

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ ФИТОПРЕПАРАТОВ ПРОТИВ ШТАММОВ ST. AUREUS, ST. EPIDERMIDIS И PS. AERUGINOSA

В.В. Зажарский, О.Н. Кулишенко, П.А. Давыденко ДДАЭУ, г. Днепр

И.В. Боровик ДРГЛВМ, г. Днепр

Изучено антибактериальное воздействие растительных настоек на эталонные криогенные референс-штаммы. Рекомендованы для борьбы с полирезистентными штаммами *St. aureus*: элеутерококк колючий; *St. epidermidis*: прополис; *Ps. aeruginosa*: апельсин. Настойка из граната обыкновенного оказывала бактериостатическое действие против всех опытных микроорганизмов.

Ключевые слова: фитопрепараты, зона угнетения роста микроорганизмов, антибиотикорезистентность, растительные настойки, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, элеутерококк колючий, гранат обыкновенный, прополис, апельсин.

V.V. Zazharskiy, O.M. Kulishenko, P.O. Davydenko, I.V. Borovic

EFFICIENCY OF APPLICATION OF PHYTOPREPARIS AGAINST STRAINS OF ST. AUREUS, ST. EPIDERMIDIS AND PS. AERUGINOSA

The antibacterial effect of plant infusions on reference cryogenic reference strains has been studied. Recommended for the control of multidrug resistant strains. *St. aureus*: *Eleutherococcus senticosus*, pomegranate ordinary; *St. epidermidis*: *Apes propolium*; *Ps. aeruginosa*: *Citrus sinensis*. Tincture of *Punica granatum* had a bacteriostatic effect against all experienced microorganisms.

Keywords: phytopreparations, microorganism growth suppression zone, antibiotic resistance, plant infusions, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Eleutherococcus senticosus*, *Punica granatum*, *Apes propolium*, *Citrus sinensis*.

В последнее время, в специализированной научной литературе все чаще появляются сообщения о потенциальной возможности поиска эффективных антибактериальных веществ в растительных экстрактах в связи с появлением полирезистентных к существующим антибиотикам бактериальных штаммов, которые трудно поддаются лечению. Одной из проблем современной медицины являются полирезистентные штаммы *St. aureus*, *St. epidermidis*, *Ps. aeruginosa*. Исследованиями ученых многих стран было установлено эффективность экстрактов некоторых растений против полирезистентных стафилококков и псевдомонад. Так исследованиями Rafael S. Costa et al., 2016 (Бразилия) была доказана антибактериальная эффективность корневых экстрактов и двух алкалоидов *Zanthoxylum tingoassuiba* против мультirezистентного *St. aureus* (ATCC 25923) [1].

Коллектив ученых из Филиппин, Demetrio L. Valle Jr. et al., 2015 доказали потенциальную возможность использования экстрактов местных эндемичных растений *Piper betle*, *Psidium guajava*, *Phyllanthus niruri*, *Ehretia microphylla* против полирезистентных штаммов *St. aureus*, *Enterococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Ps. aeruginosa* [2].

Исследованиями Bereket Abew, Samuel Sahile, Feleke Moges 2014 (Эфиопия), было доказано антибактериальную активность хлороформного и метанольного экстрактов *Zehneria scabra* и *Ricinus communis* против стандартных полирезистентных тест-штаммов *St. aureus* (ATCC 2923) и *E. coli* (ATCC 25922) [3].

Группа ученых из Палестины, Ghaleb Adwan, Yousef Salameh, Kamel Adwan 2011 доказали активность этанольного экстракта *Ecballium elaterium* против семи клинических изолятов *St. aureus* и трех клинических изолятов *Candida albicans* in vitro [4].

Joachim K. Dzotam, Francesco K. Touani, Victor Kuete (2015) Камерун, установили активность метанольного экстракта *Canarium schweinfurthii* против *Ps. aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. aerogenes*, *E. coli* in vitro [5].

Исследование Martha Mendez et al., 2011 (Мексика), позволяют утверждать, что этанольные экстракты *Larrea tridentata*, *Flourensia cernua*, *Lippia graveolens*, *Agave lechuguilla*, *Yucca filifera*, *Opuntia ficusindica*, *Carya illinoensis* владеют антибактериальной активностью против *Enterobacter aerogenes*, *E. coli*, *S. typhi* и *St. aureus* [6].

Antonia Nostro et al., 2016 (Италия) доказали активность метанольных экстрактов *Ficus carica*, *Juglans regia*, *Olea europaea*, *Punica granatum*, *Rhus coriaria*, *P. granatum*, *R. coriaria* против *L. monocytogenes*, *St. aureus*, *E. coli*, *Ps. aeruginosa* [7].

Исследователи из Аргентины, G. Nuno, M.R. Alberto, M.E. Arena, I.C. Zampini, M.I. Isla, 2016 доказали антибактериальную активность дихлорэтанового экстракта *Zuccagnia punctata* против семи клинических изолятов *Staphylococcus aureus* [8].

