© Український журнал клінічної та лабораторної медицини, 2010
УДК 58.083: [615.322'28: [581.44/.49: 582.893.6] — 035.85

Антимікробна активність ефірної олії, отриманої з надземної частини рослини петрушки листової

Н.Л.Количева, А.И.Авраменко, О.Р.Пряхін, О.М.Денисенко, О.О.Портна

Запорізький державний медичний університет
Запоріжжя, Україна

В експерименті in vitro методом дифузії в агар досліджено антимікробну активність ефірної олії, отриманої з надземної частини рослини петрушки листової, по відношенню до еталонних тест-культур мікроорганізмів. Встановлено, що високу чутливість до досліджуваного зразка ефірної олії мають мікрокок, стафілокок та ентерокок. Експериментальний зразок має виражену бактерицидну дію відносно *Escherichia coli,* але *Pseudomonas aeruginosa* і *Proteus vulgaris* виявилися нечутливими до дії ефірної олії. По відношенню до *Candida albicans* досліджуваний зразок ефірної олії виявився неефективним.

Ключові слова: петрушка листова, ефірна олія, антимікробна активність, метод дифузії в агар.

ВСТУП

На сучасному етапі дослідження більша частина спеціалістів у галузі медицини та фармації сконцентрувалась на вивченні ефірних олій (ЕО) рослин, адже спочатку емпірично, а пізніше науково обґрунтовано було доведено, що саме ці речовини можуть різними способами впливати на мікроорганізми [7, 10, 12]. За останні двадцять років було виконано понад 600 експериментальних досліджень, які підтвердили антимікробну дію ефірних олій у відношенні різних видів бактерій та грибів [8-12]. Одним із актуальних завдань сучасної медицини є боротьба з розвитком у бактерій резистентності до лікарських препаратів. З кожним роком кількість стійких і малочутливих форм мікроорганізмів суттєво зростає. У зв'язку із цим з'явилась необхідність пошуку нових антибактеріальних засобів, які не сприяють формуванню резистентності. З літературних джерел відомо, що у мікроорганізмів при тривалому контакті з ефірними оліями практично не спостерігається ознак звикання до них, що є їх вагомою перевагою перед антибіотиками. Ефірні олії та лікарські рослини привертають до себе увагу перш за все як невичерпні джерела лікарської сировини для створення препаратів з антимікробною, протизапальною та імуномоделюючою дією, дуже необхідних для успішної боротьби з інфекційними захворюваннями різноманітної етіології [1, 2, 7]. У доступній нам літературі присутні поодинокі дані щодо дослідження антимікробної активності ефірної олії петрушки, але системного аналізу цієї важливої проблеми ще бракує [1, 7].

Метою дослідження було вивчення in vitro антибактеріальної та протигрибкової активності ефірної олії, отриманої з надземної частини рослини петрушки листової.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Ефірна олія з надземної частини рослини петрушки листової була отримана методом перегонки з водяною парою. Вивчення антимікробної активності досліджуваного зразка проводили в експерименті in vitro за стандартною методикою дифузії в агар — методом «колодязів» [4-6], який ґрунтується на здатності активнодіючої речовини дифундувати в агар із засіяною тест-культурою. Результати, отримані за допомогою цього методу, дозволяють характеризувати антимікробну активність досліджуваного зразка, тому що зони затримки росту мікроорганізмів утворюються внаслідок дифузії біологічно активних речовин у щільне живильне середовище. Під час експерименту використовували тест-штами бактерій та гриба роду *Candida,* отримані з національної колекції Київського НДІ епідеміології та інфекційних захворювань ім. Л.В.Громашевського

ТАБЛИЦЯ 1

Показники антимікробної активності ефірної олії, отриманої з надземної частини рослини петрушки листової (M±m)

Назва штамів тест-культур мікроорганізмів	Діаметр зон затримки росту, мм
Staphylococcus aureus 209p	22,7±0,3
Micrococcus lysodeiticus 21	23,7±0,3
Enterococcus faecalis 6783	22,3±0,3
Bacillus cereus variant anthracoides 96	21,7±0,3
Escherichia coli 151	22,7±0,3
Pseudomonas aeruginosa 9027	3,7±0,3
Proteus vulgaris 034005	3,3±0,3
Candida albicans 885	10,7±0,3

