

УДК 615.014.07:615.322:615.254.1:615.28

<https://doi.org/10.24959/ubphj.17.130>

О. Г. ДОРОШЕНКО, С. М. МАРЧИШИН, Н. І. ТКАЧУК

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»

## ДОСЛІДЖЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ЗБОРУ ДІУРЕТИЧНОГО

**Актуальність.** Проблеми запальних захворювань нирок і сечовивідних шляхів є одними з найбільш складних у сучасній урології. Необхідність тривалого застосування лікарських засобів при консервативному лікуванні неспецифічних запальних захворювань сечостатевої системи дозволяє віддати перевагу препаратам рослинного походження. Відомо, що урогенітальні інфекції (уретрити, цистити, простатити, пієлонефрити та інші) частіше викликаються умовно-патогенними бактеріями, які можуть проникати в урогенітальну систему висхідним шляхом через уретру, гематогенним шляхом або при травмах органів малого тазу, сечовидільної системи. Переважна більшість випадків такого проникнення бактерій у сечовивідну систему завершується їх елімінацією з організму. Однак при порушеннях загальної реактивності, імунодефіцитах, великій інфікуючій дозі бактерій вони провокують інфекційний процес. При різноманітних уроінфекціях із сечі висіваються переважно грамнегативні мікроорганізми різних родів і видів: *E. coli*, *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *P. aeruginosa*, неклостридіальні анаероби (*Bacteroides* spp., *Prevotella* spp.), а також гриби роду *Candida*. Слід звернути увагу і на значущість грампозитивної кокової флори, у першу чергу, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. fecalis*, *Enterococcus* spp.

**Мета досліджень.** Метою наших досліджень було встановлення антимікробної активності збору діуретичного, до складу якого входить трава споришу, трава суниці, листя горіха, листя мучниці, листя кропиви, кореневища і корені пирію (по 25,0), квітки цмину (20,0).

**Матеріали та методи.** Дослідження антимікробної чутливості проводили диско-дифузійним методом та методом серійних розведень. Як тест-культури були вибрані музейні штами *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Kl. pneumoniae*, *B. cereus*, *Corynebacterium* spp., *Candida* spp., *S. aureus*, *S. Epidermidis*.

**Результати та їх обговорення.** Результати проведених дослідів з вивчення антимікробної дії зразків по відношенню до різних культур мікроорганізмів показали, що всі вони проявляють бактериостатичну дію тільки до грампозитивної флори. Встановлено, що діуретичний збір у розведенні 1 : 5, фіточай сечогінний та нефрофіт при розведенні 1 : 2 проявляли бактериостатичну дію по відношенню до *B. cereus*, *Corynebacterium* spp., *Candida* spp., *S. epidermidis*, тоді як 3 види грамнегативних бактерій (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Kl. pneumoniae*) були до них стійкими.

**Висновки.** Досліджено антимікробну активність діуретичного збору, фіточаю сечогінного, нефрофіту і доведено, що три з них проявляють бактериостатичну дію на грампозитивну мікрофлору, що дозволяє рекомендувати їх для застосування у комплексній терапії інфекційних захворювань сечовидільної системи.

**Ключові слова:** збір діуретичний; антимікробна активність; диско-дифузійний метод; метод серійних розведень

O. Doroshenko, S. Marchyshyn, N. Tkachuk

### Investigation of anti-microbial activity of diurethical herbal collection

**Topicality.** The problems of inflammatory diseases of kidneys and urinary tract are some of the most difficult in the modern urology. The necessity for long-term use of drugs in the conservative treatment of non-specific inflammatory diseases of the urogenital system allows prefer herbal preparations. It is known that urogenital infections (urethritis, cystitis, prostatitis, pyelonephritis, etc.) are more commonly caused by opportunistic bacteria which can penetrate into the urogenital system by ascending through the urethra, hematogenous pathway, or after traumas of the pelvic organs, urinary system. Mostly such penetration of bacteria into the urinary system ends with their elimination from the body. However, with violations of general reactivity, immunodeficiencies, a large infectious dose of bacteria, they initiate the infectious process. In various uroinfections from the urine, mainly gram-negative microorganisms of different genera and species are sown: *E. coli*, *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *P. aeruginosa*, non-clostridial anaerobes (*Bacteroides* spp., *Prevotella* spp.), and also fungi of the genus *Candida*. Should pay attention also to the importance of gram-positive flora, in the first place, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. fecalis*, *Enterococcus* spp.

