

УДК 579. 61

В. П. Полянська, О. В. Кінаш, Н. П. Коваленко, О. В. Саргош  
ВДНЗ України "Українська медична стоматологічна академія",  
м. Полтава

## ВИЗНАЧЕННЯ МІНІМАЛЬНОЇ ПРИГНІЧУЮЧОЇ КОНЦЕНТРАЦІЇ ЕФІРНОЇ ОЛІЇ MONARDA FISTULESA ДЛЯ КУЛЬТУРИ ГРИБІВ ВИДУ ASPERGILLUS FUMIGATUS

Ефірна олія монарди дудчастої здатна пригнічувати розвиток грибів роду *Candida*. Визначена фунгіцидна дія олії монарди дудчастої на гриби виду *Aspergillus fumigatus* шляхом визначення її мінімальної фунгіостатичної та мінімальної фунгіцидної концентрації. Встановлена протигрибкова дія ефірної олії на *Aspergillus fumigatus* у діапазоні 233,7 мг/мл – 29, 2 мг/мл, виявлена мінімальна фунгіцидна активність олії монарди дудчастої на гриби виду *Aspergillus fumigatus* у концентрації 29,2 мг/мл. Ефірна олія монарди дудчастої може бути використана як протигрибковий засіб.

**Ключові слова:** ефірна олія, монарда дудчаста, гриби виду *Aspergillus fumigatus*, концентрація.

З кожним роком зростає зацікавленість екологічно чистими технологіями та біологічними методами боротьби з патогенними мікроорганізмами. Перспективним напрямком є застосування ефірних олій, які є природним концентратом фітонцидів. Ефірні олії – це багатокомпонентні органічні сполуки терпенів, спиртів, альдегідів, кетонів та інших вуглеводнів, які продукуються ефіроолійними рослинами. Майже 300 компонентів, що входять до їх складу, обумовлюють ряд фармакологічних властивостей: антимікробні, бактерицидні, антивірусні, протизапальні, імуномодулюючі. Так, у наукових дослідженнях Рамазанової Н. Х. [8], Капелева О. І. та інш. [5] показана висока пригнічуюча активність ефірних олій щодо гемолітичного стафілокока, стрептококів, представників тифо-дизентерійної групи мікроорганізмів. Великородов А. В. і Ковальов В. Б. [4] встановили досить помітний фунгіцидний вплив ефірної олії лопуха ганусового на *Microsporium canis*, *Trichophyton rubrum*, *Candida albicans*, а Міхажілов-Крстев та Раднович [10] встановили пригнічуючу дію ефірної олії чаберу садового на *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Candida albicans*. При аналізі захворюваності на ГРВІ було встановлено, що проведення курсу ароматерапії знижувало захворюваність у 1,5–2,8 рази [3].

У ряді наукових досліджень показано, що найбільшою антимікробною активністю володіє ефірна олія *Monarda fistulosa* (монарди дудчастої) [7]. Найбільш виражений ефект бактерицидної дії даної олії спостерігався відносно *Streptococcus pyogenes* та *Neisseria catarrhalis*. Відносно інших видів мікроорганізмів бактерицидність олії монарди зменшувалась. Дослідження протигрибкової дії ефірної олії монарди проводилось на *Candida albicans*. Було визначено фунгіцидну концентрацію олії монарди, яка становила 100 мкг/мл. Проте, недостатньо вивчено фунгіцидні концентрації монарди на міцеліальні гриби. Серед міцеліальних грибів особливу увагу привертають представники роду *Aspergillus* (*A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. niger*). Аспергіли є природними мешканцями ґрунту, можуть зустрічатися у воді, деяких продуктах харчування, вентиляційних системах, на поверхні листків кімнатних і декоративних рослин. Збільшення кількості спор у повітрі спостерігається під час ремонтних та конструкційних робіт приміщень, що призводить до різкого падіння біологічної активності повітря. Інгаляційний шлях потрапляння спор *Aspergillus* spp. з повітря під час дихання може бути причиною респіраторних захворювань людини і тварин. Тому у рамках ефективного оздоровлення атмосферного повітря доцільним є розширення спектру вивчення фунгіцидної дії ефірних олій на міцеліальні гриби.

