



## Науковий вісник Львівського національного університету ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Гжицького

Scientific Messenger of Lviv National University  
of Veterinary Medicine and Biotechnologies

ISSN 2518–7554 print  
ISSN 2518–1327 online

doi: 10.32718/nvlvet9223  
http://nvlvet.com.ua

UDC 636.9:614.3.7:636.4

### Bakterycydic activity of plant eternal oils

V. Kovalenko<sup>1</sup>, V. Garkavenko<sup>2</sup>, O. Vishchur<sup>3</sup>, S. Ponomaryova<sup>4</sup>, I. Solovodzinska<sup>5</sup>

<sup>1</sup>State Scientific Control Institute Biotechnology and Strains of Microorganisms, Kyiv, Ukraine

<sup>2</sup>State Scientific and Research Institute of Laboratory Diagnostics and Veterinary and Sanitary Expertise, Kyiv, Ukraine

<sup>3</sup>Institute of animal biology NAAS, Lviv, Ukraine

<sup>4</sup>State Scientific-Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, Lviv, Ukraine

<sup>5</sup>Lviv National Agrarian University, Dublyany, Ukraine

#### Article info

Received 22.10.2018

Received in revised form

21.11.2018

Accepted 22.11.2018

State Scientific Control Institute  
Biotechnology and Strains of  
Microorganisms, Donetska Str., 30,  
Kyiv, 03151, Ukraine.  
Tel.: +38-044-245-76-08  
E-mail: kovalenkodoktor@gmail.com

State Scientific and Research  
Institute of Laboratory Diagnostics  
and Veterinary and Sanitary  
Expertise, Donetska Str., 30, Kyiv,  
03151, Ukraine.  
E-mail: gvm77@i.ua

Institute of Animal Biology of  
NAAS, V. Stusa Str., 38, Lviv,  
79000, Ukraine.

State Scientific-Research Control  
Institute of Veterinary Medicinal  
Products and Feed Additives,  
Donetska Str., 11, Lviv, 79019,  
Ukraine.  
E-mail: vitlan18@gmail.com

Lviv National Agrarian University,  
Dublyany, Zhovkva district, Lviv  
region, 30831, Ukraine.

**Kovalenko, V., Garkavenko, V., Vishchur, O., Ponomaryova, S., & Solovodzinska, I. (2018). Bakterydydic activity of plant eternal oils. Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies, 20(92), 113–116. doi: 10.32718/nvlvet9223**

The aim of the research was to study the antibacterial effect of plant essential oils on the basis of nanoparticles of metals *in vitro* with the use of test microorganisms on test objects. In experiments, broths of *S. aureus* (strain P-209) were used. To prepare the broth culture, 25 cc of the nutrient medium was poured into the flask and 0.25 cc of the daily broth culture of microorganisms was added to it. A day later, broth culture was filtered through a sterile gauze-wool or paper filter. In a test tube with various dilutions of a disinfectant in 5 ml, 0.5 cm<sup>3</sup> of 24-hour broth culture of the test microorganisms was applied. After 10 minutes holding the platinum loop from the flasks, samples were taken and transferred to Petri dishes from the MPA. The indicated types of work were conducted in compliance with the conditions of sterility. After 30 minutes, keeping the same interval, again took samples and carried out the next sowing on agar. After this, Petri dishes were placed in a thermostat with a temperature of 37 °C. Seeds were viewed 24 and 48 hours. A similar method was also used when conducting a study to determine the bactericidal effect of *E. coli*. The bactericidal activity of the drug “Barez” on the basis of nanoparticles of silver, benzalkonium chloride and essential oils *in vitro* with the use of test microorganisms on test objects was investigated. The drug has a high bactericidal effect on *S. aureus*, which exceeds the activity of phenol in 12.7 times, in comparison with *E. coli* – 24 times. By protein contamination of surfaces bactericide decreases in 1.9 times in relation to gram-positive microflora and in 1.4 times – in gram-negative. Complex disinfectant “Barez” starting from 0.05% concentration for 10 minutes completely inactivates *E. coli* and *S. aureus* on various materials with different structure of the surface. The investigated solutions of essential oils have a wide spectrum of antimicrobial action and can be used for disinfection in diseases of animals, the pathogens of which are equated with resistance to *E. coli* and *S. aureus*. Microorganisms, in prolonged contact with silver nanoparticles and essential oils, practically do not produce resistance to them, which is a significant advantage over antibiotics and can be used in humane and veterinary medicine.

