

УДК 615.2819

АНТИБАКТЕРІАЛЬНА ДІЯ ЕФІРНИХ ОЛІЙ НА КЛІНІЧНІ ІЗОЛЯТИ ОПОРТУНІСТИЧНИХ ІНФЕКЦІЙ

Кривцова М.В., Лівак О.Г., Балабанська Б.В., Марочка Н.А., Білак О.М., Ганич Т.Т.

*Антибактеріальна дія ефірних олій на клінічні ізоляти опортуністичних інфекцій.- Кривцова М.В.¹, Лівак О.Г.², Балабанська Б.В.¹, Марочка Н.А.¹, Білак О.М.¹, Ганич Т.Т.¹- В останні десятиліття проблема антибіотикорезистентності невпинно зростає. У зв'язку з цим, гостро постає потреба розробки стратегічних підходів до антимікробної терапії. Екстракти рослин, ефірні олії часто проявляють високий рівень антимікробної активності. У статті наведені результати дослідження опортуністичної умовно-патогенної мікробіоти при хворобах органів дихання. Досліджено антимікробну активність ефірних олій на клінічні ізоляти. Більшість штамів *Staphylococcus aureus*, навіть антибіотикорезистентні, були чутливими до ефірної олії *Thymus vulgaris* L.*

Ключові слова: антибіотикорезистентні штами, антимікробна активність, ефірні олії, бактерії роду *Staphylococcus*.

Адреса: ¹ - ДВНЗ «Ужгородський національний університет», кафедра генетики, фізіології рослин і мікробіології, Волошина, 32, 88000 Ужгород, Україна, e-mail: maryna.krivcova@gmail.com; ² - Свалявська центральна районна лікарня, м. Свалява, вул. Визволення, 23, Закарпатська область

Antimicrobial effect of essential oils on clinical strains of opportunistic infection.-Kryvtsova M.V.¹, Livak O.G.², Balabanska B.V.¹, Marochka N.A.¹, Bilak O.M.¹, Ganich T.T.¹In last decades a problem with antibiotic resistant bacteria is growing constantly. In this regards there is a keen demand for the development of new strategic approaches to antimicrobial therapy. Plant extracts, plant compounds, essential oils often tend to show a high level of direct antimicrobial activity. The paper presents an account of the results of the study of the opportunistic pathogenic microbiota in pulmonary disease patients. We have established susceptibility of the Staphylococcus genus bacteria to essential oils. Most of the strains, even antibiotic resistant ones, have been established to be susceptible to the essential oil of Thymus vulgaris L.

Key words: antibiotic resistant strain, antimicrobial effect, essential oil, Staphylococcus genus bacteria.

Address: ¹ - Faculty of Biology, Department of Genetics, Plant Physiology and Microbiology, Uzhhorod National University, 32, Voloshyna str., Uzhhorod, 88000 Ukraine, e-mail: maryna.krivcova@gmail.com; ² - Svaliava Central District Hospital, 23, Vyzvolennia str., Svaliava, Zakarpatska Region.

Вступ

Однією з головних проблем сучасної медицини є поширення поліантибіотико-резистентних штамів збудників нозокоміальних і опортуністичних інфекцій. Формування та розповсюдження антибіотикорезистентності перш за все пов'язане з широким неконтрольованим застосуванням антибіотиків у медичній та ветеринарній практиці, харчовій промисловості та сільському господарстві; їх без рецептурним продажем; поширенням серед пацієнтів набутих імунodefіцитних станів різноманітної етіології, а також недотримання правил протимікробного режиму в лікувальних закладах. Серед представників умовно-патогенної мікробіоти одне з основних місць у розвитку гнійно-запальних процесів належить бактеріям роду *Staphylococcus*, у

тому числі метіцилінрезистентних *Staphylococcus aureus* (Коленчукова 2007). За даними ВООЗ, *Staphylococcus aureus*, як збудник гнійно-запальних процесів, віднесений до найнебезпечніших патогенів, які у ряді випадків стали головною причиною суттєвого зниження, або, навіть, повної відсутності ефективності лікування хворих (Страчунський 2005; Murray 1991).