**Метою** роботи було визначення мінімальної фунгіостатичної та фунгіцидної концентрації ефірної олії монарди дудчастої для культури грибів виду *A. fumigatus*.

**Матеріал та методи дослідження.** В якості основної досліджуваної речовини використовували ефірну олію *Monarda fistulosa* (виробник ООО НПФ «Сайбервижн-Био», Росія). Для визначення мінімальної пригнічуючої концентрації олії монарди дудчастої для культури грибів застосовували метод серійних макророзведень. Для якісного розведення олій в бульйоні Сабуро використовували спиртовий розчин [7]. Протигрибкову дію ефірних олій краще оцінювати у рідких середовищах, оскільки гідрофобна природа більшості компонентів ефірної олії перешкоджає однорідному розповсюдженню цих речовин в агарі [11].

Приготування суспензії спор. Суспензію спор тест-культури готували на бульйоні Сабуро, концентрацію колонієутворюючих одиниць в 1мл суспензії визначали стандартним методом за допомогою камери Горяєва [5]. Конідії обережно збирали бактеріологічною петлею з поверхні

колоній (2-3 бактеріологічних петлі на 7-10 мл бульйону) та вносили у бульйон Сабуро, ретельно перемішуючи, аби «розбити» ланцюжки конідій. Перед кожним відбором суспензії для підрахунку спор її ретельно перемішували, оскільки спори швидко осідають на дно пробірки. Підраховували кількість спор мінімум у п'яти великих квадратах камери Горяєва по діагоналі або у кутах сітки та в її середині при збільшенні мікроскопа 15 x 10. Готували два препарати. Підрахунок спор у першому препараті проводили в обох сітках камери, у другому препараті – в одній із сіток. Таким чином, підрахунок проводили у трьох сітках. Вираховували середню кількість спор п. Сітка камери Горяєва складається з 225 великих квадратів, об'єм 1 квадрата дорівнює 0,004 мм<sup>3</sup>. Якщо в 1 квадраті (в 0,004 мм<sup>3</sup>) виявлено n колонієутворюючих одиниць, то в 1 мл (в 1000 мм<sup>3</sup>) їх кількість X дорівнює:  $X = n \times 1000:0,004$ ;  $X = n \times 250000$ , отже  $X = n \times 2,5 \times 10^6$ .

Було досягнуто необхідної для методу серійних розведень концентрації спор *Aspergillus fumigatus* у кількості 2 x 10<sup>6</sup> КУО/мл, що відповідає оптичному стандарту мутності 0,5 за McFarland [9].

Посіви спор грибів інкубували при температурі 26°C протягом 72 годин [1]. Через 24 години та через 72 годин інкубації з пробірок, у яких немає ознак росту проводили посів на середовище Сабуро у чашки Петрі для визначення фунгіостатичного та фунгіцидного ефекту.

Через 24 та 48 годин інкубації при оптимальній температурі відмічали ту найменшу концентрацію препарату у пробірці, посів з якої не давав росту на щільному агарі Сабуро. Її вважали мінімальною фунгіцидною концентрацією.

В якості тест-культури використовували 5-6 денну чисту культуру грибів виду *Aspergillus fumigatus*.

**Результати дослідження та їх обговорення.** Результати дослідження мінімальної пригнічуючої концентрації олії монарди дудчастої для культури грибів виду *Aspergillus fumigatus* представлені в таблицях 1 і 2.

