

УДК 619:616:98:579.873.21:636.2
© 2018

**В.В. ЗАЖАРСЬКИЙ,
О.М. КУЛІШЕНКО,
П.О. ДАВИДЕНКО,**
кандидати ветеринарних наук

І.В. БОРОВИК,
завідуюча бактеріологічного відділу

Дніпровський державний
аграрно-економічний університет,
Україна –
Дніпропетровська РегДЛВМ
Державної служби України з питань
безпеки харчових продуктів
та захисту споживачів
E-mail: zazharskiyv@gmail.com

вул. Сергія Єфремова, 25, м. Дніпро
просп. Олександра Поля, 48, м. Дніпро

ЕФЕКТИВНІСТЬ
ЗАСТОСУВАННЯ
НАСТОЯНОК ФІТОПРЕПАРАТІВ
ПРОТИ КРІОГЕННИХ
ЕТАЛОННИХ ШТАМІВ
ST. AUREUS, *ST. EPIDERMIDIS*
ТА *PS. AERUGINOSA*

Вивчено антибактеріальну дію рослинних настоянок на еталонні кріогенні референс-штами. Рекомендовані для боротьби з полірезистентними штамми *St. aureus*: елеутерокок колючий; *St. epidermidis*: прополіс; *Ps. aeruginosa*: апельсин. Настоянка з граната звичайного виявляла бактеріостатичну дію проти досліджуваних мікроорганізмів.

Ключові слова: зона пригнічення росту мікроорганізмів, рослинні настоянки, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Вступ. Останнім часом у науковій літературі все частіше з'являються повідомлення про потенційну можливість пошуку ефективних антибактеріальних речовин в рослинних екстрактах у зв'язку з появою полірезистентних до існуючих антибіотиків бактеріальних штамів, які важко піддаються лікуванню. Зарубіжними вченими багатьох країн встановлено ефективність екстрактів деяких рослин проти полірезистентних стафілококів та псевдомонад. Так, дослідженнями бразильських науковців підтверджена антибактеріальна ефективність використання кореневих екстрактів та двох алкалоїдів *Zanthoxylum tingoassuba* проти мультирезистентного *St. aureus* (ATCC № 25923) [1].

Колектив дослідників із Філіпін у своїх працях показав потенційну можливість використання екстрактів місцевих ендемічних рослин *Piper betle*, *Psidium guajava*, *Phyllanthus niruri*, *Ehretia microphylla* проти полірезистентних штамів *St. aureus*, *Ps. aeruginosa* [2].

Дослідженнями вчених з Ефіопії було доведено антибактеріальну активність хлороформацетонного та метанольного екстрактів *Zehneria scabra* та *Ricinus communis* проти стандартних полірезистентних тест-штамів *St. aureus* (ATCC № 2923) та *E. coli* (ATCC № 25922) [3].

Група вчених з Палестини довела активність етанольного екстракту *Ecballium*

elaterium проти семи клінічних ізолятів *St. aureus* та трьох клінічних ізолятів *Candida albicans* in vitro [4].

Joachim K. Dzatam, Francesco K. Touani, Victor Kuete (Камерун), встановили активність метанольного екстракту *Canarium schweinfurthii* проти *Ps. aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. aerogenes*, *E. coli* in vitro [5].

Дослідження науковців з Мексики дозволяють стверджувати, що етанольні екстракти *Lagrea tridentata*, *Flourensia cernua*, *Lippia graveolens*, *Agave lechuguilla*, *Yucca filifera*, *Opuntia ficusindica*, *Carya illinoensis* володіють антибактеріальною активністю проти *Enterobacter aerogenes*, *E. coli*, *S. typhi* та *St. aureus* [6].

Antonia Nostro зі співавторами (Італія) довели активність метанольних екстрактів *Ficus carica*, *Juglans regia*, *Olea europaea*, *Punica granatum* проти *L. monocytogenes*, *St. aureus*, *E. coli*, *Ps. aeruginosa* [7].

Дослідники з Аргентини виявили антибактеріальну активність екстракту *Zuccagnia punctata* проти семи клінічних ізолятів *Staphylococcus aureus* [8].

Guo-Ying Zuo та його колеги (Китай) результатами своєї роботи підтвердили активність екстракту *Zanthoxylum nitidum* проти мультирезистентних *St. aureus* [9].

Бактерицидні властивості етанольних екстрактів рослин на мікроорганізми роду *Staphylococcus* вивчаються і в Україні [10, 11].

Отже, метою нашого дослідження було встановити антибактеріальний вплив рослинних настоянок 16 видів на еталонні криогенні референс-штами *St. aureus* F-4a (ATCC № 25923), *St. epidermidis* (14990) та *Ps. aeruginosa* (27/99) in vitro.