**Aim.** To determine the antimicrobial activity of the diuretic herbal collection, which includes *Polygoni avicularis herba*, *Fragariae herba*, *Juglans folia*, *Uvae-ursi folia*, *Urticae folia*, *Elytrigia rhizomata et radices* (by 25.0), *Helichrysi flores* (20.0).

**Materials and methods.** Antimicrobial sensitivity studies were conducted using disco-diffusion method and method of serial dilutions. As a test cultures were selected the museum strains of *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Kl. pneumoniae*, *B. cereus*, *Corynebacterium* spp., *Candida* spp., *S. aureus*, *S. epidermidis*.

**Results and discussion.** The results of experiments conducted from the study of antimicrobial activity of samples in relation to different cultures of microorganisms have shown that all of them exhibit bacteriostatic action only to gram-positive flora. It has been established that diuretic herbal collection in dilution 1 : 5, diuretic herbal tea and nephrophyte in dilution 1 : 2 exhibited bacteriostatic effects in relation to *B. cereus*, *Corynebacterium* spp., *Candida* spp., *S. epidermidis*, whereas 3 types of gram-negative bacteria (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *C. pneumoniae*) were resistant to them.

**Conclusions.** Antimicrobial activity of diuretic herbal collection, diuretic herbal tea, nephrophyte was investigated and three of them showed bacteriostatic action on gram-positive microflora, which allows to recommend them for application in the complex therapy of infectious diseases of the urinary system.

**Key words:** diuretic herbal collection; antimicrobial activity; disco-diffusion method; serial dilution method

О. Г. Дорошенко, С. М. Марчишин, Н. И. Ткачук

### Исследование антимикробной активности сбора диуретического

**Актуальность.** Проблемы воспалительных заболеваний почек и мочевыводящих путей являются одними из самых сложных в современной урологии. Необходимость длительного применения лекарственных средств при консервативном лечении неспецифических воспалительных заболеваний мочеполовой системы позволяет отдавать предпочтение препаратам растительного происхождения. Известно, что урогенитальные инфекции (уретрит, цистит, простатит, пиелонефрит и другие) чаще вызываются условно-патогенными бактериями, которые могут проникать в урогенитальную систему восходящим путем через уретру, гематогенным путем или при травмах органов малого таза и мочевыделительной системы. В подавляющем большинстве случаев такое проникновение бактерий в мочевыводящую систему завершается их элиминацией из организма. Однако при нарушениях общей реактивности, иммунодефицитах, большой инфицирующей дозе бактерий они провоцируют инфекционный процесс. При различных уроинфекциях из мочи высеваются преимущественно грамотрицательные микроорганизмы различных родов и видов: *E. coli*, *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *P. aeruginosa*, неклостридиальные анаэробы (*Bacteroides* spp., *Prevotella* spp.), а также грибы рода *Candida*. Следует обратить внимание и на значимость грамположительной кокковой флоры, в первую очередь, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. fecalis*, *Enterococcus* spp.

**Цель исследований.** Целью наших исследований было установление антимикробной активности сбора диуретического, в состав которого входит трава спорыша, трава земляники, листья ореха, листья толокнянки, листья крапивы, корневища и корни пырея (по 25,0), цветки бессмертника (20,0).

**Материалы и методы.** Исследование антимикробной чувствительности проводили диско-диффузионным методом и методом серийных разведений. Как тест культуры были выбраны музейные штаммы *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Kl. pneumoniae*, *B. cereus*, *Corynebacterium* spp., *Candida* spp., *S. aureus*, *S. epidermidis*.