Таблиця 1

**Визначення мінімальної пригнічуючої концентрації ефірної олії монарди дудчастої методом серійних розведень**

Компоненти, мл	Пробірки						
	контроль	1	2	3	4	5	6
Бульйон Сабуро	1	-	1	1	1	1	1
Робочий розчин ефірної олії монарди дудчастої (0,5 мл ефірної олії монарди дудчастої + 0,5 мл настоянки ехінацеї пурпурової)	-	1	1	1	1	1	1
Суспензія спор у бульйоні Сабуро	1	1	1	1	1	1	1
Розведення ефірної олії	-	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64	1 : 128
Розведення робочого розчину	-	1 : 2	1 : 4	1 : 8	1 : 16	1 : 32	1 : 64
Концентрація ефірної олії, мг/мл	-	233,7	116,8	58,4	29,2	14,6	7,31
Облік через 24 год	ріст	-	-	-	-	ріст	ріст
Облік через 72 год	ріст	-	-	-	-	ріст	ріст

Таблиця 2

**Особливості росту тест-культури при культивуванні з ефірною олією монарди дудчастої в рідкому поживному середовищі**

Тривалість інкубації, год	Концентрація ефірної олії, мг/мл						
	контроль	233,7	116,8	58,4	29,2	14,6	7,31
24	Помутніння середовища, на поверхні ріст у вигляді світлих колоній, пігментованих по центру	Ознаки росту відсутні, суспензія без змін	Ознаки росту відсутні, суспензія без змін	Ознаки росту відсутні, суспензія без змін	Ознаки росту відсутні, суспензія без змін	Незначне помутніння середовища	Помутніння середовища, ріст у вигляді кільця білого кольору на поверхні
72	Активний ріст вглиб середовища, на всій поверхні середовища утворилися колонії з добре розвиненим пігментованим	Ознаки росту відсутні, суспензія без змін	Ознаки росту відсутні, суспензія без змін	Ознаки росту відсутні, суспензія без змін	Ознаки росту відсутні, суспензія без змін	Ріст по стінках пробірки на поверхні середовища, гладкі колонії білого кольору,	Відсутній ріст вглиб середовища, на поверхні середовища утворилися колонії з пігментованим міцелієм

	міцелієм сіро-жовтого кольору, наявні конідіальні голівки					конідіальні голівки відсутні	сіро-жовтого кольору, наявні конідіальні голівки
--	---	--	--	--	--	------------------------------	--

Як свідчать результати, відображені у таблицях 1 і 2, пригнічення росту грибів виду *Aspergillus fumigatus* спостерігалось у живильних середовищах з концентрацією ефірної олії монарди дудчастої у діапазоні 233,7 мг/мл – 29, 2 мг/мл після інкубації 24 години та 72 години. Очевидно, антигрибкові властивості ефірної олії монарди дудчастої зумовлені вмістом і співвідношення карвакролу і тимолу ( до 70%), а також терпенових спиртів (ліналоолу, гераніолу, борнеолу), складних ефірів (ліналілацетату, геранілацетату) та інших сполук, які входять до її складу [2].

Результати дослідження мінімальної фунгіцидної концентрації олії монарди дудчастої для культура грибів виду *Aspergillus fumigatus* представлені в таблиці 3.

Таблиця 3

#### Визначення фунгіцидної концентрації ефірної олії монарди дудчастої

Тривалість інкубації, год	Концентрація ефірної олії в пробірці, з якої виконано пересів на щільне середовище Сабуро, мг/мл						
	контроль	233,7	116,8	58,4	29,2	14,6	7,31
24	ріст	-	-	-	ріст	ріст	ріст
72	ріст	-	-	-	-	ріст	ріст

При аналізі результатів, відображених у таблиці 3, встановлено, що мінімальна фунгіцидна концентрація ефірної олії монарди дудчастої через 24 години інкубації становить 58,4 мг/мл, після 72 годин інкубації – 29,2 мг/мл, а мінімальна фунгіостатична активність визначалася тільки через 24 години інкубації і становила 29,2 мг/мл.

#### Висновки

1. Ефірна олія монарди дудчастої володіє вираженою фунгіцидною активністю щодо культури грибів виду *Aspergillus fumigatus*.
2. Мінімальна пригнічуюча концентрація ефірної олії монарди дудчастої через 24 та 72 години інкубації становила 29,2 мг/мл.
3. Подовження експозиції впливу олії монарди дудчастої на культури грибів виду *Aspergillus fumigatus* сприяє зростанню її фунгіцидної активності.
4. Ефірна олія монарди дудчастої може бути використана як протигрибковий засіб.

