

УДК 615.324.211.038:638.16

А.С. Барвінська¹, О.К. Франчук², І.Д. Герич¹**ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИБАКТЕРІЙНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ МЕДУ В ЕКСПЕРИМЕНТІ**¹Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького²Військово-медичний клінічний центр Західного регіону

Антибактерійні властивості розчинів меду вивчали шляхом оцінки бактерійного росту типових штамів мікроорганізмів (*S.aureus*, *E.coli*, *Klebsiella* spp., *Ps.aeruginosae*) під дією розчинів різної концентрації останнього. Мед *in vitro* у вигляді концентрованих розчинів володіє вираженими антибактерійними властивостями стосовно золотистого стафілокока, кишкової палички і клебсієлли. Поєднання меду, як природного антибактерійного середника, рефрактерного до антибіотикорезистентності бактерій, з діметилсульфоксидом призводить до пригнічення росту *in vitro* більшості тестованих патогенів. Зважаючи на сучасну тенденцію до зростання антибіотикорезистентності бактерій, подальше дослідження антимікробних властивостей меду відкриває перспективи для підвищення ефективності лікування проблемних хірургічних інфекцій.

Ключові слова: мед, золотистий стафілокок, кишкова паличка, клебсієлла, синьо-гнійна паличка, гнійна хірургічна інфекція.

Серед різних засобів для лікування гнійної хірургічної інфекції провідні позиції належать антибіотикам. Однак впровадження в практику все новіших антибактерійних препаратів «не встигає» за ростом антибіотикорезистентності мікроорганізмів. Розвивається своєрідна криза антибактерійних медикаментів, що не дозволяє в найближчому майбутньому розраховувати на появу засобів, активних стосовно до проблемних резистентних шпитальних штамів мікроорганізмів [2, 3, 18, 19]. Феномен антибіотикорезистентності – це природна здатність мікробів адаптуватися до протимікробної дії штучно синтезованих препаратів. Слід зазначити, що до протимікробних середників, які мають природне походження, резистентність бактерій не розвивається [10, 12]. Тому застосування «природних протимікробних засобів» (препарати меду, часнику, цибулі, чайного дерева і ін.) є давньою традицією медичної практики. Однак ця традиція ґрунтується радше на емпіричних знаннях, позаяк системні наукові дослідження цих засобів не проводилися. В умовах сучасної «ескалації антибіотикорезистентності» антибактерійні засоби природного походження мають очевидний потенціал збільшення ефективності боротьби з гнійною хірургічною інфекцією.

Мета – з'ясувати *in vitro* антибактерійні властивості розчину меду стосовно типових сучасних збудників гнійної хірургічної інфекції.

Дизайн дослідження

Антибактерійні властивості розчинів меду вивчали шляхом оцінки бактерійного росту типових штамів мікроорганізмів під дією розчинів різної концентрації останнього. В якості тест-культур використано *S.aureus*, *E.coli*, *Klebsiella* spp., *Ps.aeruginosae*. Вибір цих штамів зумовлений високою частотою колонізації останніх у ролі шпитальної стійкої до антибіотиків мікрофлори [2, 3, 18, 19]. Експеримент передбачав два етапи.

На першому етапі експерименту на пронумеровані сектори кров'яного агару в чашки Петрі з добовою тест-культурою мікроорганізмів, засіяною методом газону у вигляді суспензії (2-3 колонії в 2 мл 0,9% фізіологічного розчину), наносили по 1 краплі досліджуваного розчину меду. Після культивування 24-48 год. у термостаті оцінювали результати: пригнічення бактерійного росту (відсутність колоній) – як виражені антибактерійні властивості, незначний бактерійний ріст (поодинокі колонії) – як слабкі антибактерійні властивості, повноцінний бактерійний ріст (множинні колонії) – як відсутність антибактерійних властивостей. В якості контролю використовували аналогічні добові тест-культури мікроорганізмів (без внесення досліджуваного розчину).

Другий етап дослідження передбачав внесення суспензії культури мікроорганізмів *S.aureus*, *E.coli*, *Klebsiella* spp., *Ps.aeruginosae* (2-3 колонії в 2 мл 0,9 % фізіологічного роз-

чину) в пронумеровані пробірки з досліджуваним розчином меду. Після 24-х і 48-ми годинного культивування в термостаті – культуру (вміст пробірки) пересівали на поживне середовище, культивували 24 год. у термостаті, відтак оцінювали активність бактерійного росту за наведеними параметрами. В якості контролю використовували аналогічні добові тест-культури мікроорганізмів (без внесення досліджуваного розчину).