Матеріал та методи дослідження. Сировину рослин заготовляли в рекреаційній зоні міста Дніпро. Зібрану сировину сортували, висушували в сушильній шафі ML-309 (Польща) за температури 60 °C протягом 5–6 діб. Отриману сировину подрібнювали до розміру часточок 0,5–1,0 мм. За допомогою лабораторних електронних аналітичних вагів ESJ-200-4 (США) відважували по 1,0 г подрібненої сировини, яку в стерильних пеніцилінових флаконах об'ємом 10 мл за-

ливали 5 мл 96%-вого етанолу категорії ХЧ зі збереженням відповідного маркування флаконів. Настоянки у співвідношенні 1:5 витримували протягом трьох тижнів у темному прохолодному місці. Після витримки, настоянки фільтрували через скляні лійки зі стерильними багатощаровими марлевими фільтрами в стерильні пеніцилінові флакони, до яких поміщали по 20 стерильними дисками з фільтрувального паперу діаметром 6 мм і витримували у відповідних 16 варіантах настоянок протягом 10 діб.

Антибактеріальну активність різних рослинних настоянок визначали методом дискдифузії в агарі. Із добової культури еталонних криогенних референс-штаміє *St. aureus* F-4a (ATCC № 25923), *St. epidermidis* (14990), *Ps. aeruginosa* (27/99) готували завись за стандартом каламатності бактеріальної суспензії 0,5 одиниць щільності за Мак Фарландом $1,5 \times 10^8$ КУО, який визначали за допомогою Densimeter II. Отриману завись пересівали на агар Мюлера-Хінтона (Himedia) з подальшим культивуванням у термостаті ТСО-80/1 (Росія) протягом 24 год за температури 37 °C. Зверху на пересівах розміщували диски, просочені відповідними настоянками рослин, за часовою стрілкою по шість дисків. Як позитивний контроль у центрі розміщували диск з антибіотиком (1 диск містить 6,0 мкг бензилпеніциліну натрієвої солі). Через добу вимірювали діаметр зони пригнічення росту культури (ЗПР) за допомогою лінійки-шаблону для визначення розмірів зон затримки росту мікроорганізмів (Antibiotic Zone Scale-C, модель PW297, Індія) та програми tps DIG2, 2004-16, F.James Rohlf.

Результати дослідження та їх обговорення. Вивчаючи антибактеріальний вплив рослинних настоянок на еталонні криогенні референс-штами *St. aureus* F-4a (ATCC № 25923) in vitro, нами виявлено (таблиця): *Eleutherococcus senticosus* (ЗПР 10 мм), *Eleutherococcus sessiliflorus* (10 мм) та *Punica granatum* (7 мм) мали зону затримки росту настоянок вище, ніж у контролі на 4, 3 та 1 мм відповідно; позитивним впливом на патогенний штам характеризувалися і такі настоянки, як *Laurus nobilis* (6 мм), *Cuscuta*

Ефективність впливу настоянок рослин на мікроорганізми різних груп, мм

№ п/п	Настоянка	Вид мікроорганізму					
		<i>Staphylococcus aureus</i> F-4a (ATCC № 25923)		<i>Staphylococcus epidermidis</i> (14990)		<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (27/99)	
		зона пригнічення росту	контроль	зона пригнічення росту	контроль	зона пригнічення росту	контроль
1.	<i>Eleutherococcus senticosus</i>	10	6	-	35	10	14
2.	<i>Eleutherococcus sessiliflorus</i>	10	7	-	36	-	15
3.	<i>Laurus nobilis</i>	6	7	-	38	-	15
4.	<i>Cycas revoluta</i>	5	18	3	37	-	14
5.	<i>Crassula ovata</i>	-	17	-	39	10	15
6.	<i>Adonis vernalis</i>	1	7	-	36	10	14
7.	<i>Lavandula angustifolia</i>	1	19	4	37	8	15
8.	<i>Melissa officinalis</i>	-	18	-	35	11	15
9.	<i>Armeniaca vulgaris</i>	-	19	-	38	1	15
10.	<i>Salix babylonica</i>	-	27	-	36	-	15
11.	<i>Echinacea purpurea</i>	-	17	-	38	10	14
12.	<i>Buxus sempervirens</i>	6	12	-	37	11	14
13.	<i>Origanum vulgare</i>	5	2	-	36	-	15
14.	<i>Citrus sinensis</i>	-	7	2	36	15	15
15.	<i>Punica granatum</i>	7	6	11	38	17	14
16.	<i>Apes propolium</i>	2	18	10	36	1	15

revoluta (5 мм) та *Buxus sempervirens* (6 мм), хоча їх різниця з контролем була нижче на 1, 12 та 6 мм відповідно; настоянка *Origanum vulgare* мала ЗПР 5 мм, але була кращою за цим показником від контролю на 3 мм.

Досліджуючи антибактеріальний вплив настоянок рослин на *St. epidermidis* (14990), визначено, що жоден з досліджуваних препаратів не перевищував контрольний показник, хоча *Punica granatum* та *Apes propolium* мали позитивну ЗПР понад 5 мм: 11 та 10 мм відповідно.