#### Список літератури

1. Bilaj V. I. Osnovy obshhej mikologii: Ucheb. posobie dlja vuzov. – 2-e izd., pererab i dop. – K.: Vishha shk.: Glavnoe izd-vo, - 1980. – 360 s.
2. Vojtkovich S. A. Jefirnye masla dlja parfjumerii i aromaterapii / S. A. Vojtkovich // – M.: Pishhevaja promyshlennost', - 1999. – 284 s.
3. Vahova E. L. Aromofitoterapija v profilaktike ostryh respiratornyh zabolevanij u detej / E. L. Vahova // Kurortnye vedomosti. – 2005. – №3. – С.52–53.
4. Velikorodov A. V. Izuchenie himicheskogo sostava i protivogribkovoj aktivnosti jefirnogo masla *Lophanthus anisatum* Benth / A. V. Velikorodov, V. B. Kovalev, A. G. Tyrkov [i dr.] // Himija rastitel'nogo syr'ja. – 2010. – №2. – S.143–146.
5. Dudka I. A. Metody jeksperimental'noj mikologii. Spravochnik / I. A. Dudka, S. P. Vasser, I. A. Jellanskaja [i dr.] // – K.: Nauk. dumka, - 1982. – 551 s.
6. Kapeleva O. I. Antibakterial'nye i fitoncidnye svojstva kotovnika limonnogo / O. I. Kapeleva, N. M. Makarchuk // – V kn.: Aktual'nye voprosy kurortnoj fitoterapii. – Pjatigorsk, - 1985. – С.64–65.
7. Nikolaevskij V. V. Biologicheskaja aktivnost' jefirnyh masel / V. V. Nikolaevskij, A. E. Eremenko, I. K. Ivanov // – M.: Medicina, - 1987. – 144 s.
8. Ramazanova N. H. O perspektivnom ispol'zovanii nekotoryh jefiromaslichnyh rastenij / N. H. Ramazanova // - Simferopol', - 1980. – С. 125–126.
9. Aspergillus: From Diagnosis to Prevention. Edited by Alessandro C. Pasqualotto. Springer Science+Business Media B.V. - 2010. – 1027 p.
10. Mihajilov-Krstev T. Antimicrobial activiti of *Satureja hortensis* L. essential oil against pathogenic microbial strains/ T. Mihajilov-Krstev, D. Radnovic, D. Kitic [et al.] // Biotechnol. & Biotechnol. – 2009. – 23(4). – P.1492–1496.
11. Sharma N. Effects of *Citrus sinensis* (L.) Osbeck epicarp essential oil on growth and morphogenesis of *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem / Sharma N., Tripathi A / N. Sharma, A. Tripathi / - Microbiol Res 163, - 2008, P. 337–344.

## Реферати

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИНИМАЛЬНОЙ ПОДАВЛЯЮЩЕЙ КОНЦЕНТРАЦИИ ЭФИРНОГО МАСЛА MONARDA FISTULESA ДЛЯ КУЛЬТУРЫ ГРИБОВ ВИДА ASPERGILLUS FUMIGATUS**

Полянская В. П., Кинаш А. В., Коваленко Н. П., Саргош А. В.

Эфирное масло монарды дудчатой способно угнетать развитие грамположительных и грамотрицательных кокков, энтеробактерий, грибов рода Candida. Мы определяли фунгицидное действие масла монарды дудчатой на грибы вида Aspergillus fumigatus путем определения ее минимальной фунгиостатической и фунгицидной концентрации. Установлено противогрибковое действие масла монарды дудчатой в диапазоне 233,7 мг/мл – 29, 2 мг/мл, определена минимальная фунгицидная активность масла монарды дудчатой в концентрации 29, 2 мг/мл. Эфирное масло монарды дудчатой может быть использовано как противогрибковое средство.

**Ключевые слова:** эфирное масло, монарда дудчатая, грибы вида Aspergillus fumigatus, концентрация.

Стаття надійшла 17.03.2015 р.

