

УДК 579.8:615.281:615.33:616-001.17-092.4

В.В. Мінухін, Н.І. Коваленко, В.Л. Ткаченко, Г.В. Сіріца

Харківський національний медичний університет

ВИВЧЕННЯ ПРОТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ЕФІРНОЇ ОЛІЇ МАНУКИ ТА ЇЇ КОМБІНАЦІЙ З АНТИБІОТИКАМИ ПО ВІДНОШЕННЮ ДО ЗБУДНИКІВ ОПІКОВОЇ ІНФЕКЦІЇ В ДОСЛІДАХ IN VITRO

В ході дослідження виявлено синергізм протимікробної дії ефірної олії мануки та ряду антибіотиків по відношенню до умовно-патогенних мікроорганізмів – збудників опікової інфекції. Встановлено, що найефективнішими були комбінації олії мануки з азитроміцином, доксицикліном, цефоперазоном та цефотаксимом. Зроблено висновок, що олія мануки може бути рекомендована не тільки як самостійний препарат, але і як базовий компонент для створення нових лікарських препаратів.

Ключові слова: *опікова інфекція, ефірна олія мануки, антибіотики.*

Місцеве використання антибактеріальних препаратів у хворих з термічними ураженнями займає одне з головних місць у комплексному лікуванні опечених, обмежуючи ризик виникнення інфекційних ускладнень, у тому числі генералізації інфекції [1]. Було запропоновано і використовується багато препаратів і засобів для місцевого лікування опікових ран, і їх перелік постійно поповнюється [2].

Поширення полірезистентних штамів мікроорганізмів – збудників опікової інфекції диктує необхідність раціонального використання існуючих і пошуку нових ефективних антимікробних препаратів.

Одним із таких препаратів є ефірна олія мануки (*Leptospermum scoparium*) із Нової Зеландії, яка ефективно протидіє широкому спектру бактерій і має виражені антивірусні, протигрибкові властивості [3]. Ефірні олії, окрім антимікробної дії, прискорюють репаративні процеси в рані, мають виражений ранозагоюючий ефект. Мікроорганізми при тривалому контакті з ефірними оліями не набувають до них резистентності, що є суттєвою їх перевагою перед іншими антибактеріальними препаратами [4].

Метою роботи було вивчення впливу олії мануки на протимікробну активність антибіотиків в досліді *in vitro*.

Матеріал і методи. В якості тест-культур використовували еталонні штами мікроорганізмів: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 5505, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Proteus vulgaris* XZ 4636, *Proteus mirabilis* ГІСК 160208, *Micrococcus luteus* ATCC 4698, *Sarcina lutea* ATCC 9431, *Candida albicans* ВКПГУ 401/НСТС 885-653, а також клінічні штами, виділені від хворих, які знаходилися на стаціонарному лікуванні в опіковому комунальному закладі охорони здоров'я обласної клінічної лікарні «Центр екстреної медичної допомоги і медицини катастроф» (м. Харків). Всього було досліджено 10 еталонних і 8 клінічних штамів.

Антибактеріальну і протигрибкову активність ефірної олії мануки в досліді *in vitro* вивчали методами двократних серійних розведень і дифузії в агар відповідно до Наказу МОЗ України № 167 від 05.04.2007 [5] та рекомендацій Міжнародного комітету клі-

© В.В. Мінухін, Н.І. Коваленко, В.Л. Ткаченко, Г.В. Сіріца, 2013

нічних лабораторних стандартів (NCCLS, 2002) [6].

При визначенні МПК олії мануки у зв'язку з її нерозчинністю у воді використовували 5%-вий Твін 80 для її перетворення в емульсію, яка змішується з водними розчинами. Концентрація олії мануки варіювала від 0,02 до 9,6 % w/v і становила 5,12; 2,56; 1,28; 0,64; 0,32; 0,16; 0,08; 0,04; 0,02; 0,01 об'ємн. проц. Мікробне навантаження було близько 107 КУО/мл.

Для вивчення сумісної дії олії мануки й антибіотиків використовували метод дифузії в агар. В розплавлений і охолоджений до

ками. Після інкубації в термостаті при 37 °С протягом 48 год вимірювали зони пригнічення росту навколо диска. МПК і діаметри зон затримки росту визначали як середнє значення трикратних повторів для кожного мікроорганізму. Отримані результати статистично обробили [7].