(табл. 1). Створювали максимально сприятливі умови для культивування мікроорганізмів, а саме: м'ясо-пептонний агар для отримання добової культури бактерій, середовище Сабуро — для 48-годинної культури гриба роду *Candida*. Чашки Петрі однакового розміру встановлювали на горизонтальну поверхню (відрегульовану за ватерпасом) та заливали до них по 10 мл стерильного, не зараженого тест-культурою «голодного» агару (середовище №4) [5]. Після застигання першого шару щільного живильного середовища на його поверхню встановлювали циліндри, виготовлені з нержавіючої сталі (висота 10 мм, зовнішній діаметр 8 мм) та заливали їх «зараженим» середовищем №1 [5], а з метою визначення чутливості гриба роду *Candida* — середовищем Сабуро в кількості 15 мл. Для другого шару стерильне щільне живильне середовище, розлите в пробірки в кількості 15 мл, розплавляли на водяній бані, охолоджували до температури 45°С та інокулювали суспензіями тест-культур. Мікробне навантаження складало $1*10^5$ КУО/мл. Суспензії готували в окремих пробірках у фізіологічному розчині ex tempore з добової культури бактерій та 48-годинної культури гриба роду *Candida*. Концентрацію мікроорганізмів у суспензії визначали за державним стандартом каламутності №5. Після застигання другого шару циліндри виймали, та в «колодязі», які утворилися між першим та другим шарами щільних живильних середовищ, вносили стерильною градуйованою піпеткою досліджуваний зразок ефірної олії в кількості 0,3 мл. Експериментальні чашки Петрі інкубували в термостаті при +37°С протягом 24 год. для культивування бактерій і при +25°С протягом 48 год. — гриба роду *Candida*. Діаметр зон затримки росту тест-культур вимірювали в мм, включаючи діаметр «колодязя». Оцінку антимікробної активності проводили за наступними критеріями:

– відсутність зони затримки росту мікроорганізмів навколо «колодязя», а також зони затримки діаметром до 6-10 мм оцінювали як нечутливість мікроорганізмів до внесеного в «колодязь» зразка;

– зони затримки росту діаметром 11-20 мм оцінювали як чутливість культури до досліджуваного зразка;

– зони затримки росту діаметром понад 20 мм оцінювали як показник високої чутливості мікроорганізмів до зразка.

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати вивчення антимікробної активності досліджуваної ефірної олії наведені в табл. 1. Було встановлено, що високу чутливість до зразка ефірної олії серед використовуваних тест-культур мають грампозитивні коки, а саме мікрокок, стафілокок та ентерокок (табл. 1).

Максимально виражена дія ефірної олії, отриманої з надземної частини петрушки листової, виявлялася по відношенню до тест-культури *Micrococcus lysodeiticus 21* (23,7±0,3 мм). У цілому відомо, що різноманітні за походженням та складом ефірні олії впливають на кокову флору більш активно, ніж на паличковидну [1, 2, 7]. Результати нашого дослідження також дозволяють констатувати той факт, що експериментальний зразок має виражену бактерицидну дію відносно тест-культури *Escherichia coli 151* (22,7±0,3 мм), але використовувані штами *Pseudomonas aeruginosa 9027* і *Proteus vulgaris 034005* виявилися нечутливими до дії ефірної олії (зони затримки росту 3,7±0,3 і 3,3±0,3 мм відповідно). За літературними даними також відомо, що найбільша резистентність до ефірної олії серед представників грамнегативних паличковидних бактерій встановлена в палички синьо-зеленого гною та вульгарного протея [3, 9, 11], що збігається з нашими результатами. По відношенню тест-культури *Candida albicans 885* досліджуваний зразок ефірної олії виявився неефективним (10,7±0,3 мм). Наприкінці роботи експериментальні чашки Петрі з використовуваними тест-культурами мікроорганізмів та досліджуваним зразком ефірної олії зберігалися протягом трьох місяців у бактеріологічній лабораторії, й весь цей час утворені зони затримки росту залишались стерильними, що свідчить про те, що ефірна олія, отримана з надземної частини рослини петрушки листо-

вої, добре дифундує в поживне середовище, а її дія відповідає бактерицидному ефекту.

ВИСНОВКИ

1. Шляхом експериментального мікробіологічного дослідження in vitro обгрунтовано антибактеріальну та протигрибкову активність ефірної олії, отриманої з надземної частини рослини петрушки листової.

2. Встановлено, що високу чутливість до досліджуваного зразка ефірної олії серед використовуваних тест-культур мають грампозитивні коки, а саме мікрокок, стафілокок та ентерокок.