За таких умов постійний моніторинг, циркулюючих полірезистентних штамів умовно-патогенних бактерій, та розробка нових підходів до антибактеріальної терапії набуває особливого значення. Актуальними є розробка та впровадження нових антибактеріальних препаратів і підходів до лікування та корекції запальних процесів, спричинених умовно-

патогенними мікроорганізмами, пошук альтернативних антибактеріальних препаратів, які б у ряді випадків стали альтернативою антибіотикотерапії. Джерелом таких речовин є рослини, які з давніх часів використовуються як у народній медицині, так і традиційній медицині. Тому перспективним є вивчення дії речовин рослинного походження на клінічні ізоляти представників факультативної мікробіоти (Baser et al. 2018; Kačaniová et al. 2017), комплексного застосування фітопрепаратів і пробіотиків (Кривцова, Рівіс 2017), дослідження можливості потенціювання фітопрепаратами антибіотиків.

Метою даної роботи було провести вивчення домінуючих збудників хвороб верхніх дихальних шляхів та провести визначення антибактеріальних властивостей ефірних олій на клінічні ізоляти.

Матеріали і методика досліджень

Дослідження проводили на базі мікробіологічної лабораторії кафедри генетики, фізіології рослин і мікробіології ДВНЗ «УжНУ» та бактеріологічної лабораторії Свалявської центральної районної лікарні.

Бактеріологічне дослідження мокроти хворих проводили загальновідомими мікробіологічними методами шляхом висіву на диференційно-діагностичні та універсальні поживні середовища. Ідентифікацію здійснювали за морфологічними, тинкторіальними та біохімічними властивостями.

Чутливість мікроорганізмів до рослинних екстрактів визначали стандартним дискодифузійним методом (діаметр диску 6 мм) (Ríos, Recio 2005). У даній роботі були

використані ефірні олії деяких видів рослин: *Thymus vulgaris* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Hyssopus officinalis* L., *Matricaria chamomile* L., *Menta piperita* L.; *Salvia officinalis* L., *Coriandrum sativum* L., *Juniperus communis* L., *Pinus silvestris* L., *Abies alba* L., *Pimpinella anisum* L. (виготовлено в «Calendula» Lubovna).

У якості тест культур використовували типові *Staphylococcus aureus* 25923 ATCC (American Type Culture Collection, USA) та клінічні ізоляти золотистого стафілококу.

Інокулят бактерій у кількості 0,1 мл у фізіологічному стерильному розчині відповідно 0.5Mc Farland стандарту висівали на Мюллер-Хінтон агар. Олію заздалегідь наносили на стерильні паперові диски у кількості 0,01 мл та викладали на поверхню поживного агару з культурою. Облік результатів проводили через 24 год. після інкубації у термостаті при 37 °С. Діаметр зон затримки росту вимірювали у мм. Всі досліди проводили у 3-х кратній повторності.

Результати досліджень та їх обговорення

Результати аналізу мокроти 123 людей із запальним захворюваннями дихальних шляхів, таких як пневмонія, обструктивний бронхіт, бронхіальна астма, хронічна обструктивна хвороба, гостре респіраторне вірусне захворювання, показав, що домінуючим збудником даних захворювань були гриби роду *Candida* spp. Їх висівали із мокроти хворих у 62,9% випадків у 2015 році, 79% - у 2016, 58% - у 2017 році (табл. 1).