**Результаты и их обсуждение.** Результаты проведенных опытов по изучению антимикробного действия образцов по отношению к разным культурам микроорганизмов показали, что все они проявляют бактериостатическое действие только к грамположительной флоре. Установлено, что диуретический сбор в разведении 1 : 5, фиточай мочегонный и нефрофит при разведении 1 : 2 проявляли бактериостатическое действие по отношению к *B. cereus*, *Corynebacterium* spp., *Candida* spp., *S. epidermidis*, тогда как 3 вида грамотрицательных бактерий (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Kl. pneumoniae*) были к ним устойчивыми.

**Выводы.** Исследована антимикробная активность диуретического сбора, фиточая мочегонного, нефрофита и доказано, что они проявляют бактериостатическое действие на грамположительную микрофлору, что позволяет рекомендовать их для применения в комплексной терапии инфекционных заболеваний мочевыделительной системы.

**Ключевые слова:** сбор диуретический; антимикробная активность; диско-диффузионный метод; метод серийных разведений

### ВСТУП

Початок ХХІ століття характеризується зростанням кількості урологічних хворих як серед дорослого, так і серед дитячого населення. Проблеми запальних захворювань нирок і сечовивідних шляхів є одними з найбільш складних у сучасній урології. Необхідність тривалого застосування лікарських засобів при консервативному лікуванні неспецифічних запальних захворювань сечостатевої системи є передумовою надання переваги препаратам рослинного походження.

Аналіз лікарських рослинних засобів, які використовуються в урологічній практиці, свідчить, що в основному в їх складі містяться компоненти, які проявляють лише діуретичну активність і в незначній мірі впливають на інші ланки патогенезу. Це диктує необхідність розробки нових засобів, які проявляють м'який діуретичний ефект у поєднанні з антимікробною і протизапальною дією. Особливе значення відводиться зборам лікарських рослин, так як вони містять комплекс біологічно активних речовин, який відповідає за полівалентну дію на різні системи організму [1].

Відомо, що урогенітальні інфекції (уретрити, цистити, простатити, піелонефрити та інші) частіше викликаються умовно-патогенними бактеріями, які можуть проникати в урогенітальну систему висхідним шляхом через уретру, гематогенним шляхом або при

травмах органів малого тазу, сечовидільної системи. Переважна більшість випадків такого проникнення бактерій у сечовивідну систему завершується їх елімінацією з організму. Однак при порушеннях загальної реактивності, імунодефіцитах, великій інфікуючій дозі бактерій вони спричиняють інфекційний процес.

Треба зважити на те, що сеча, яка утворюється в нирках і знаходиться у сечовому міхурі, стерильна. Проте дистальні відділи уретри мають власну мікрофлору, тому сеча легко контамінується нею.

При різноманітних уроінфекціях із сечі висіваються переважно грамнегативні мікроорганізми різних родів і видів: *E. coli*, *Proteus* spp., *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *P. aeruginosa*, неклостридіальні анаэробы (*Bacteroides* spp., *Prevotella* spp.), а також гриби роду *Candida*. Слід звернути увагу і на значущість грампозитивної кокової флори, у першу чергу, *S. epidermidis*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. fecalis*, *Enterococcus* spp.

З врахуванням вищенаведеного метою наших досліджень було встановлення антимікробної активності збору діуретичного, розробленого на кафедрі фармакогнозії з медичною ботанікою професором Марчишин С. М. [2].

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Об'єктом для досліджень був збір діуретичний, до складу якого входить трава спорыша, трава суні-

ці, листя горіха, листя мучниці, листя кропиви, кореневища і корені пирію (по 25,0), квітки цмину (20,0) [2, 3].

Дослідження антимікробної чутливості 4-х зразків (діуретичний збір 1 : 10, діуретичний збір 1 : 5, фіточай сечогінний, нефрофіт) проводили диско-дифузійним методом та методом серійних розведень на базі лабораторії мікробіології та паразитології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України».