Guo-Ying Zuo et al., 2016 (Китай) установили активность метанольного экстракта *Zanthoxylum nitidum* против мультирезистентных *St. aureus* [9].

Целью нашего исследования было установить антибактериальное воздействие растительных настоек на эталонные криогенные референс-штаммы *St. aureus* F-4a (атсс№25923), *St. epidermidis* (14990) и *Ps. aeruginosa* (27/99) in vitro.

Объекты исследования: эталонные криогенные референс-штаммы *St. aureus* F-4a (атсс№25923), *St. epidermidis* (14990) и *Ps. aeruginosa* (27/99).

Предмет исследования: антибактериальное воздействие растительных настоек 16 видов.

Материал и методы исследования. Сырье растений заготавливали в рекреационной зоне города Днепр. Собранное сырьё сортировали и высушивали в сушильном шкафу ML-309 (Польша) при температуре 60 °С в течение 5-6 суток. В следующем полученное сырьё помещали в мельницу зерновую лабораторную ЛЗМК и измельчали до размера частиц 0,5-1мм. С помощью

лабораторных электронных аналитических весов ESJ-200-4 (США) отвешивали по 1 г соответствующего измельченного сырья и помещали в стерильные пенициллиновые 10 мл флаконы и заливали его 5 мл 96% этанола категории ХЧ с сохранением соответствующей маркировки флаконов. Спиртовые настойки в соотношении 1:5 выдерживали в течение трех недель путем настаивания в темном прохладном месте. После выдержки, настойки фильтровали через стеклянные воронки со стерильными многослойными марлевыми фильтрами в стерильные пенициллиновые флаконы в которые помещали по 20 стерильных дисков из фильтровальной бумаги диаметром 6 мм, которые выдерживали в соответствующих 16 вариантах настоек в течение 10 суток.

Антибактериальную активность различных растительных настоек определяли методом диск-диффузии в агаре. С суточной культуры эталонных криогенных референс штаммов *St. aureus* F-4a (ATCC№25923), *St. epidermidis* (14990) *Ps. aeruginosa* (27/99) готовили взвесь по стандарту мутности бактериальной суспензии 0,5 единиц плотности по Мак Фарланду $1,5 \times 10^8$ КОЕ, который определяли с помощью Densimeter II. Полученную взвесь пересевали на агар Мюллера-Хинтон (Himedia) с последующим культивированием в термостате ТСО-80/1 (Россия) в течение 24 часов при температуре 37 ° С. Сверху на пересевах размещали диски., пропитанные соответствующими настояками растений, по часовой стрелке по шесть дисков, в качестве положительного контроля в центре размещали диск с антибиотиком (1 диск содержит 6,0 мкг бензилпенициллина натриевой соли). Через сутки, измеряем диаметр зоны подавления роста культуры (ЗПР) с помощью линейки-шаблона для измерения размеров зон задержки роста микроорганизмов (Antibiotic Zone Scale-C, модель PW297, Индия) и программы tps DIG2, 2004-16, F.James Rohlf.

Антибактериальное воздействие настоек растений на *St. aureus* F-4a (ATCC №25923), *St. epidermidis* (14990) *Ps. aeruginosa* (27/99) приведен в (табл. 1).

Таблица 1

Эффективность влияния настоек растений на микроорганизмы разных групп

№ п/п	Название растений	ВИДЫ МИКРООРГАНИЗМИВ					
		Staphylococcus aureus F-4a (ATCC№25923)		Staphylococcus epidermidis (14990)		Pseudomonas aeruginosa (27/99)	
		Зона угнете- ния роста, мм	Конт- роль, мм**	Зона угнете- ния роста, мм	Конт роль, мм	Зона угнете- ния роста, мм	Конт- роль, мм
1	2	3	4	5	6	7	8
1.	Eleutherococcus senticosus	10	6	-*	35	10	14

1	2	3	4	5	6	7	8
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

- * – отсутствие задержки роста

- ** – контроль (бензилпенициллин натриевая соль)

Изучая антибактериальное воздействие растительных настоек на эталонные криогенные референс-штаммы *St. aureus* F-4a (атсс№25923) *in vitro* нами выявлено: *Eleutherococcus senticosus* (ЗПП 10 мм), *Eleutherococcus sessiliflorus* (10 мм) и *Punica granatum* (7 мм) можно рекомендовать в связи с тем, что зона задержки роста настоек были выше, чем в контроле на 4, 3 и 1 мм соответственно. Также обнаружен положительное влияние на патогенный штамм таких настоек, как *Laurus nobilis* (6 мм), *Cycas revoluta* (5 мм) и *Buxus sempervirens* (6 мм), хотя их разница с контролем была ниже на 1, 12 и 6 мм соответственно. Настойка *Origanum vulgare* имела ЗПП 5 мм, была лучшей по этому показателю от контроля на 3 мм.