Результати та їх обговорення. Дослідження антибактеріальної та протигрибкової активності олії мануки методом серійних розведень показало, що як грамполозитивні, так і грамнегативні бактерії, а також гриби роду *Candida* виявили чутливість до даної речовини (табл. 1). Причому як стандартні, так і клініч-

Таблиця 1. Протимікробна активність олії мануки по відношенню до еталонних і клінічних штамів мікроорганізмів

Штами	Вид мікроорганізма	МПК, об'ємн. проц.		Діаметр зон затримки росту, мм
		власні результати	за даними [8]	
<i>Грамполозитивні бактерії</i>				
Еталонні	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	0,080	0,078	33,00 1,20
	<i>S. epidermidis</i> ATCC 14990	0,080	0,078	30,00±1,20
	<i>M. luteus</i> ATCC 4698	0,020	0,020	–
	<i>S. lutea</i> ATCC 9431	0,080	0,078	–
	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	0,160	0,156	33,00 1,50
Клінічні	<i>S. aureus</i> 3465	0,160	–	30,00±2,00
	<i>S. aureus</i> 1823	0,080	–	28,00±1,60
	<i>S. epidermidis</i> 1748	0,160	–	27,00±1,80
	<i>S. epidermidis</i> 1924	0,160	–	25,00±0,80
<i>Грамнегативні бактерії</i>				
Еталонні	<i>E. coli</i> ATCC 25922	2,56	2,50	12,00±0,60
	<i>K. pneumoniae</i> NCTC 5055	5,12	5,00	12,00±0,60
	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	2,56	2,50	0
	<i>P. vulgaris</i> XZ 4636	5,12	5,00	14,00±0,80
	<i>P. mirabilis</i> ГІСК 160208	5,12	–	15,00±0,60
Клінічні	<i>E. coli</i> 160	5,12	–	10,00±0,80
	<i>K. pneumoniae</i> 89	5,12	–	12,00±0,60
	<i>P. vulgaris</i> 44	5,12	–	12,00±0,60
	<i>P. aeruginosa</i> 1030	5,12	–	0
<i>Гриби</i>				
Еталонні	<i>C. albicans</i> NCTC 885-653	0,64	0,625	15,00 0,60

45 °С агар вносили спиртовий розчин олії мануки в концентрації 70 мкг/мл, або 0,007 об'ємн. проц. Суспензію мікроорганізму в концентрації $2 \cdot 10^9$ КУО/мл рівномірно розподіляли по поверхні охолодженого агару, після чого розміщували стандартні диски з антибіоти-

ні штами грамполозитивних бактерій виявили чутливість до значно нижчих МПК (від 0,02 до 0,16 об'ємн. проц.), ніж грамнегативні бактерії. Серед останніх найчутливішими виявилися стандартні штами *E. coli* ATCC 24923 та *P. aeruginosa* ATCC 27853 з МПК

2,56 об'ємн. проц. Інші досліджені стандартні та клінічні штами синьогнійної палички, клебсієли та протей мали чутливість до МПК 5,12 об'ємн. проц. Стандартний штам *S. albicans* ВКПГУ 401/НСТС 885-653 характеризувався чутливістю до МПК 0,64 об'ємн. проц.

Отримані нами дані в цілому співпадають з даними, описаними в роботі [8]. На різницю в чутливості до ефірних олій у грампозитивних і грамнегативних бактерій вказують і автори [9–11]. А.С. Бондаренко зі співавт. [9] відмічають, що із 700 видів вивчених ними лікарських рослин більше 80 % видів продукують речовини, активні по відношенню до грампозитивних бактерій, і тільки у 2 % досліджених видів рослин виявлені інгібітори грамнегативних бактерій. Специфіка дії ефірних олій на мікроорганізми може зумовлюватися як фізіологією самих мікробних клітин, так і різним хімічним складом олій.

Як видно із даних табл. 1, результати, отримані методом дифузії в агар, співпадають з результатами, отриманими методом серій-

B. subtilis АТСС 6633 (33 мм). Діаметри затримки росту клінічних штамів стафілококів і стрептококів варіювали від 25 до 30 мм.

Однак, незважаючи на високі протимікробні властивості олій мануки, ми вважаємо доцільним подальше вивчення можливості підвищення її активності, насамперед шляхом введення до складу препаратів на основі олій мануки антибіотиків.

Відомо, що ефірні олії та антибіотики проявляють синергізм у вигляді потенціювання ефектів протимікробної дії. Олії монарди, базилика, евкаліпту, коріандру, лаванди, азулену з успіхом використовуються різними авторами в комплексному лікуванні інфікованих опіків [4]. Крім того доведено, що ефірні олії базилика та монарди підвищують ефективність деяких антибіотиків, наприклад, стрептоміцину та еритроміцину в 4–10 разів [4]. Це явище має суттєве значення для клінічної практики, оскільки дає можливість не тільки підвищити активність антибіотиків, але й знизити їх дозу. При цьому ефірні олії сприяють покращенню

Таблиця 2. Антибактеріальна активність олій мануки в комбінації з антибіотиками (діаметри зон)