3. Доведено, що експериментальний зразок має виражену бактерицидну дію відносно тест-культури *Escherichia coli 151,* але використовувані штами *Pseudomonas aeruginosa 9027* і *Proteus vulgaris 034005* виявилися нечутливими до дії ефірної олії. По відношенню тест-культури *Candida albicans 885* досліджуваний зразок ефірної олії виявився неефективним.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бородина А.В. Сравнительный анализ антимикробной активности эфирных масел // Архив клинической и экспериментальной медицины. — 2004. — Т.13. — №1-2. — С. 65-67.
2. Бородина А.В. Антигрибковая активность эфирных масел // Aromaterapie. — 2004. — №3. — С. 32-33.
3. Вичканова С.А. Перспективы изучения антимикробной и противовирусной активности эфирных масел / Материалы IV Международного конгресса по эфирным маслам. — М., Саттва.
4. Волянский Ю.Л. Визначення специфічної активності протимікробних лікарських засобів: Метод. рек. / Волянский Ю.Л., Грищенко І.С., Широбоков В.П. — К., 2004. — 36 с.
5. Калиниченко Н.Ф. Определение активности антибактериальных средств наружного применения для лечения гнойно-воспалительных инфекций: Метод. рек. / Калиниченко Н.Ф., Волянский Ю.Л., Старобимец З.Г. — Х., 1991. — 16 с.
6. Навашин С.М. Рациональная антибиотикотерапия (справочник) / Навашин С.М., Фомина И.П. — М.: Медицина, 1982. — С. 496.
7. Николаевский В.В. Биологическая активность эфирных масел / Николаевский В.В., Еременко А.Е., Иванов И.К. — М.: Медицина, 1987. — С. 36-37.
8. Dorman H.J., Deans S.G. Antimicrobial agents from plants: Antimicrobial activity of plant volatile oils // J. Appl. Microbiol. — 2000. — №88. — P. 308-316.
9. Hammer K.A., Carbon C.F., Riley T.V. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts // J. Appl. Microbiol. — 1999. — №86. — P. 985-990.
10. Hulin V., Mathot A.G., Mafart P.D. Les pro-priŭtŭs antimicrobiennes des builes essentials et composŭs d Ìaromes // J. Science Aliments. — 1998. — №18. — P. 563-582.
11. Kalemba L., Kunicka A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils // J. Curr. Med. Chem. — 2003. — №10. — P. 813-829.
12. Smith-Palmer A., Steart J., Fyfe L. Antimicrobial properties of plant essential oils and essences against fire important food-borne pathogens // J. Lett Appl. Microbiol. — 1998. — №26. — P.118-122.

Н.Л.Колычева, А.И.Авраменко, О.Р.Пряхин, О.Н.Денисенко, Е.А.Портная. Антимикробная активность эфирного масла, полученного из надземной части растения петрушки. Запорожье, Украина.

Ключевые слова: *петрушка листовая, эфирное масло, антимикробная активность, метод диффузии в агар.*

В эксперименте in vitro методом диффузии в агар исследована антимикробная активность эфирного масла, полученного из надземной части растения петрушки листовой, по отношению к эталонным тест-культурам микроорганизмов. Установлено, что высокую чувствительность к исследуемому образцу имеют микрококк, стафилококк и энтерококк. Экспериментальный образец обладает выраженным бактерицидным действием относительно Escherichia coli, но Pseudomonas aeruginosa и Proteus vulgaris оказались нечувствительными к действию эфирного масла. По отношению к Candida albicans исследуемый образец эфирного масла оказался неэффективным.

N.L.Kolycheva, A.I.Avramenko, O.R.Pryakhin, O.N.Denisenko, E.A.Portnaya. Antimicrobial activity of essential oil obtained from the overground part of leavy parsley. Zaporizhzhya, Ukraine.

Key words: *leavy parsley, essential oil, antimicrobial activity, diffusion test.*

Antimicrobial activity of essential oil obtained from the overground part of leavy parsley against test-cultures of microorganisms has been investigated in experiment in vitro by the diffusion test. It has been established that micrococci, staphylococci, enterococci have a high sensitivity to experimental example. The experimental example possesses a pronounced bactericidal activity against Escherichia coli, but Pseudomonas aeruginosa and Proteus vulgaris appeared to be non-sensitive to the action of essential oil. As to Candida albicans, the experimental example appeared to be non-effective.

Надійшла до редакції 23.09.2010 р.