Матеріали дослідження

Для експерименту використовували штами *S.aureus*, *E.coli*, *Klebsiella* spp., *Ps.aeruginosae* з наступними характеристиками.

Золотистий стафілокок (*S.aureus*): Грам (+) кок, у вигляді жовтих колоній з зоною повного гемолізу на кров'яному агарі; каталаза (+), плазмокоагулаза (+), гемоліз (+), лецитіназа (+), пігмент (+), реакція Фогес-Проспауера (+), маніт (+) в аеробних умовах; збудник чутливий до ципрофлоксацину, офлоксацину, амікацину, цефазоліну, цефотаксиму, цефтріаксону, ломефлоксацину, гатіфлоксацину, доксацикліну; стійкий до амоксициліну; помірно чутливий до азитроміцину, оксациліну.

Кишкова паличка (*E.coli*): Грам (-) паличка, оксидаза (-), рухомість (+), глюкоза (кт), лактоза (+), цитрат Симонса (-), уреаза (-), малонат (-), НrS (-), індол (+), фенілаланін (-), лізиндекарбоксилаза (+), ацетат Na (+),

орнітиндекарбоксилаза (-), аргініндегідролаза (-); збудник чутливий до ципрофлоксацину, офлоксацину, амікацину, цефуроскиму, цефтріаксону, левофлоксацину, ломефлоксацину, гатіфлоксацину; стійкий до амоксициліну, азитроміцину; помірно чутливий до цефазоліну.

Клебсієлла (*Klebsiella pneumoniae*): Грам (-) неспоронсна паличка, оксидаза (+), капсула (+), рухомість (-), глюкоза (кт), лактоза (к), індол (-), НrS (-), уреаза (+), цитрат Симонса (+), малонат (+), лізиндекарбоксилаза (+), орнітиндекарбоксилаза (-), аргініндекарбоксилаза (-), фенілаланін (-); бактерія чутлива до ципрофлоксацину, амікацину, цефуроскиму, цефотаксиму, цефтріаксону, левофлоксацину, ломефлоксацину, гатіфлоксацину; стійка до амоксициліну; помірно чутлива до цефазоліну.

Синьо-гнійна паличка (*Ps.aeruginosa*): Грам (-) паличка у вигляді колоній зеленого кольору зі специфічним запахом на кров'яному агарі; гемоліз (+), оксидаза (+), пігмент (+), ріст при 42°C (+), желатіназа (+), мальтоза (-); мікроорганізм чутливий до нетилміцину, іміпенему, меропенему; стійкий до амікацину, гентаміцину, лінезоліду, ципрофлоксацину, норфлоксацину, гатіфлоксацину, левофлоксацину, цефепіму, цефотаксиму, цефтріаксону, цефтазидиму; помірно чутливий до сульперазону.

Таблиця 1.

Досліджувані розчини

№ п/п	Досліджуваний розчин	Співвідношення речовин
1	50 % розчин М	1 г М 1 мл Ф
2	30 % розчин М	1 г М 2 мл Ф
3	10 % розчин М	0,2 г М 1,6 мл Ф
4	М / Д 1:1	1 г М 1 мл Д
5	М / Д / Ф 1:1:1	1 г М 1 мл Д 1 мл Ф
6	М / Д / Ф 2:1:3	1 г М 0,5 мл Д 1,5 мл Ф
7	М / Д / Ф 1:1:4	0,5 г М 0,5 мл Д 2 мл Ф
8	М / Д / Ф 5:1:1,8	0,5 г М 0,1 мл Д 1,8 мл Ф
9	М / Д / Ф 1:1:2	0,5 г М 0,5 мл Д 1 мл Ф

Примітки: М – мед, Д – дімексид, Ф – фізіологічний розчин

Для дослідження використовували різної концентрації розчини меду в фізіологічному розчині та розчини меду, дімексиду і фізіологічного розчину. Слід зауважити, що, враховуючи дані літератури [15, 17] про застосування меду в комплексі з іншими антисептиками для лікування ран, які довго не загоюються, ми вважали за доцільне експериментально вивчити не тільки антибактерійні властивості розчину меду в різних концентраціях, а і оцінити протимікробну активність розчину меду з дімексидом. Дімексид обраний як речовина з оптимальними антибактерійними і підсилюючими проникність тканин властивостями. Характеристика досліджуваних розчинів наведена в таблиці 1.

Результати та обговорення

На чашках Петрі з культурою золотистого стафілокока, стверджено повноцінний бактерійний ріст у секторах № 2, 3, 8, куди відповідно вносили 30%, 10% розчини меду, низьковідсотковий розчин меду і дімексиду; помірний бактерійний ріст виявлено в секторі № 1 (50% розчин меду); відсутність бактерійного росту – під впливом комбінованих розчинів меду і дімексиду (№ 4, 5, 6, 7, 9).