Табл.1. Домінуючі представники запальних хвороб дихальних шляхів, ізольовані із мокроти хворих

Рік	<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Streptococcus pyogenes</i>		<i>Candida</i> spp.		<i>Staphylococcus hemolyticus</i>	
	%	Абсол. знач.	%	Абсол. знач.	%	Абсол. знач.	%	Абсол. знач.
2015	20	7	3,5	1	62,9	22	14,4	5
2016	9	6	9	6	79	53	3	2
2017	14	3	14	3	58	12	14	3

Бактерії роду *Staphylococcus* стали етіологічним фактором хвороби дихальних шляхів у 34% випадків, 12% та 28% у 2015, 2016, 2017 роках відповідно. При цьому із мокроти ізолювали як *Staphylococcus aureus*, так і *Staphylococcus hemolyticus*. Сумарно за 3 роки, стафілокок був ізольований у 20% хворих. У 12,3% випадків у хворих виділяли *Streptococcus pyogenes*.

Нами було відібрано штами стафілококу із множинною стійкістю до антибіотиків та проведено визначення його чутливості до ефірних олій (табл. 2).

Аналіз мокроти хворих із запальними хворобами дихальних шляхів показав, що із 123 обстежених, у 26 випадках висівали бактерії роду *Staphylococcus*.

Табл. 2. Антибактеріальна активність ефірних олій на типові та клінічні штами *Staphylococcus aureus*, діаметр зон затримки росту у мм, М±m, n=3

Назва	<i>Rosmarinus officinalis</i>	<i>Thymus vulgaris</i>	<i>Menta piperita</i>	<i>Matricaria chamomile</i>	<i>Hyssopus officinalis</i>	<i>Salvia officinalis</i>	<i>Pimpinella anisum</i>	<i>Juniperus communis</i>	<i>Abies alba</i>	<i>Pinus silvestris</i>	<i>Coriandrum sativum</i>
<i>S. aureus</i> 25923 ATCC	8,00±0,10	32,00±0,25	12,00±0,10	0	17,00±0,20	0	0	7,50±0,10	0	0	11,00±0,20
<i>S. aureus</i> клінічні штами	0	50,00±0,25	10,00±0,15	0	20,00±0,10	пригнічення росту	0	7,00±0,01	0	0	10,00±0,10

Примітка: дослідження проведені на 10 клінічних штаммах *Staphylococcus aureus*

Дослідження показали, що найвиразнішою бактерицидною активністю характеризувалась ефірна олія *Thymus vulgaris*, яка впливала як на штам *Staphylococcus aureus* 25923 ATCC, так і на клінічні штами *Staphylococcus aureus* (зони затримки росту становили 32,00±0,25 мм і 50,00±0,25 мм відповідно). Меншою мірою на стафілокок впливала олія *Hyssopus officinalis*, яка мала виразний бактерицидний ефект на типовий та клінічні ізоляти, зони затримки росту становили 17,00±0,20 мм та 20±0,10 мм відповідно. Бактерицидну дію на золотистий стафілокок проявляла і ефірна олія *Menta piperita*. Розмаринова олія впливала лише на штам *Staphylococcus aureus* 25923 ATCC, зона затримки росту становила 8,00±0,10 мм. Coriander oil майже однаково пригнічував ріст обох культур, зони затримки росту становили 11,00±0,20 мм (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) та 10,00±0,10 мм (*Staphylococcus aureus* клінічні штами). Показано, що олії *Pinus silvestris*, *Abies alba*, *Pimpinella anisum*, *Matricaria chamomile* взагалі не впливали на типовий, так і клінічні ізоляти стафілококу. Показано бактериостатичний ефект *Salvia officinalis* на клінічні ізоляти стафілококу.

Отже результати проведених досліджень *in vitro* вказують на високу протимікробну активність ефірних олій щодо клінічних ізолятів стафілококу. У зв'язку з цим, ефірні олії є перспективними препаратами, що можуть бути

включені у комплексну антимікробну терапію запальних процесів, спричинених умовно патогенними мікроорганізмами. Перевагою використання фітопрепаратів є те, що вони значно рідше, ніж антибіотики, провокують формування стійкості у бактерій та мікроскопічних грибів. Дослідження показали, що ступінь антимікробної дії ефірних олій на стафілокок поступово зменшувалась у ряді *Thymus vulgaris*, що виявляв найвиразніший антибактеріальний ефект, *Hyssopus officinalis*, *Menta piperita*, *Coriandrum sativum*. Нашими попередніми дослідженнями була встановлена виразна протигрибкова дія олії чебрецю на клінічні ізоляти грибів роду *Candida*, ізольованих з мокроти хворих на туберкульоз (Кривцова, Когуч 2017; Kryvtsova et al. 2017).