Исследуя антибактериальное воздействие настоек растений на *St. epidermidis* (14990) определено, что ни один из опытных препаратов не превышал данный показатель с контролем, хотя *Punica granatum* и *Apes propolium* имели положительную ЗПП более 5 мм: 11 и 10 мм соответственно.

Изучая антибактериального воздействия настоек растений на *Ps. aeruginosa* установлено, что во время применении настоек с *Eleutherococcus senticosus*, *Crassula ovata*, *Adonis vernalis* и *Echinacea purpurea* ЗПП на уровне 10 мм; *Melissa officinalis* и *Buxus sempervirens* - 11 мм. Полученные результаты были ниже, чем в контроле на 4-5 мм. Однако настойки из *Citrus sinensis* и *Punica granatum* проявили более высокий антибактериальный эффект в отношении *Ps. aeruginosa* и был на уровне контроля, составляя ЗПП 15 и 17 мм соответственно.

Результаты исследований требуют дальнейшего изучения, однако нами определено влияние фитопрепаратов на эталонные криогенные референс-

штаммы *St. aureus* F-4a (атсc№25923), *St. epidermidis* (14990) и *Ps. aeruginosa* (27/99) *in vitro*.

Выводы

Выявлено антибактериальное воздействие фитопрепаратов на эталонные криогенные референс-штаммы *St. aureus* F-4a (атсc№25923): Элеутерококк колючий, *Eleutherococcus senticosus* и *Punica granatum*; *St. epidermidis* (14990): *Punica granatum* и *Apes propolium*; *Ps. aeruginosa* (27/99): *Citrus sinensis* и *Punica granatum*, которые можно рекомендовать для борьбы с полирезистентными штаммами вышеупомянутых микроорганизмов.

Библиографический список

1. *In vitro* antibacterial effects of *Zanthoxylum tingoassuiba* root bark extracts and two of its alkaloids against multiresistant *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. *In vitro* antibacterial activity of leaf extracts of *Zehneria scabra* and *Ricinus communis* against *Escherichia coli* and methicillin resistance *Staphylococcus aureus* / Bereket Abew, Samuel Sahile, Feleke Moges // *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. – 2014. – №10. – P. 816-820.
4. Effect of ethanolic extract of *Ecballium elaterium* against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* / Ghaleb Adwan, Yousef Salameh, Kamel Adwan // *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. – 2011. – №6. – P. 456-460.
5. Antibacterial activities of the methanol extracts of *Canarium schwein-furthii* and four other Cameroonian dietary plants against multi-drug resistant Gram-negative bacteria / Joachim K. Dzotam, Francesco K. Touani, Victor Kuete // *Saudi Journal of Biological Sciences*. – 2015. – № 6. – P. 1-5.
6. Antibacterial activity of plant extracts obtained with alternative organics solvents against food-borne pathogen bacteria / Martha Mendez, Raúl Rodríguez, Judith Ruiz, Diana Morales-Adame, Francisco Castillo, Francisco D. Hernández-Castillo, 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 Tacchini, Mara Di Giulio, Alessandro Grandini, Methap Akin, Luigina Cellini, Gius-ppe 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. Nun~o, 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.

Сведения об авторах

Зажарский Владимир Владимирович - доцент кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней факультета ветеринарной медицины Днепропетровского государственного аграрно-экономического университета, кандидат ветеринарных наук

49100, г. Днепр проспект Героев, 12, кв. 52

E-mail: zazharskiyv@gmail.com

Давыденко Павел Александрович - доцент кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней факультета ветеринарной медицины Днепропетровского государственного аграрно-экономического университета, кандидат ветеринарных наук

49062, г.. Днепр ул. Героев Сталинграда, 12 г, кв.43.

E-mail: davidpavel1983@gmail.com

Кулишенко Олег Николаевич - доцент кафедры эпизоотологии и инфекционных болезней факультета ветеринарной медицины Днепропетровского государственного аграрно-экономического университета, кандидат ветеринарных наук

49100, г. Днепр ул. Наб. Победы, 44/4 кв. 140.

1980oleg.80q @ gmail.com

Боровик Ирина Владимировна - заведующая бактериологической отдела Днепропетровской областной государственной лаборатории ветеринарной медицины

4900, г.. Днепр проспект Александра Поля, 48

drlvmbac@i.ua

49600 м.Днепр, ул. Сергея Ефремова, 25.

Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет

Тел. (056) 744-81-32, факс: (056) 744-08-67

E-mail: info@dsau.dp.ua

49100 г.Днепр, ул.Мандрыковская, 276.

Факультет ветеринарной медицины, кафедра эпизоотологии и инфекционных болезней.

Тел. / Факс: (056) 68-54-36