Культуру кишкової палички колонізовано лише в ділянці чашки Петрі з 10 % розчи-

ном меду (повноцінний ріст бактерій у секторі 3); в усіх інших секторах бактерійного росту не було.

Колонізація культури клебсієлли відбувалася наступним чином: відсутність бактерійного росту в секторах № 4, 5 (відповідно розчини мед-дімексиду 50% і 30%), помірний бактерійний ріст у секторі № 1 (50% розчин меду); в решті секторів – повноцінний бактерійний ріст.

На усіх секторах чашки Петрі, засіяних культурою синьо-гнійної палички, стверджено повноцінний бактерійний ріст.

Таким чином, мед у різних концентраціях та у комплексі з дімексидом має певні антибактерійні властивості. Залежно від досліджуваних розчинів останні виявляють себе бактерицидною чи принаймні бактериостатичною дією. Водночас, слід відмітити, що вплив розчинів меду чи «мед-дімексиду» на різні збудники був різним. Так, виражені антибактерійні властивості продемонстрував комплекс «мед-дімексид» щодо золотистого стафілокока, кишкової палички і клебсієлли; висококонцентровані розчини меду мали негативний вплив на ріст колоній кишкової палички і клебсієлли та бактериостатичний ефект стосовно золотистого стафілококу; низькоконцентровані розчини меду не пригнічували

Антибактерійні властивості досліджуваних розчинів меду

Таблиця 2.

Досліджувані розчини	S.aureus	E.coli	Klebsiella	Ps.aeruginosa
Контроль	-	-	-	-
№ 1	+/-	+	+/-	-
№ 2	-	+	-	-
№ 3	-	-	-	-
№ 4	+	+	+	-
№ 5	+	+	+	-
№ 6	+	+	-	-
№ 7	+	+	-	-
№ 8	-	+	-	-
№ 9	+	+	-	-

Примітка: «+» – виражені антибактерійні властивості; «+/-» – помірні антибактерійні властивості; «-» – відсутність антибактерійної дії; нумерація досліджуваних розчинів відповідає даним у таблиці 1.

ріст мікроорганізмів. Досліджувані розчини не мали антибактерійних властивостей щодо синьо-гнійної палички.

Результати першого етапу дослідження узагальнені в таблиці 2.

Таким чином, мед у вигляді концентрованих розчинів (30% і 50%) володіє вираженими антибактерійними властивостями стосовно золотистого стафілокока, кишкової палички і клебсієлли. Поєднання меду, як природного антибактерійного середника, рефрактерного до антибіотикорезистентності бактерій, з дімексидом призводить до пригнічення росту *in vitro* більшості тестованих патогенів. Синьо-гнійна паличка виявилася стійкою до усіх досліджуваних розчинів.

Зважаючи на те, що перший етап експерименту по суті був якісною оцінкою антибіотикорезистентності, тобто відповідав дифузійному методу її оцінки, задля прецизювання протибактерійних властивостей меду ми запланували другий етап експерименту – визначення інтенсивності колонізації патогенів у рідкому середовищі досліджуваних розчинів. Його результати засвідчили наявність виражених антибактерійних властивостей меду в усіх розведеннях і комбінаціях: в усіх пробах росту *S.aureus*, *E.coli* та *Klebsiella spp.* не отримано. Подібну протимікробну дію меду констатовано і стосовно *Pseudomonas aeruginosa* (відсутність росту у 8 з 9 проб). Єдина відмінність синьо-гнійної палички від інших патогенів полягала у наявності її колонізації у пробірці № 1 (50% розчин меду). Цей феномен, очевидно, не має логічного пояснення і, ймовірно, може бути по трактований як технічний дефект експерименту.

Загалом, дослідження *in vitro* антибактерійних властивостей меду засвідчило наявність достатньо інтенсивної протимікробної дії цієї природної субстанції на типові збудники сучасних гнійних хірургічних інфекцій.

