

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА НЕКОТОРЫХ ПРОДУКТОВ ПЧЕЛОВОДСТВА

Татьяна ЯКИМОВА

Государственный аграрный университет Молдовы

A fost studiată activitatea antibacteriană a unor produse apicole (miere, propolis, polen) asupra a șase tulpini de microorganisme standarde. Cercetările efectuate au demonstrat o activitate pozitivă antibacteriană.

In this work the materials made on the antibacterial activity of beekeeping (honey, propolis, pollen) in relation to the six of the standard laboratory strains of the microorganisms have been demonstrated.

Продукты пчеловодства (мёд, прополис, пыльца) давно используются в качестве медикаментозных средств. В последние годы ученые проводят фундаментальные исследования с целью изыскания новых и расширения сферы применения уже существующих препаратов, приготовленных на основе продуктов пчеловодства. Эти продукты, перед их использованием, подлежат стандартизации по биологической активности к отдельным микроорганизмам, возбудителям болезней.

Материал и методы

Наши исследования по изучению биологических свойств продуктов пчеловодства были выполнены в 2005-2006 гг. на кафедре «Биотехнологии в зоотехнии» Аграрного университета Молдовы, а также в бактериологическом отделе Республиканского центра превентивной медицины.

Цель исследований состояла в оценке антимикробного действия продуктов пчеловодства на некоторые стандартные лабораторные микробные штаммы.

В работе были использованы образцы мёда, прополиса, пыльцы урожая 2005 года, собранные в южной (Леово) и центральной (Хынчешты) зонах республики. Исследования выполнены как на нативных образцах пчелопродуктов, так и на экстрактах. Экстракцию мёда и пыльцы проводили этиловым (96°) спиртом, 0,5М раствором хлорида натрия и дистиллированной водой.

На основе прополиса готовили экстракты: водный (тепловой метод), эфирный, спиртовой (96° этиловый спирт).

Физико-химическую оценку прополиса и его экстрактов проводили по кислотному показателю и йодному числу.

Качество мёда оценивали по диастазному числу. Исследования антибактериальных свойств образцов пчелопродуктов проводили по общепринятой схеме. Был проведен контроль стерильности образцов пчелопродуктов методом посева на специальных средах: 5% кровяной агар, желточно-солевой агар, Агар Мюллер-Хинтона, тиогликолевая среда, среда Сабуро.

В работе были использованы следующие стандартные лабораторные микробные штаммы: E. Coli ATCC 25922, Staphilococcus aureus ATCC 25923, Ps.aeruginosa ATCC 27853, Candida albicans ГИСК 8035, Salmonella typhimurium 89, Enterococcus faecalis ATCC 8750, которые предварительно были проверены на чистоту методом микроскопии приготовленных мазков, окрашенных по Грамму, а также методом посева на специальные питательные, агаризированные среды.

Были приготовлены разведения контрольных образцов продуктов пчеловодства 1:10 и 1:100 в мясопептонном бульоне. Проба №1 – разведение 1:10, мясопептонный бульон 18 мл и 2 мл препарата 10%-ного спиртового экстракта прополиса; проба №2 – 18 мл мясопептонного бульона и 2 мл. 20%-ного спиртового экстракта пыльцы; проба №4 – мясопептонный бульон 18 мл и 2 мл препарата мёда.

Были приготовлены также разведения типовых штаммов. Для каждого штамма было приготовлено по 8 рядов разведений, соответственно 10⁻⁸, 10⁻⁷, 10⁻⁶, 10⁻⁵, 10⁻⁴, 10⁻³ микробных единиц в 1 мл – всего 48 рядов в объёме 4,5 мл.

Посев типовых микробных штаммов провели из разведения 10⁻⁹ (5 единиц) методом орошения 1 мл инокулята на среды кровяной агар, Мюллер-Хинтона, желточного-солевой агар, просушенные при температуре 24-25° С.

Разведения изучаемых препаратов вносили по 0,05 мл (1:10, 1:100) и инкубировали посеы в термостате при температуре 37° С 24 часа.

Посев препаратов (1:10, 1:100) провели в 2-х рядах пробирок со средой и посевом микроорганизмов в количестве 0,5 мл в каждую пробирку.

Инкубирование посева проходило в термостате при температуре 37°С.

При исследовании чистоты используемых штаммов микроорганизмов методом микроскопии приготовленных мазков, окрашенных по Грамму, во всех мазках отмечены морфологические признаки, свойственные данному штамму микроорганизмов.

При изучении чистоты штаммов микроорганизмов методом посева на специальных питательных агаризированных средах был отмечен рост колоний, характерных по форме, цвету, диаметру для конкретного штамма микроорганизма.

Загрязнения стандартных лабораторных штаммов не было установлено.

Контролем стерильности образцов продуктов пчеловодства и их экстрактов (пробы №1, 2, 4) рост микроорганизмов не был установлен – пробы были стерильными.