Висновки

Дослідження показали, що бактерії роду *Staphylococcus* залишаються етіологічним фактором запальних захворювань і у ряді випадків характеризуються високою антибіотикорезистентністю. Встановлено високу антибактеріальну дію ефірної олії чебрецю щодо клінічних ізолятів *Staphylococcus aureus*. Помірну антибактеріальну дію виявили ефірні олії *Hyssopus officinalis*, *Menta piperita*, *Coriandrum sativum*.

КОЛЕНЧУКОВА, О.А. (2007). Особенности полирезистентности метициллинутоустойчивых штаммов стафилококка при ЛОР-заболеваниях. *Антибиотики и химиотерапия*, 52(1-2), 21–23.
КРИВЦОВА, М.В., КОГУЧ, Т.Т. (2017). Нозокоміальна мікрофлора у хворих на туберкульоз органів дихання. *Матеріали науково-практичної конференції з*

міжнародною участю, присвяченої щорічним «Читанням» пам'яті академіка Л.В. Громашевського, приуроченої до 130 річчя від дня його народження «Інфекційні хвороби сучасності: етіологія, епідеміологія, діагностика, біологічна безпека». Київ, Україна, 12-13 жовтня, 2017, с. 105.

- КРИВЦОВА, М.В., РІВІС, О.Ю. (2017). Антибактеріальна активність комбінованого застосування фітопрепаратів та пробіотиків для корекції мікробіоти ротової порожнини. *Збірник матеріалів 71 підсумкової конференції професорсько-викладацького складу ДВНЗ «Ужгородський національний університет»*. Ужгород, Україна, 27-28 лютого, 2017, с. 24.
- СТРАЧУНСКИЙ, Л.С. (2005). Внебольничные MRSA – новая проблема антибиотикорезистентности. *Клиническая микробиологическая антимикробная химиотерапия*, 7(1), 32–46.
- BASER, K.H.C., DEMIRCI, F., BUENO, J. (2018). Essential Oils against Microbial Resistance Mechanisms, Challenges and Applications in Drug Discovery. In: RAI, M., ZACCHINO, S., DERITA, M. (Eds), *Essential Oils and Nanotechnology for Treatment of Microbial Diseases*. CRC Press, Boca Raton, 143-158.
- KAČÁNIOVÁ, M., TERENTJEVA, M., VUKOVIC, N., PUCHALSKI, C., ROYCHOUDHURY, S., KUNOVÁ, S., KLŮGA, A., TOKÁR, M., KLUZ, M. & IVANIŠOVÁ, E. (2017). The antioxidant and antimicrobial activity of essential oils against *Pseudomonas* spp. isolated from fish. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 25(8), 1108-1116. doi.org/10.1016/j.jsps.2017.07.005
- KRYVTSOVA, M., RIVIS, O., BABENKO, L., SPIVAK, N., NIKOLAICHUK, V. & GANIC, T. (2017). Antibacterial properties of essential oils against specific opportunistic pathogenic bacteria. *Proceedings of the 2nd Japan – Turkey International Symposium on Pharmaceutical and Biomedical Sciences (JATUSPAB-2)*. Trabzon, Turkey, September 11-12, 2017, p. 30.
- MURRAY, B.M. (1991). New aspects of antimicrobial resistance and the resulting therapeutic dilemmas. *Journal of Infectious Diseases*, 163, 1185–1194.
- RÍOS, J.L., RECIO, M.C. (2005). Medicinal plants and antimicrobial activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1-2), 80-84. doi: 10.1016/j.jep.2005.04.025

Отримано: 10 грудня 2017 р.

Прийнято до друку: 21 грудня 2017 р.