Як тест-культури були вибрані музейні штами *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Kl. pneumoniae*, *B. cereus*, *Corynebacterium* spp., *Candida* spp., *S. aureus*, *S. epidermidis*.

Диско-дифузійний метод є найпростішим якісним методом і широко використовується для оцінки чутливості мікробів. Чутливість мікроорганізмів визначали тільки у чистій культурі. Для виготовлення інколюму 5-10 однорідних колоній суспендували у 2 мл рідкого середовища або фізіологічного розчину. Бактеріальну суспензію ( $10^3$ - $10^5$  КУО/мл залежно від виду мікробів) в об'ємі 1 мл рівномірно розподіляли по поверхні середовища при похитуванні чашки, надлишок рідини видаляли піпеткою. Чашки підсушували при кімнатній температурі впродовж 20-30 хв. На поверхню засіяного газону на однаковій віддалі клали стерильні диски (фірма HIMEDIA), які були просочені 0,02 мл (діуретичний збір 1 : 10, діуретичний збір 1 : 5, фіточай сечогінний, нефрофіт) розчинами та інкубували у термостаті впродовж 24-48 год. Після інкубації вимірювали діаметри зон затримки росту навколо дисків, включаючи діаметр самих дисків, з точністю до 1 мм.

За методом серійних розведень у рідкому поживному середовищі готували 8 пробірок з двократними послідовними розведеннями фітозбору.

Попередньо у пробірки розливали по 2,0 мл стерильного МПБ, потім у першу вносили 2 мл досліджуваного фітозбору, перемішували і продовжували

розведення до передостанньої пробірки, з якої виливали 2 мл суміші. Остання пробірка служила контролем росту культури. Потім до кожної пробірки з розведеннями фітопрепарату, а також до контрольної пробірки додавали по 0,2 мл виготовленої суспензії тест-культури бактерій з розрахунку  $10^5$ - $10^6$  мікробних тіл в 1 мл в залежності від виду мікроорганізму [4, 5].

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати проведених дослідів з вивчення антимікробної дії зразків по відношенню до різних культур мікроорганізмів показали, що всі вони проявляють бактеріостатичну дію тільки до грампозитивної флори.

Так, кількість колоній *B. cereus*, *Corynebacterium* spp., *Candida* spp., *S. epidermidis* навколо дисків, просочених досліджуваними зразками, була значно меншою, ніж при проростанні грамнегативної флори.

Результати вивчення антимікробної активності досліджуваних зразків методом серійних розведень представлені в таблиці.

Встановлено, що діуретичний збір у розведенні 1:5, фіточай сечогінний та нефрофіт при розведенні 1 : 2 проявляли бактеріостатичну дію по відношенню до *B. cereus*, *Corynebacterium* spp., *Candida* spp., *S. epidermidis*, тоді як 3 види грамнегативних бактерій (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *Kl. pneumoniae*) були до них стійкими (рис. 1 і 2).

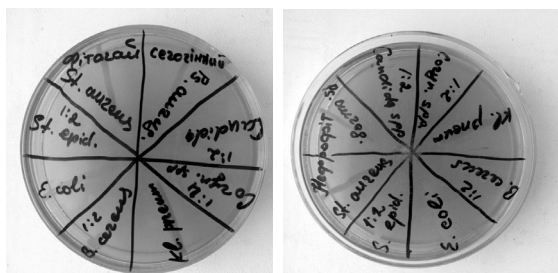
Бактеріостатична дія фітозбору діуретичного відносно досліджуваних грампозитивних штамів мікроорганізмів *B. cereus*, *Corynebacterium* spp., *Candida* spp., *S. epidermidis* зумовлена наявністю у ньому таких біологічно активних речовин – фенольних сполук (гідроксикоричних кислот, флавоноїдів, дубильних речовин), ефірних олій, мікроелементів, які мають антимікробну активність [6, 7].

