



УКРАЇНА

(19) UA (11) 60475 (13) A

(51) 7 A61K35/78

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДВидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИЗНАЧЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ЕФІРНИХ ОЛІЙ

1

2

(21) 2002107863

(22) 03 10 2002

(24) 15 10 2003

(46) 15 10 2003, Бюл. № 10, 2003 р.

(72) Бородіна Ганна Валентинівна, Проценко
Тетяна Віталівна, Ніколенко Юрій Іванович(73) ДОНЕЦЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ
УНІВЕРСИТЕТ ІМ. М. ГОРЬКОГО(57) Спосіб визначення антимікробної активності
ефірних олій (ЕО) шляхом дифузії ЕО в живильне

середовище і затримки росту мікроорганізмів, який відрізняється тим, що ефірні олії розчиняють у димексиді, потім у визначеній концентрації з нейтральним барвником вносять у лунки живильного середовища і після добової інкубації по співвідношенню зон дифузії барвника і затримки росту мікроорганізмів оцінюють чутливість збудників інфекційного процесу

Винахід відноситься до області експериментальної медицини, зокрема, мікробіології.

Ефірні олії (ЕО) володіють вираженою бактеріцидною дією на різних представників мікроорганізмів. Тому виникає необхідність проведення експериментальних досліджень, спрямованих на вивчення антимікробної і активності ЕО і виявлення серед них найбільш активних для практичного використання.

Відомий спосіб дослідження антимікробної активності ЕО методом серійних розведень спиртового розчину олій у рідкому живильному середовищі (2). Недоліком способу серійних розведень у рідкій і щільній живильних середовищах є трудомісткість, що обмежує його використання в лабораторній практиці.

Найбільш близьким по технічній суті є спосіб визначення бактеріцидної активності антибіотиків методом дисків, насичених антимікробними препаратами, які вміщують на поверхню агара, засіяну досліджуваними мікробами, шляхом дифузії в агар антибіотиків відбувається затримка росту мікроорганізмів (1). Спосіб визначення чутливості за допомогою дисків є якісним, який дозволяє установити лише факт чутливості або стійкості збудника інфекції до даного антибіотика. Даний спосіб узятий як прототип.

В основу винаходу поставлена задача створення способу визначення антимікробної активності ЕО, що дозволить одержати надійні, точні дані, буде технічно простий у виконанні,

дасть можливість кількісно оцінити ступінь чутливості мікроорганізмів і підібрати ефективну концентрацію ЕО для лікування. Поставлена задача вирішується тим, що у способі визначення антимікробної активності ЕО шляхом дифузії ЕО в живильне середовище і затримки росту мікроорганізмів, відповідно до винаходу, ЕО розчиняють у димексиді, потім у визначеній концентрації з нейтральним барвником вносять у лунки на живильне середовище і після добової інкубації по співвідношенню зон дифузії барвника і затримки росту мікроорганізмів оцінюють чутливість збудників інфекційного процесу.

Спосіб здійснюється таким чином:

ЕО розчиняють у димексиді, потім готують водяні розведення навішень олій від 400мкг/мл до вище (200, 100 і 50мкг/мл).

На чашки Петрі з живильним середовищем, необхідним для росту визначеного мікроорганізму, газом засівають тест-культуру. У роботі ми використовували 4 тест-культури: *Candida albicans*, *Ureaplasma urealyticum*, *Mycoplasma hominis*, *Trichomonas vaginalis*. Посівна доза бактерій дорівнює 1000 мікробних клітин на 1мл живильного середовища.

У кожен лунку, зроблену в агарі, спеціальним пробійником діаметром 6мм, наносять по краплі робочих розведень ефірних олій з нейтральним барвником.

Є Контролями служать посіви на живильне середовище без ЕО. Дослідні і контрольні проби інкубують протягом 24 годин при температурі 37°C.

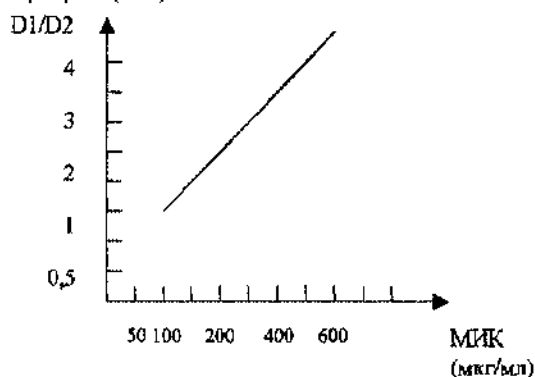
(13) A

(11) 60475

(19) UA

Антимікробний ефект, що виник завдяки дифузії ЕО у живильне середовище, враховують по розміру зон затримки росту мікроорганізмів навколо лунок

Нами встановлена пряма корелятивна залежність між співвідношенням діаметра зони дифузії барвника до діаметра зони затримки росту мікроорганізмів і мінімальною інгібіруючою концентрацією (МІК)



На малюнку зображено крива залежності між співвідношенням діаметра зони дифузії барвника до діаметра зони затримки росту мікроорганізмів і мінімальною інгібіруючою концентрацією

$D1$ - діаметр зони дифузії барвника

$D2$ - діаметр зони затримки росту мікроорганізмів

$D1/D2$ - коефіцієнт затримки росту мікроорганізмів

МІК - мінімальна інгібіруюча концентрація ЕО

Відповідно до виявленої залежності, чим більша бактерицидна активність ЕО, тим більше діаметр зони затримки росту мікроорганізмів наближається до діаметра зони дифузії барвника

Сутність способу, що заявляється визначення антимікробної активності ефірних олій пояснюється наступним прикладом

Вивчалася бактерицидна дія ЕО чайного дерева й евкаліпта У якості тест культури

використовували *Ureaplasma urealyticum*

Установлено, що олія чайного дерева в концентрації 200мкг/мл досить активно діє на *Ureaplasma urealyticum* - співвідношення діаметрів зон дифузії барвника і затримки росту *Ureaplasma urealyticum* склало 1,5, що відповідає МІК рівної 200мкг/мл

Олія евкаліпта виявляла бактерицидну активність тільки в концентрації 400мкг/мл - МІК, що відповідає коефіцієнту затримки росту 2,5

З приклада випливає, що чим менший коефіцієнт затримки росту, тим більша інгібіруюча активність ЕО

Таким чином, запропонований спосіб відрізняється технічною простотою, точністю і надійністю

Використання способу, що заявляється вивчення антимікробної активності ЕО дозволить виявити найбільш активно діючі ЕО, кількісно оцінити ступінь чутливості мікроорганізмів до ЕО і на основі цих даних підібрати ефективну концентрацію ЕО, розробити індивідуальну тактику лікування

Джерела інформації, прийняті до уваги

1 Навашин С М, Фомина І П, Рациональная антибиотикотерапия (довідник) -М Медицина, 1982 -496с

2 Миколаївський В В, Єременко А Є, Іванов І К Біологічна активність ефірних олій -М Медицина, 1987 -144с

3 Фаустова М Є Вивчення бактерицидної дії деяких ефірних олій на збудників гострих і хронічних запальних захворювань легень // Журнал мікробіології, епідеміології і імунобіології - 1993 -№6 -С 117-118

4 Вишнякова Л А, Фаустова М Є, Кветна А С Антимікробна дія ефірних олій на збудників запальних захворювань легень / Актуальні питання профілактики неспецифічних захворювань легень Збірник наукових праць, - Ленінград, 1985 -182с