Відомо, що мед належить до природних речовин, які широко застосовуються в народній медицині і мають емпірично високу антиінфекційну активність, вперше науково підтверджену в 1892 р. van Ketel [1, 9, 11]. Сьогодні мед, як місцевий середник, використовується в окремих клініках для лікування цілої низки проблемних захворювань і патологічних станів, які не піддаються конвенційній терапії, а саме: хронічних ран [12, 15], уражень шкі-

ри в онкохворих дітей [20], нагнійних процесів в імуноскомпроментованих пацієнтів [13], специфічних інфекцій [16], тощо. Підгрунтям для застосування меду як середника, що підвищує ефективність подолання «проблемних хірургічних інфекцій» є його відома антибактерійна дія, яка зумовлюється осмотичними властивостями, наявністю в його складі вільних радикалів активних фітохімічних компонентів та перекису водню та його природною здатністю індукувати активацію лімфоцитів і макрофагів [4-6, 22]. Загалом, протиінфекційні властивості меду є співставимі з протимікробною дією конвенційних середників/антибіотиків [13, 14, 17, 21]. В цілому цей факт підтверджує і наше дослідження.

Проте, наукові дослідження антибактерійних властивостей меду стосовно окремих видів хірургічної інфекції чи окремих патогенів сьогодні представлені лише поодинокими повідомленнями. Зокрема, у лабораторних умовах з'ясовано чутливість до меду збудників, що найчастіше спричиняють ранову інфекцію і є резистентними до антибіотиків, а саме: золотистого стафілокока, у т.ч. MRSA [23], синьо-гнійної палички [7], ванкоміцин-резистентних ентерококів [8].

Таким чином, наше дослідження суттєво розширює існуючі уявлення про мед, як рефрактерний до механізму антибіотикорезистентності бактерій медичний середник, і формує перспективу як подальшого вивчення проти бактерійної дії цієї субстанції, так і доцільності його застосування в ефективних концентраціях в проблемних клінічних випадках.

В и с н о в к и

1. Мед – традиційний засіб народної медицини, який має відомі проти інфекційні властивості.

2. Мед *in vitro* у вигляді концентрованих розчинів володіє вираженими антибактерійними властивостями стосовно золотистого стафілокока, кишкової палички і клебсієлли.

3. Поєднання меду, як природного антибактерійного середника, рефрактерного до антибіотикорезистентності бактерій, з дімексидом призводить до пригнічення росту *in vitro* більшості тестованих патогенів.

4. Зважаючи на сучасну тенденцію до зростання антибіотикорезистентності бактерій, подальше дослідження антимікробних власти-

востей меду відкриває перспективи для підвищення ефективності лікування проблемних хірургічних інфекцій.

ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СВОЙСТВ МЕДА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

А.С. Барвинская, Е.К. Франчук, И.Д. Герич

Антибактериальные свойства растворов меда изучали путем оценки бактериального роста штаммов микроорганизмов (*S.aureus*, *E.coli*, *Klebsiella* spp., *Ps.aeruginosae*) под действием растворов различной концентрации последнего. Мед *in vitro* в виде концентрированных растворов обладает выраженными антибактериальными свойствами относительно золотистого стафилококка, кишечной палочки и клебсиеллы. Сочетание меда, как природного антибактериального средства, рефрактерного к антибиотикорезистентности бактерий, с димексидом приводит к подавлению роста *in vitro* большинства тестируемых патогенов. Учитывая современную тенденцию к росту антибиотикорезистентности бактерий, дальнейшее исследование антимикробных свойств меда открывает перспективы для повышения эффективности лечения проблемных хирургических инфекций. **Ключевые слова:** мед, золотистый стафилококк, кишечная палочка, клебсиелла, сине-гнойная палочка, гнойная хирургическая инфекция.

INVESTIGATION OF ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF HONEY IN THE EXPERIMENT

A. Barvinska, O. Franchuk, I. Gerych

Antibacterial properties of honey solutions were studied by assessing the bacterial growth of microorganisms (*S.aureus*, *E.coli*, *Klebsiella* spp., *Ps.aeruginosae*) under the action of solutions of different concentrations of the latter. Honey *in vitro* in the form of concentrated solutions has strong antibacterial properties with respect to *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Klebsiella*. The combination of honey as a natural antibacterial agent, refractory to antibiotic-resistant bacteria, with dimexidum leads to suppression of growth *in vitro* most of the tested pathogens. According to the current trend to increased antibiotic resistance in bacteria, further study of antimicrobial properties of honey offers promise for increasing the effectiveness of treatment of problematic surgical infections.

Key words: honey, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Pseudomonas aeruginosae*, purulent surgical infection.