**Key words:** vegetable oils, disinfection, test microorganisms, silver nanoparticles.

### Бактерицидна активність рослинних ефірних олій

В.Л. Коваленко<sup>1</sup>, В.М. Гаркавенко<sup>2</sup>, О.І. Віщур<sup>3</sup>, С.А. Пономарьова<sup>4</sup>, І.Є. Соловдзінська<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, м. Київ, Україна

<sup>2</sup>Державний науково-дослідний інститут з лабораторної діагностики та ветеринарно санітарної експертизи, м. Київ, Україна

<sup>3</sup>Інститут біології тварин, м. Львів, Україна

<sup>4</sup>Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок, м. Львів, Україна

<sup>5</sup>Львівський національний аграрний університет, м. Дубляни, Україна

Метою досліджень було вивчити антибактеріальну дію рослинних ефірних олій на основі наночастинок металів *in vitro* із застосуванням тест-мікроорганізмів на тест-об'єктах. Досліджено бактерицидну активність препарату "Барез" на основі наночастинок срібла, бензалконію хлориду та ефірних олій *in vitro* із застосуванням тест-мікроорганізмів на тест-об'єктах. Препарат має високу бактерицидність щодо *S. aureus*, яка перевищує активність фенолу в 12,7 раза, щодо *E. coli* – в 24 рази. За білкової забрудненості поверхонь бактерицидність знижується в 1,9 раза щодо грампозитивної мікрофлори та в 1,4 раза – щодо грамнегативної. Комплексний дезінфектант "Барез", починаючи з 0,05% концентрації, за 10 хв повністю інактивує *E. coli* та *S. aureus* на різних матеріалах з різною структурою поверхні. Досліджувані розчини ефірних олій володіють широким спектром антимікробної дії та можуть бути використані для дезінфекції при захворюваннях тварин, збудники яких прирівнюються за стійкістю до *E. coli* та *S. aureus*. Мікроорганізми при тривалому контакті з наночастинками срібла та ефірними оліями практично не виробляють до них стійкості, що є їхньою істотною перевагою над антибіотиками і можуть бути використані в гуманній і ветеринарній медицині.

**Ключові слова:** рослинні олії, дезінфекція, тест-мікроорганізми, наночастинки срібла.

## Вступ

При порушенні умов утримання тварин, ветеринарно-санітарних норм, при впливі технологічних стресів та ін. знижується продуктивність, стійкість до захворювань, сповільнюється зростання і розвиток, особливо молодняку. У тварин порушується обмін речовин, знижується перетравність і засвоюваність поживних речовин корму, що негативно впливає на ефективність тваринництва (Nikolaevskij, 2000; Bergonzelli et al., 2003; Kovalenko et al., 2018).

Для створення сприятливого мікроклімату у виробничих приміщеннях, стимуляції ембріогенезу, отримання життєздатного молодняку тварин є перспективним застосування ароматичних олій і наночастинок срібла. Вони безпечні в екологічному плані, володіють ефективними антибактеріальними, протівірусними, антиоксидантними та іншими корисними властивостями (Sartoratto et al., 2004; Borodina, 2004; Obrazhei et al., 2008).

У зв'язку з цим розробка нових екологічно чистих і вдосконалення існуючих методів як щодо оптимізації мікроклімату тваринницьких приміщень, так і впливу на організм молодняку з метою підвищення резистентності, м'ясної продуктивності з використанням аероіонізаторів і ароматичних олій є актуальною як в науковому, так і в практичному плані.

Метою досліджень було вивчити антибактеріальну дію рослинних ефірних олій на основі наночастинок металів *in vitro* із застосуванням тест-мікроорганізмів на тест-об'єктах.

## Матеріал і методи досліджень

Використовували бактерицидний препарат "Барез" на основі наночастинок срібла, бензалконію хлориду та ефірних олій *in vitro* із застосуванням тест-мікроорганізмів на тест-об'єктах.