Результаты и их обсуждение

В результате проведенных исследований было выявлено, что прополис проявляет антибактериальные свойства по отношению к большинству стандартных лабораторных штаммов микроорганизмов (табл.1).

Таблица 1

Результаты определения чувствительности микроорганизмов к 10% спиртовому экстракту прополиса

№ п/п	Наименование микроорганизма	Разведение	109	108	107	106	105	104	103
1.	E. coli ATCC 25922	1:10	-	-	-	-	-	-	-
		1:100	-	-	-	-	-	-	-
2.	Ps. Aeruginosa ATCC 27853	1:10	+	+	+	+	+	+	+
		1:100	+	+	+	+	+	+	+
3.	Staphylococcus aureus ATCC 25923	1:10	+	+	+	+	+	+	+
		1:100	+	+	+	+	+	+	+
4.	Salmonella tiphimurium 89	1:10	+	+	+	+	+	+	+
		1:100	+	+	+	+	+	+	+
5.	E. faecalis ATCC 8750,	1:10	+	+	+	+	+	+	+
		1:100	-	-	-	-	-	-	-
6.	C. albicans ГИСК 8035	1:10	+	+	+	+	+	+	+
		1:100	-	-	-	-	-	-	-

К 10%-ному алкогольному экстракту прополиса чувствительными микробными штаммами оказались: Ps.Aeruginosa ATCC 27853 в разведениях 1:10 и 1:100, Staphylococcus aureus ATCC 25923 в разведениях 1:10, 1:100, Salmonella tiphimurium 89 в разведениях 1:10 и 1:100, E. faecalis ATCC 8750 в разведении 1:10, Candida albicans ГИСК 8035 в разведении 1:10.

Резистентными по отношению к экстракту прополиса оказались E. coli ATCC 25922 в разведениях 1:10 и 1:100, а также E. faecalis ATCC 8550 в разведении 1:100 и C. albicans ГИСК 8035 в разведении 1:100. Как видно из полученных результатов, экстракт прополиса 10% концентрации оказывал антимикробное действие как в отношении грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов, что соответствует сообщениям большинства исследователей.

Так, исследования, проведенные [5,6] по определению бактериологических свойств экстрактов прополиса, не выявили его эффективности по отношению к E. coli. Однако имеются сообщения отдельных авторов, которые установили минимальную эффективность прополиса по отношению к E. coli [2] и даже максимальную по отношению к E. coli и C. albicans [1].

Противоречивые результаты, полученные отдельными исследователями в отношении эффективности прополиса к отдельным микроорганизмам, объясняются следующими обстоятельствами: во-первых, главным источником прополиса являются вещества, собранные с тополиных и ивовых почек. Когда тополей нет или пчелы мало собирают частично схожие с прополисом вещества с других деревьев, то в таком прополисе антимикробные свойства отсутствуют или они минимальные.

Во-вторых, на антимикробную эффективность прополиса влияет не только его происхождение, но и вещество, применяемое для экстракции, метод и температура экстракции.

Результаты определения антимикробной активности 20% спиртового экстракта (этиловый спирт 96°) пыльцы представлены в табл. 2.

Чувствительными к исследуемому образцу экстракта пыльцы были: *Ps. Aeruginosa* ATCC 27853 в разведениях 1:10 и 1:100, *E. coli* ATCC 25922 в разведениях 1:10 и 1:100, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella tiphimurium* в разведении 1:10, *Enterococcus faecalis* ATCC 8550 в разведениях 1:10 и 1:100 и *C. albicans* в разведении 1:10.

Резистентными к 20% экстракту пыльцы оказались: *Salmonella tiphimurium* в разведении 1:100 и *C. albicans* в разведении 1:100.

Эффективность пыльцы по отношению к микрофлоре также зависела от происхождения пыльцы.

Антимикробная эффективность пыльцы зависит от вещества, применяемого для экстракции пыльцы, и режима экстракции.

Эстрагирование пыльцы можно проводить эфиром или водой при температуре кипения или этиловым (96°) спиртом.

Таблица 2

Результаты определения чувствительности микроорганизмов к 20% спиртовому экстракту пыльцы

№ п/п	Наименование микроорганизма	Разведение	109	108	107	106	105	104	105
1.	<i>E. coli</i> ATCC 25922	1:10	+	+	+	+	+	+	+
		1:100	+	+	+	+	+	+	+
2.	<i>Ps. Aeruginosa</i> ATCC 27853	1:10	+	+	+	+	+	+	+
		1:100	+	+	+	+	+	+	+
3.	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1:10	+	+	+	+	+	+	+
		1:100	+	+	+	+	+	+	+
4.	<i>Salmonella tiphimurium</i> 89	1:10	+	+	+	+	+	+	+
		1:100	-	-	-	-	-	-	-
5.	<i>E. faecalis</i> ATCC 8750,	1:10	+	+	+	+	+	+	+
		1:100	+	+	+	+	+	+	+
6.	<i>C. albicans</i> ГИСК 8035	1:10	+	+	+	+	+	+	+
		1:100	-	-	-	-	-	-	-

К пробе мёда (таблица 3) чувствительными оказались все тестируемые микроорганизмы в разведениях 1:10 и 1:100: *E. coli* ATCC 25922, *PS. Aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella tiphimurium* 89 *Enterococcus faecalis* ATCC 27853.

