. 2019 Лют 20;1(94):60-4.

4. Миронов ПФ, Бугаев ВІ, Тимакова ЕА, Роговская ЛА. Цитологическая характеристика экспериментальных гнойных ран при лечении наночастицами серебра. *Український журнал медицини, біології та спорту*. [Интернет]. 2019 [цитировано 2020 Січ 22];4(6):60-6. DOI: 10.26693/jmbs04.06.060

5. Myronov PF, Bugaiov VI, Tymakova OO, Pogorielov MV, Opanasyuk AS. Cytological examination of experimental purulent wounds in the treatment of silver

nanoparticles in ultrasound cavitation. EUMJ [Internet]. 2019 Dec 29 [cited 2020 Oct 21];7(4):389-95. DOI: [https://doi.org/10.21272/eumj.2019;7\(4\):386-95](https://doi.org/10.21272/eumj.2019;7(4):386-95)

6. Myronov P, Bugaiov V, Holubnycha V. Combined antimicrobial effect of silver nanoparticles and ultrasound. In: Pogorielov M, editor. Topical issues of theoretical and clinical medicine. International scientific and practical conference of students, postgraduates and young scientists; 2018 Oct 17-19; Sumy. Sumy: Sumy State University; 2018. p. 98.

7. Holubnycha V, Myronov P, Husak Ye. Susceptibility of gram-negative rods to metallic nanoparticles. Medicine. 2019;55(suppl.1):94. (International Scientific Conference on Medicine organized within the frame of the 78th International Scientific Conference of the University of Latvia; 2019 Feb 22; Riga.)

8. Миронов ПФ, Голубнича ВМ, Бугайов ВІ. Антибактеріальні властивості поєданого застосування наночастинок срібла, міді та ультразвуку. В: XVI міжнародна наукова конференція студентів, молодих вчених та фахівців. Актуальні питання сучасної медицини; 2019 Бер 28-29; Харків. Харків: ХНУ імені В. Н. Каразіна; 2019, с. 174-5.

9. Миронов ПФ. Лікування гнійної хірургічної інфекції наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком. В: Кондратенко ПГ, редактор. Матеріали 81-го наукового медичного конгресу студентів та молодих вчених. Медицина ХХІ сторіччя; 2019 Квіт 25-26; Краматорськ. Краматорськ: ТОВ «Краматорський друкарський дім»; 2019. с. 244-5.

10. Myronov P, Buzyna O, Bugaiov V. Application of silver nanoparticles and ultrasound in the treatment of purulent wounds. In: Tekin E, Oner C, editors. Istanbul international student congress. Current and emerging diseases; 2019 May 16-17; Istanbul. Turkey: Istanbul; 2019. p. 31-2.

11. Myronov P, Deineka V, Solodovnyk O. Cell toxicity of AgNPs and chitosan-AgNPs complex. In: International conference. Nanomaterials for biosensors and biomedical applications; 2019 2-4 July; Jurmala. Latvia; 2019. p. 55.

12. Myronov P. Microbiological evaluation the effectiveness of the purulent wounds healing with silver nanoparticles and low-frequency ultrasound. In:

Pogorielov M, editor. International Scientific and Practical Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists. Biomedical Perspectives; 2019 Oct 16-18; Sumy. Sumy: State University; 2019. p. 131.

13. Myronov P, Savchenko A, Husak Ye, Korniienko V, Holubnycha V. The influence of silver nanoparticles on formation of the escherichia coli biofilms. В: Руденок ТА, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. молодих вчених з міжнародною участю Харківської медичної академії післядипломної освіти. Медицина ХХІ століття; 2019 Лист 29; Харків. Харків: ХМАПО; 2019, с. 90.

14. Миронов ПФ, Бугайов ВІ, Опанасюк АМ, Загородня ТМ. Цитологічна характеристика експериментальних гнійних ран при лікуванні наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком. В: Руденок ТА, редактор. Матеріали наук.-практ. конф. молодих вчених з міжнародною участю Харківської медичної академії післядипломної освіти. Медицина ХХІ століття; 2019 Лист 29; Харків. Харків: ХМАПО; 2019. с. 53-54.

15. Миронов ПФ, Бугайов ВІ, Погорелов МВ, Голубнича ВМ, Опанасюк АС, винахідники; Сумський державний університет, патентовласник. Спосіб лікування гнійних ран наночастинками срібла в умовах ультразвукової кавітації. Патент України № 139132. 2019 Груд 26.

16. Holubnycha V, Korniienko V, Myronov P. Antibiofilm activity of Ag nanoparticles against methicillin-resistant S. aureus. Medicine. 2020; 56(suppl.1):260. (International Scientific Conference on Medicine organized within the frame of the 78th International Scientific Conference of the University of Latvia; 2020; Riga.)

17. Myronov P, Zahorodnya T. Efficiency of experimental chronic purulent wounds treatment with silver nanoparticles and low-frequency ultrasound. In: Pogorielov M, editor. International Scientific Conference of Students, Postgraduates and Young Scientists. Biomedical Perspectives II; 2020 Oct 20-22; Sumy. Sumy: State University; 2020. p. 101.

18. Миронов ПФ. Антибактеріальні властивості наночастинок срібла та низькочастотного ультразвуку при лікуванні експериментальних хронічних

гнійних ран. В: Матвєєнко МС, редактор. XVIII Міжнародна наукова конференція студентів, молодих вчених та фахівців. Актуальні питання сучасної медицини; 2021 Квіт 22-23; Харків. Харків: ХНУ імені В. Н. Каразіна; 2021, с. 102-3.

19. Миронов П. Гістологічні особливості процесу загоєння гнійних ран при лікуванні наночастинками срібла та низькочастотним ультразвуком. В: Корда ММ, редактор. XXV міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених; 2021 Квіт 12-14; Тернопіль. Тернопіль: «Укрмедкнига»; 2021, с. 123.

20. Миронов ПФ. Гистологические особенности процесса заживления гнойных ран при лечении наночастицами серебра. Журнал гепатогастроэнтерологических исследований. 2021;2(1):796-7. (Материалы 75-ой Международной научн.-практ. конф. студентов-медиков и молодых учёных. Современная медицина и фармацевтика: новые подходы и актуальные исследования; 2021; Самарканд.)