Таблиця

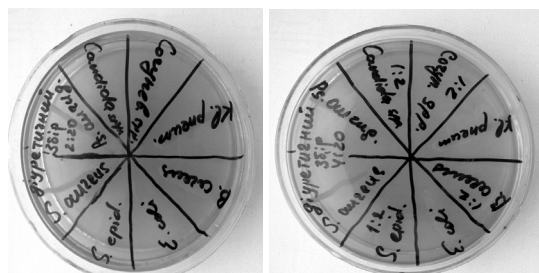
## АНТИМІКРОБНА АКТИВНІСТЬ ФІТОЗБОРІВ

Фітозбори Тест-культури	Мінімальна бактеріостатична концентрація (серійні розведення) Диско-дифузійний метод (зона затримки росту, мм)			
	діуретичний збір 1 : 10	діуретичний збір 1 : 5	фіточай сечогінний	нефрофіт
<i>E. coli</i>	-	-	-	-
<i>P. aeruginosa</i>	-	-	-	-
<i>Kl. pneumoniae</i>	-	-	-	-
<i>B. cereus</i>	-	<u>1 : 2</u> 10	<u>1 : 2</u> 12	<u>1 : 2</u> 11
<i>Corynebacterium</i> spp	-	<u>1 : 2</u> 11	<u>1 : 4</u> 24	<u>1 : 2</u> 12
<i>Candida</i> spp	-	<u>1 : 2</u> 11	<u>1 : 2</u> 11	<u>1 : 2</u> 13
<i>S. aureus</i>	-	-	-	-
<i>S. epidermidis</i>	-	<u>1 : 2</u> 12	<u>1 : 11</u> 11	<u>1 : 2</u> 12

Примітка: «-» – відсутність бактерицидних та бактеріостатичних властивостей.



**Рис. 1.** Чутливість різних культур мікроорганізмів до фіточаю сечогінного та нефрофіту (диско-дифузійний метод)



**Рис. 2.** Чутливість різних культур мікроорганізмів до збору діуретичного (диско-дифузійний метод)

### ВИСНОВОК

Досліджено антимікробну активність діуретичного збору, фіточаю сечогінного, нефрофіту і доведено, що вони проявляють бактеріостатичну дію на

грампозитивну мікрофлору, що дозволяє рекомендувати їх для застосування у комплексній терапії інфекційних захворювань сечовидільної системи.

**Конфлікт інтересів:** відсутній

### ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Лекарственные растения, почки и обмен мочево́й кислоты / С. Ю. Штрыголь, О. В. Товчига, О. О. Койро, С. И. Степанова. – Х. : Титул, 2014. – 424 с.
2. Збір лікарських рослин з діуретичною і нефропротекторною дією. Пат. № 109891 Україна, МПК (2016.01) А 23 F 3/34 А 61 K 36/52, А 61 K 36/533 А 61 K 36/704 А 61 K 36/73 А 61 P 13/10 / Марчишин С. М., Дорошенко О. Г., Козир Г. Р., Койро О. О., Чорна Н. С. – u2016 03360; заявл. 31.03.2016; опубл. 12.09.2016, Бюл. №17.
3. Дослідження впливу оригінальних фітозасобів на видільну функцію нирок в експерименті / С. М. Марчишин, О. Г. Дорошенко, О. О. Койро, Н. С. Чорна // Фітотерапія. Часопис. – 2015. – № 1. – С. 76–79.
4. Ситник, І. О. Мікробіологія, вірусологія, імунологія : підручник / І. О. Ситник, С. І. Климнюк, М. С. Творко. – Тернопіль : ТДМУ, 2009. – 392 с.
5. Пуль, В. В. Вивчення антимікробної активності препарату місцевої дії для лікування захворювань верхніх дихальних шляхів / В. В. Пуль, І. І. Баранова, Т. П. Осолодченко // Пробл. екологічної та мед. генетики і клін. імунол. – 2014. – Вип. 3. – С.162–168.
6. Дорошенко, О. Г. Фітохімічне дослідження збору діуретичного / О. Г. Дорошенко, С. М. Марчишин // Мед. та клін. хімія. – 2016. – Т. 18, № 3 (68). – С. 50–53.
7. Identification, quantitative determination and antioxidative of chlorogenic acid isomers in prune (*Prunus domestica* L.) / N. Nakatani, S. Kayano, H. Kikuzaki et al. // J. Agric. Chem. – 2000. – Vol. 48, Issue 11. – P. 5512–5516. doi: 10.1021/jf000422s