Результаты, полученные нами относительно антибактериальных свойств мёда, совпадают с данными других исследователей [4].

Антибактериальные вещества, содержащиеся в мёде, высокобактерицидны и бактериостатичны по отношению как к грамположительным, так и к грамотрицательным бактериям [3].

Таблица 3

Результаты определения чувствительности микроорганизмов к пробе мёда

№ п/п	Наименование микроорганизма	Разведение	109	108	107	106	105	104	103
1.	E. coli ATCC 25922	1:10	+	+	+	+	+	+	+
		1:100	+	+	+	+	+	+	+
2.	Ps. Aeruginosa ATCC 27853	1:10	+	+	+	+	+	+	+
		1:100	+	+	+	+	+	+	+
3.	Staphylococcus aureus ATCC 25923	1:10	+	+	+	+	+	+	+
		1:100	+	+	+	+	+	+	+
4.	Salmonella tiphimurium 89	1:10	+	+	+	+	+	+	+
		1:100	+	+	+	+	+	+	+
5.	E. faecalis ATCC 8750,	1:10	+	+	+	+	+	+	+
		1:100	+	+	+	+	+	+	+
6.	C. albicans ГИСК 8035	1:10	+	+	+	+	+	+	+
		1:100	+	+	+	+	+	+	+

Выводы

1. Исследования по изучению биологических свойств продуктов пчеловодства (мёд, пыльца, прополис) проводились на нативных образцах, а также были приготовлены 20% экстракт пыльцы 0,5 М раствором хлорида натрия (тепловым методом), 20% спиртовой (этиловый 96° спирт) экстракт пыльцы, 20% эфирный экстракт мёда, 20% спиртовой экстракт мёда.

Были приготовлены и 10%-е экстракты прополиса: спиртовой, эфирный, водный.

2. К препаратам прополиса чувствительными микроорганизмами оказались: Ps. Aeruginosa ATCC 27853 в разведениях 1:10 и 1:100; Staphylococcus aureus ATCC 25923 в разведениях 1:10 и 1:100; Salmonella tiphimurium 89 в разведениях 1:10 и 1:100; E. faecalis ATCC 8750 в разведении 1:10, C. albicans ГИСК 8035 в разведении 1:10.

Резистентными по отношению к экстракту прополиса оказались E. coli ATCC 25922 в разведениях 1:10 и 1:100, а также E. faecalis ATCC 8750 в разведении 1:100, C. albicans в разведении 1:100.

3. К экстракту 20% пыльцы чувствительными были: Ps. Aeruginosa, E. coli ATCC 25922, S. aureus ATCC 25923, Salmonella tiphimurium в разведении 1:10, E. faecalis ATCC 8750 в разведениях 1:10, 1:100; C. albicans в разведении 1:10.

Резистентными к 20% экстракту пыльцы оказались Salmonella tiphimurium и C. albicans в разведении 1:100.

4. К экстракту мёда чувствительными оказались все тестируемые микробные штаммы: E. coli ATCC 25922, Ps. Aeruginosa ATCC 27853, Staphylococcus aureus ATCC 25923, Salmonella tiphimurium 89, Enterococcus faecalis 27853.

Литература:

1. Александров Ю. С., Данилова Л. Н. Бактерицидные свойства прополиса // Прополис. - Бухарест: Апимондия, 1975, с.21-24.
2. Вьехет Л. Влияния прополиса на ряд видов микроорганизмов и плесеней // Прополис. - Бухарест: Апимондия, 1988, с.54-59.
3. Красочко П. А. и др. Состояние иммунитета и обмен веществ у телят при использовании комплексного антидиарейного препарата на основе пчелиного мёда: Симпозиум по пчеловодству. - Кишинев, 2004, с.13-15.
4. Greceanu A., Enciu V. Observații asupra efectului antibiotic al propolisului, polenului și mierei // Produsele stupului (hrana, sănătatea, frumusețea). - București: Apimondia, 1989, p.36-41.
5. Marin M. Aspecte fizico-chimice, bacteriologice și farmacodinamice ale propolisului // Propolis. - București: Apimondia, 1990, p.69-72.
6. Младенов С. Мёд и мёдолечение. Кишинев: Штиинца, 1984, с.26-38.

Prezentat la 15.01.2007