Вид мікроорганізму	Показники	Азитроміцин	Амікацин	Доксициклін	Офлоксацин
<i>S. aureus</i> АТСС 25923	К	21,0 ± 1,5	15,0 ± 1,0	25,0 ± 1,5	21,0 ± 1,5
	1 %	25,0 ± 0,6*	17,0 ± 0,6	29,0 ± 0,6*	22,0 ± 0,6
<i>E. coli</i> АТСС 25922	К	20,0 ± 0,6	15,0 ± 1,5	13,0 ± 0,6	27,0 ± 1,0
	1 %	21,0 ± 0,6	15,0 ± 0,6	20,0 ± 0,6*	30,0 ± 1,0*
<i>K. pneumoniae</i> АТСС 5055	К	8,0 ± 1,0	13,0 ± 1,5	7,0 ± 0,6	30,0 ± 0,6
	1 %	10,0 ± 0,6	17,0 ± 1,5*	10,0 ± 0,6*	30,0 ± 0,6
<i>P. aeruginosa</i> АТСС 27853	К	20,0 ± 0,6	15,0 ± 1,5	0	18,0 ± 1,0
	1 %	25,0 ± 1,0*	17,0 ± 0,6	0	20,0 ± 1,0
<i>P. aeruginosa</i> АТСС 9027	К	16,0 ± 1,5	18,0 ± 1,0	9,0 ± 0,6	20,0 ± 0,6
	1 %	20,0 ± 0,6*	20,0 ± 0,6	9,0 ± 1,5	21,0 ± 0,6
<i>P. vulgaris</i> XZ 4636	К	0	11,0 ± 1,1	0	26,0 ± 0,6
	1 %	13,0 ± 1,0*	14,0 ± 0,6*	12,0 ± 1,0*	30,0 ± 0,6*
<i>P. mirabilis</i> 160208	К	20,0 ± 0,6	12,0 ± 0,6	10,0 ± 0,6	25,0 ± 0,6
	1 %	20,0 ± 1,1	15,0 ± 0,6*	10,0 ± 1,0	26,0 ± 0,6

Примітка. К (контроль) – активність антибіотиків; 1 % – активність комбінації антибіо-

них розведень. За даними методу дифузії в агар, грампозитивні бактерії були більш чутливими до олій мануки, ніж грамнегативні. Найбільші діаметри затримки росту відмічалися у *S. aureus* АТСС 25923 (33 мм) та

цитологічної картини ранових виділень, прискорюють репаративні процеси в рані, дають виражений ранозагоюючий ефект і можуть бути рекомендовані для включення в комплексне лікування інфікованих ран.

З цією метою нами оцінювалася можливість сумісного використання олії мануки і деяких антибіотиків. Результати дослідження наведені в табл. 2.

По відношенню до *S. aureus* встановлено синергізм дії олії мануки з азитроміцином, цефуроксимом, цефоперазоном, кліндаміцином та фузидином. Достовірне підвищення активності цефоперазону виявлено щодо всіх досліджених штамів, крім *P. vulgaris* і *P. mirabilis*. Олія мануки потенціює також дію цефотаксиму по відношенню до всіх досліджених грамнегативних мікроорганізмів. Доксидиклін і офлоксацин були ефективнішими в комбінації з олією мануки щодо *E. coli*, *K. pneumoniae* та *P. vulgaris*. Синергізм дії спостерігався при комбінації амікацину з олією мануки щодо *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* та *P. vulgaris*. Ефективною була також комбінація азитроміцину з олією мануки по відношенню до *P. aeruginosa*, *P. vulgaris* та *P. mirabilis*.

по відношенню до еталонних штамів мікроорганізмів за даними методу дифузії в агар затримки росту, мм)

Цефазолін	Цефуроксим	Цефоперазон	Цефотаксим	Кліндаміцин	Фузидин
26,0±0,6	8,0 1,5	18,0±0,6	8,0±1,0	16,0±1,5	24,0±1,0
26,0±0,6	12,0±0,6*	21,0±0,6*	10,0±0,6	20,0±0,6*	30,0±1,0*
15,0±0,6	0	20,0±0,6	15,0±0,6	0	0
15,0±0,6	0	25,0±1,5*	20,0±0,6*	0	0
0	6,0±1,0	6,0±0,6	11,0±1,5	0	0
0	7,0±1,0	12,0±1,1*	20,0±0,6*	0	0
0	0	13,0±1,0	0	0	0
0	0	16,0±1,0*	7,0±1,0*	0	0
0	0	15,0±0,6	0	0	0
0	0	20,0±1,0*	0	0	0
0	0	11,0±1,0	16,0±0,6	0	0
0	0	13,0±1,0	20,0±0,6*	0	0
0	7,0±0,6	16,0±0,6	15,0±0,6	0	0
0	7,0±1,1	16,0±0,6	20,0±0,6*	0	0

тиків з олією мануки; * $p \leq 0,05$.