### REFERENCES

1. Strygol, S. Yu., Tovchiga, O. V., Koiro, O. O., Stepanova, S. I. (2014). *Lekarstvennye rasteniia, pochki i obmen mochevoi kisloty*. Kharkov: Titul, 424.
2. Marchyshyn, S. M., Doroshenko, O. H., Kozyr, H. R., Koiro, O. O., Chorna, N. S. (2016). Zbir likarskykh roslin z diuretychnoiu i nefroprotektornoii diieiu. Pat. № 109891 Ukraine, MPK (2016.01) A23F 3/34 A61K 36/52, A61K 36/533 A61K 36/704 A61K 36/73 A61P 13/10. u2016 03360; declared 31.03.2016; published 12.09.2016, №17.
3. Marchyshyn, S. M., Doroshenko, O. H., Koiro, O. O., Chorna, N. S. (2015). *Fitorepaia. Chasopys*, 1, 76–79.
4. Sytnyk, I. O., Klymnyuk, S. I., Tvorco, M. S. (2009). *Mikrobiolohiia, virusolohiia, imunolohiia*. Ternopil: TDMU, 392.
5. Pul, V. V., Baranova, I. I., Osolodchenko, T. P. (2014). *Problemy ekolohichnoi ta medychnoi henytyky i klinichnoi imunolohii*, 3, 162–168.
6. Doroshenko, O. H., Marchyshyn, S. M. (2016). *Medychna ta klinichna khimiia*, 18 (3 (68)), 50–53.
7. Nakatani, N., Kayano, S., Kikuzaki, H., Sumino, K., Katagiri, K., Mitani, T. (2000). Identification, Quantitative Determination, and Antioxidative Activities of Chlorogenic Acid Isomers in Prune (*Prunus domestica* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48 (11), 5512–5516. doi: 10.1021/jf000422s

#### Відомості про авторів:

Марчишин С. М., д-р фарм. наук, професор, завідувач кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України». E-mail: svtlanafarm@ukr.net  
 Дорошенко О. Г., здобувач кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України». E-mail: cito.9876@gmail.com  
 Ткачук Н. І., канд. мед. наук, доцент кафедри мікробіології, вірусології та імунології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України». E-mail: tkachuk@tdmu.edu.ua

#### Information about the authors:

Marchyshyn S. M., Doctor of Pharmacy, Professor, Head of the Department of Pharmacognosy and Medical Botany at I. Horbachevsky Ternopil State Medical University. E-mail: svtlanafarm@ukr.net  
 Doroshenko O. G., the candidate of the Department of Pharmacognosy with Medical Botanist at I. Horbachevsky Ternopil State Medical University. E-mail: cito.9876@gmail.com  
 Tkachuk N. I., PhD, Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology at I. Horbachevsky Ternopil State Medical University. E-mail: tkachuk@tdmu.edu.ua

#### Сведения об авторах:

Марчишин С. М., д-р фарм. наук, профессор, заведующая кафедрой фармакогнозии с медицинской ботаникой ГБУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МЗ Украины». E-mail: svtlanafarm@ukr.net  
 Дорошенко О. Г., соискатель кафедры фармакогнозии с медицинской ботаникой ГБУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МЗ Украины». E-mail: cito.9876@gmail.com  
 Ткачук Н. И., канд. мед. наук, доцент кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии ГБУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МЗ Украины». E-mail: tkachuk@tdmu.edu.ua

Рекомендована д. мед. н., професором Н. І. Філімоною

Надійшла до редакції 11.09.2017 р.