За антибактеріального впливу настоянок рослин на *Ps. aeruginosa* спостерігали, що під час застосування настоянок з *Eleuthero-*

coccus senticosus, *Crassula ovata*, *Adonis vernalis* та *Echinacea purpurea* ЗПР дорівнювала 10 мм; *Melissa officinalis* та *Buxus sempervirens* – 11 мм. Отримані результати були нижчими, ніж у контролі, на 4–5 мм. Проте настоянки з *Citrus sinensis* та *Punica granatum* проявили більш високий антибактеріальний ефект відносно *Ps. aeruginosa* на рівні контролю: 15 та 17 мм відповідно.

Матеріали досліджень потребують більш глибокого вивчення. Нами визначено вплив фітопрепаратів на еталонні криогенні референс-штами *St. aureus* F-4a (ATCC № 25923), *St. epidermidis* (14990) та *Ps. aeruginosa* (27/99) *in vitro*.

В експерименті *in vitro* вперше виявлено антибактеріальний вплив етанольних фітопрепаратів на полірезистентні штаміє *St. aureus* F-4a (ATCC № 25923): Елеутерокок колючий, *Eleutherococcus senticosus* та *Punica granatum*; *St. epidermidis* (14990):

Punica granatum та *Apes propolium*; *Ps. aeruginosa* (27/99): *Citrus sinensis* та *Punica granatum*.

У подальших дослідженнях триватиме вивчення ефективності етанольних настоянок в умовах виробництва.

Бібліографія

1. In vitro antibacterial effects of *Zanthoxylum tingoa* root bark extracts and two of its alkaloids against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* / Rafael S. Costa, Manuela O. Lins, Mireille Le Hyaric, Tânia F. Barros, Eudes S. Velozo // Brazilian Journal of Pharmacognosy Revista Brasileira de Farmacognosia. – 2016. – Vol. 26, № 11. – P. 1–4.
2. Antibacterial activities of ethanol extracts of Philippine medicinal plants against multidrug-resistant bacteria / Demetrio L. Valle Jr., Jeannie I. Andrade, Juliana Janet M. Puzon, Esperanza C. Cabrera, Windell L. Rivera // Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. – 2015. – № 7. – P. 532–539.
3. Abew B. In vitro antibacterial activity of leaf extracts of *Zehneria scabra* and *Ricinus communis* against *Escherichia coli* and methicillin resistance *Staphylococcus aureus* / B. Abew, S. Sahile, F. Moges // Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. – 2014. – № 10. – P. 816–820.
4. Adwan G. Effect of ethanolic extract of *Ecballium elaterium* against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* / G. Adwan, Y. Salameh, K. Adwan // Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. – 2011. – № 6. – P. 456–460.
5. Dzotam J.K. Antibacterial activities of the methanol extracts of *Canarium schweinfurthii* and four other Cameroonian dietary plants against multi-drug resistant Gram-negative bacteria / J.K. Dzotam, F.K. Touani, V. Kuete // Saudi Journal of Biological Sciences. – 2015. – № 6. – P. 1–5.
6. Antibacterial activity of plant extracts obtained with alternative organic solvents against food-borne pathogen bacteria / Martha Mendez, Raúl Rodríguez, Judith Ruiz, Diana Morales-Adame, Francisco Castillo, Francisco D. Hernández-Cas-tillo, Cristóbal N. Aguilar // Industrial Crops and Products. – 2011. – № 7. – P. 1–6.
7. In vitro activity of plant extracts against biofilm-producing food-related bacteria / Antonia Nostro, Alessandra Guerrini, Andreana Marino, Massimo Tac-chini, Mara Di Giulio, Alessandro Grandini, Methap Akin, Luigina Cellini, Giuseppe Bisignano, Hatice T. Saraçoğlu // International Journal of Food Microbiology. – 2016. – № 8. – P. 1–32.
8. Effect of *Zuccagnia punctata* Cav. (Fabaceae) extract on pro-inflammatory enzymes and on planktonic cells and biofilm from *Staphylococcus aureus*. Toxicity studies / G. Nunõ, M.R. Alberto, M.E. Arena, I.C. Zampini, M.I. Isla // Saudi Journal of Biological Sciences. – 2016. – № 10. – P. 1–7.
9. Synergism of coumarins from the Chinese drug *Zanthoxylum nitidum* with antibacterial agents against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) / Guo-Ying Zuo, Chun-Juan Wang, Jun Han, Yu-Qing Li, Gen-Chun Wang // Phytomedicine. – 2016. – № 11. – P. 1–24.
10. Antibacterial Influence of Herbal Infusions on *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* and *Pseudomonas aeruginosa* *in vitro* / Volodymyr Zazharskyi, Tetyana Fotina, Pavlo Davydenko [et al.] // International gap agriculture & Livestock congress 25–27 april 2018 1st International gap agriculture & Livestock congress Abstract book. – Şanlıurfa / Turkey. – P. 476.
11. Бактерицидні властивості етанольних екстрактів рослин на мікроорганізми роду *Staphylococcus* / В.В. Зажарський, П.О. Давиденко, О.М. Кулішенко, І.В. Боровик // Науково-технічний бюлетень НААНУ Інституту ветеринарної медицини. – 2018. – Вип. 32(2). – С. 185–193.