ЛІТЕРАТУРА

1. Болтарович З.Є. Народна медицина українців / З.Є. Болтарович. – Київ: «Наукова думка», 1990. – 230 с.
2. Нестеренко А.Н. Выбор антибактериальной терапии хирургического сепсиса с учетом региональных особенностей роста резистентности его основных возбудителей / А.Н. Нестеренко // Український журнал хірургії. – 2009. – № 2. – С. 101-109.
3. Козлов Р.С. Современные тенденции антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ России: что нас ждет дальше? / Р.С. Козлов, О.У. Стецюк, И.В. Андреева // Журнал интенсивной терапии. – 2007. – № 4. доступна на <http://www.icj.ru/2007-04-01.html>

4. Allen K.L. A survey of the antibacterial activity of some New Zealand honeys / K.L. Allen, P.C. Molan, G.M. Reid // *J Pharm Pharmacol.* – 1991. – Vol. 43 (12) – P. 817-822.
5. Adcock D. The effect of catalase on the inhibine and peroxide values of various honeys / D. Adcock D. // *J Apic Res.* – 1962. – Vol. 1. – P. 38-40.
6. Bogdanov S. Characterisation of antibacterial substances in honey / S. Bogdanov // *Lebensm Wiss Technol.* – 1984. – Vol. 17(2). – P. 74-76.
7. Cooper R.A. The use of honey as an antiseptic in managing *Pseudomonas* infection / R.A. Cooper, P.C. Molan // *J Wound Care.* – 1999. – Vol. 8(4). – P. 161-164.
8. The inhibition of Gram-positive cocci of clinical importance by honey. / R.A. Cooper, E. Halas, R. Davies et al. // *First World World Healing Congress.* – 2000. – Melbourne, Australia.
9. Dustmann J.H. Antibacterial effect of honey / J.H. Dustmann // *Apiacta.* – 1979. – Vol. 14 (1). – P. 7-11.
10. Golledge C.L. "Natural" therapies for infectious diseases / C.L. Golledge, T.V. Riley // *Med J Aust.* – 1996. – Vol. 164. – P. 94-95.
11. Gunther R.T. The Greek Herbal of Dioscorides / R.T. Gunther. – New York: Hafner, 1934.
12. Ingle R. Wound healing with honey – a randomised controlled trial / R. Ingle, J. Levin, K. Polinder // *South African Medical Journal.* – 2006. – Vol. 96. – P. 831-835.
13. Randomized, controlled trial of topical exit-site application of honey (Medihoney) versus mupirocin for the prevention of catheter-associated infections in haemodialysis patients / D.W. Johnstone, R. MacGinley, T.D. Kay et al. // *Journal of the American Association of Nephrology.* – 2005. – Vol. 16. – P. 1456-1462.
14. McIntosh C.D. Honey dressing versus paraffin tulle gras following toenail surgery / C.D. McIntosh, C.E. Thompson // *J Wound Care.* – 2006. – Vol. 15. – P. 133-136.
15. Effects of honey and sugar dressings on wound healing / A.N.G. Mphande, C. Killowe, S. Phalira et al. // *J Wound Care.* – 2007. – Vol. 16. – P. 317-320.
16. Effect of topical honey application along with intralesional injection of glucantime in the treatment of cutaneous leishmaniasis / M.A. Nilforoushadeh, F. Jaffary, S. Moradi et al. // *BMC, Complementary and Alternative Medicine.* – 2007. – Vol. 7. – P. 13.
17. Okeniyi J.A.O. Comparison of incised abscess wounds with honey and EUSOL dressing / J.A.O. Okeniyi, O.O. Olubanjo, T.A. Ogunlesi, O.A. Oyelami // *Journal of Alternative and Complementary Medicine.* – 2005. – Vol. 11. – P. 511-513.
18. Prevalence and risk factors for nosocomial infections in four university hospitals in Switzerland / D. Pittet, S. Harbarth, C. Ruef et al. // *Infect Control Hosp Epidemiol.* – 1999. – Vol. 20. – P. 37-42.
19. Select Committee on Science and Technology. Report no. 7: Resistance to antibiotics and other antimicrobial agents. – London: House of Lords, 1998.
20. Wound care with antibacterial honey (Medihoney) in pediatric haematology-oncology / A. Simon, K. Sofka, G. Wiszniewsky et al. // *Supportive Care in Cancer.* – 2006. – Vol. 14. – P. 91-97.
21. Subrahmanyam M. A prospective randomised clinical and histological study of superficial burn wound healing with honey and silver sulfadiazine / M. Subrahmanyam // *Burns.* – 1998. – Vol. 24 (2). – P. 157-61.
22. White J.W. The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system / J.W. White, M.H. Subers, A.I. Schepartz // *Biochim Biophys Acta.* – 1963. – Vol. 73. – P. 57-70.
23. Willix D.J. A comparison of the sensitivity of wound-infecting species of bacteria to the antibacterial activity of manuka honey and other honey / D.J. Willix, P.C. Molan, C.G. Harfoot // *J Appl Bacteriol.* – 1992. – Vol. 73 (5). – P. 388-94.

Стаття надійшла 07.03.2011