Таким чином, одержані результати свідчать про те, що ефірна олія мануки проявляє синергізм дії з низкою антибіотиків по відношенню до грамположитивних і грамнегативних збудників опікової інфекції, її комбінації

з азитроміцином, доксицикліном, цефоперазоном та цефотаксимом можуть бути рекомендовані для подальшого вивчення в якості компонентів лікарських форм для лікування місцевих інфекційних процесів.

Висновки

1. Олія мануки високоактивна щодо грамположитивних бактерій та грибів роду *Candida* і має помірну активність щодо грамнегативних факультативно-анаеробних бактерій.

2. Олія мануки потенціює протимікробні властивості низки антибіотиків, а саме азитроміцину, цефуроксиму, цефоперазону, доксицикліну по відношенню до грамположитивних і грамнегативних збудників опікової інфекції.

Перспективність дослідження. У зв'язку з вираженим посиленням дії антибіотиків на умовно-патогенні мікроорганізми олія мануки може бути рекомендована не тільки як

самостійний лікарський препарат, а і як базовий компонент для створення нових лікарських засобів, які можуть знайти використання для лікування ряду асоційованих інфекцій.

Список літератури

1. Крутиков М.Г. Антибиотикопрофилактика в комбустиологии / М.Г. Крутиков, А.Э. Бобровников // Комбустиология. – 2005. – № 4. – С. 34–37.
2. Алексеев А.А. Местное использование антимикробных средств для лечения ожоговых ран / А.А. Алексеев, А.Э. Бобровников, М.Г. Крутиков // Комбустиология. – 2011. – № 45. – С. 25–32.
3. Манука (Лептоспермум метельчатый). Режим доступа: <http://www.aromajournal.com/efir/manuka.htm>
4. Николаевский В.В. Ароматерапия. Справочник / В.В. Николаевский. – М.: Медицина, 2009. – 197 с.
5. Наказ МОЗ України № 167 від 05.04.07. Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів». – К., 2007. – 52 с.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twelfth Informational Supplement NCCLS Document M 100 – 54. – 2002. – Vol. 22, № 1.
7. Поллард Дж. Справочник по вычислительным методам статистики / Дж. Поллард. – М.: Финансы и статистика, 1982. – 344 с.
8. Tairawhiti manuka oil. Режим доступа: <http://www.manuka-oil.com/antimicro.html>
9. Изучение антибиотических свойств некоторых лекарственных растений / А.С. Бондаренко, Б.Е. Айзенман, Д.Г. Затула [и др.] // Фитонциды. Экспериментальные исследования, вопросы теории и практики. – К.: Наук. думка, 1975. – С. 85–89.
10. Солдатченко С.С. Профилактика и лечение заболеваний эфирными маслами / С.С. Солдатченко, Г.Ф. Кашенко. – Симферополь: Таврида, 2000. – 160 с.
11. Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties / J. Reichling, P. Schnitzler, U. Suschke, R. Saller // Forsch Komplementmed. – 2009. – Vol. 16, № 2. – P. 79–90. Режим доступа: <http://www.pranamonde.co.za/publication.pdf>

В.В. Минухин, Н.И. Коваленко, В.Л. Ткаченко, А.В. Сирица

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ЭФИРНОГО МАСЛА МАНУКИ И ЕЁ КОМБИНАЦИЙ С АНТИБИОТИКАМИ В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ОЖОГОВОЙ ИНФЕКЦИИ В ОПЫТАХ IN VITRO

Выявлен синергизм противомикробного действия эфирного масла мануки и ряда антибиотиков в отношении условно-патогенных микроорганизмов – возбудителей ожоговой инфекции. Установлено, что наиболее эффективными были комбинации эфирного масла мануки с азитромицином, доксициклином, цефоперазоном и цефотаксимом. Сделан вывод, что масло мануки может быть рекомендовано не только как самостоятельный препарат, но и как базовый компонент для создания новых лекарственных препаратов.

Ключевые слова: ожоговая инфекция, эфирное масло мануки, антибиотики.

V.V. Minukhin, N.I. Kovalenko, V.L. Tkachenko, G.V. Siritsa

STUDY OF ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF MANUKA ESSENTIAL OIL AND ITS COMBINATION WITH ANTIBIOTICS AGAINST CAUSATIVE AGENTS OF BURN INFECTION IN EXPERIMENTS IN VITRO

The antimicrobial synergism of manuka essential oil is combined with some antibiotics was discovered. Combinations of manuka essential oil with azithromycin, doxycycline, cefoperazone and cefotaxime were demonstrated the highest antimicrobial effect against germs of burn infection. These results suggested that manuka essential oil can be recommended as self-supporting preparation, as basic component for new medication creation

Key words: burn infection, manuka essential oil, antibiotics.

Поступила 27.06.13