**DETERMINATION OF THE MINIMUM INHIBITORY CONCENTRATION ESSENTIAL OIL MONARDA FISTULESA TO CULTURE OF FUNGI SPECIES ASPERGILLUS FUMIGATUS**

Polyanskaya V.P., Kynashiv A.V., Kovalenko N.P., Sarhosh A.V.

Essential oil of Monarda fistulosa ability to inhibit Gram-positive and Gram-negative development cocci, enterobacteria, fungi of the genus Candida. We determined the fungicidal effect of oil Monarda fistulosa on fungi species Aspergillus fumigatus by defining its minimum fungiostaticheskoy and fungicidal concentration. We have installed antifungal action oil Monarda fistulosa range 233.7 mg / mL - 29, 2 mg / ml, the fungicidal activity is defined minimum oil Monarda fistulosa 29 concentration 2 mg / ml. Essential oil of Monarda fistulosa can be used as an antifungal agent.

**Key words:** essential oil, Monarda fistulosa, fungi species Aspergillus fumigatus, concentration.

Рецензент Куц О.Г.

УДК 616.36 – 053.1 – 091.8 – 02:[618.3 – 06:616.155.194.8]

О. С. Проценко

Харківський національний університет ім. В. Н. Каразіна, м. Харків

**ВПЛИВ ЗАЛІЗОДЕФІЦИТНОЇ АНЕМІЇ МАТЕРІ НА УЛЬТРАСТРУКТУРУ ПЕЧІНКИ ПЛОДІВ І НОВОНАРОДЖЕНИХ**

Електронномікроскопічними дослідженнями показаний спектр дистрофічних і деструктивних порушень органел клітин печінки плодів та новонароджених від матерів із залізодефіцитною анемією різного ступеня тяжкості. Ультраструктурна організація гепатоцитів змінювалася у міру підвищення ступеня тяжкості залізодефіцитної анемії від компенсаторно-адаптаційних до деструктивних форм. Пусковим механізмом розвитку дистрофічних і деструктивних процесів в печінці є мітохондріальна дисфункція.

**Ключові слова:** залізодефіцитна анемія, плід, печінка, ультраструктура гепатоцитів, мітохондріальна дисфункція.

*Робота є фрагментом НДР «Патоморфологічні особливості формування плода і новонародженого під впливом патології матері» (№ державної реєстрації 0110U001805).*

Залізодефіцитна анемія (ЗДА) є загальнонаціональною проблемою систем охорони здоров'я різних країн [3, 11]. Незважаючи на зростання інтересу лікарів до цієї проблеми і великий арсенал лікарських засобів для лікування, число жінок фертильного віку із залізодефіцитною анемією неухильно росте [2].

Ступінь вираженості змін, що виникають в організмі плоду при материнській ЗДА, обумовлюється тривалістю і інтенсивністю кисневої недостатності [5]. У плода виявляються внутрішньоутробна гіпоксія, гіпотрофія, анемія [1]. Такі новонароджені мають удвічі менші запаси заліза в порівнянні з дітьми, народженими здоровими жінками [10]. Важка ступінь ЗДА в наступні місяці і роки життя дитини може супроводжуватися порушенням гемоглобіноутворення, затримкою росту, розумового і моторного розвитку, зниженням пам'яті, порушеннями поведінки, хронічною гіпоксією, зниженням показників імунного статусу, підвищеною схильністю до інфекцій [4, 7].

Накопичення в тканинах кислих продуктів обміну (ацидоз), зміна балансу електролітів під впливом кисневої недостатності призводять до внутрішньоклітинного набряку, порушення тканинного дихання [6, 9].

В експериментальних і клінічних дослідженнях показаний несприятливий вплив залізодефіцитної анемії матері на формування імунної, ендокринної, серцево-судинної і статеві систем [1, 6]. Морфологічний стан внутрішньоклітинних структур печінки плоду при материнській ЗДА на сьогодні залишається маловивченим. Таким чином, вважаємо необхідним