У дослідах використовували бульйонні культури *S. aureus* (штам Р-209). Для приготування бульйонної культури у колбу наливали 25 см<sup>3</sup> поживного середовища і вносили у нього 0,25 см<sup>3</sup> добової бульйонної культури мікроорганізмів. Через добу бульйонну культуру фільтрували через стерильний марлеватний чи паперовий фільтр. У пробірці з різними розведеннями дезінфектанту по 5 мл вносили по 0,5 см<sup>3</sup> 24-годинної бульйонної культури випробовуваних мікроорганізмів. Після 10-хв витримання із колб платиновою петлею брали проби і переносили у чашки Петрі з МПА. Вказані види робіт проводили з

дотриманням умов стерильності. Через 30 хв, збираючи той же інтервал, знову брали проби і проводили наступний посів на агар. Після цього чашки Петрі ставили у термостат з температурою 37 °С. Посіви переглядали через 24 і 48 год.

Подібною методикою керувалися і при проведенні дослідження з визначення бактерицидності препарату щодо *E. coli* (шт. 1257).

Дослідження на тест-об'єктах проводили з різними концентраціями дезінфектанту: 0,01; 0,02; 0,05; 0,1%. Як тест-об'єкти використовували нержавіючу сталь, кахельну плитку, бетон та цеглу. Оцінку якості дезінфекції проводили через 24–48 годин згідно з методикою.

Для контролю проводили висів бульйонних культур *S. aureus* та *E. coli* згідно з загальноприйнятими методами (Yakubchak et al., 2005; Kovalenko, 2014). При цьому використовували мікробіологічні показові тест-культури *E. coli* (шт. 1257) та *S. aureus* (штам Р-209).

## Результати та їх обговорення

При дослідженні бактерицидної активності в лабораторних умовах готували 1,0% розчини ефірних олій з наночастинками срібла та бензалконієм хлоридом в концентрації основного розчину 1:50 з прогресивним зменшенням діючої речовини в розчині 1:4 методом серійних розведень. Одночасно готували суспензію одностодової бульйонної культури *E. coli* (шт. 1257) та *S. aureus* (штам Р-209) із вмістом мікроорганізмів  $2 \times 10^9$  в 1 см<sup>3</sup>, яку піддавали впливу досліджуваного розчину певного розведення при експозиціях 10 і 30 хв без білка та за наявності білка (інактивованої сироватки крові ВРХ). Результати вивчення бактерицидної активності препаратів в таблиці 1.

Визначення білкового індексу показало, що в присутності білкової субстанції досліджувані розчини зменшують свою бактерицидну активність стосовно до *E. coli* в 1,4 рази, а по відношенню до *S. aureus* в 1,9 рази. Отримані результати дають підставу припустити, що дані препарати можуть бути використані для санації різних об'єктів.

Визначення ефективності дії дезінфектанту "Барез" на тест-об'єктах. При визначенні ефективності дії дезінфектанту "Барез" використовували бактерії *E. coli* та *S. aureus* при різних температурних режимах, способах кратності нанесення на тест-об'єкти. Результати досліджень наведені в таблицях 2 та 3.

**Таблиця 1**

Бактерицидна дія препарату “Барез” стосовно до *E. coli*, ( шт. 1257) та *S. aureus*, (шт. P-209)

Розчини препаратів (в співвідношенні)	Бактерицидне розведення				Середній фенольний коефіцієнт	Середній білковий індекс
	Експозиція, (хв)					
	10	%	30	%		
<i>E. coli, (шт. 1257)</i>						
Фенол 1 : 50	1 : 98		1 : 192,8		-	-
“Барез”	1 : 3968,6	0,03	1 : 5566,0	0,02	34,68	
“Барез” + білок	1 : 2834,7	0,04	1 : 3968,6	0,03	24,06	1,4
<i>S. aureus, (шт. P-209)</i>						
“Барез”	1 : 2834,7	0,04	1 : 3968,6	0,03	24,06	
“Барез” + білок	1 : 1464,3	0,1	1 : 2024,8	0,05	12,7	1,9

**Таблиця 2**

Ефективність знезараження поверхні тест-об’єктів, контамінованих *E. coli*, препаратом “Барез”

Назва тест-об’єкту	Концентрація дезінфектанту, %	Експозиція, хв		
		10	30	60
Бетон	0,01	+	+	+
	0,02	+	+	-
	0,05	+	-	-
	0,1	-	-	-
Цегла	0,01	+	+	+
	0,02	+	+	-
	0,05	-	-	-
	0,1	-	-	-
Кахельна плитка	0,01	+	+	+
	0,02	+	-	-
	0,05	-	-	-
	0,1	-	-	-
Нержавіюча сталь	0,01	+	+	+
	0,02	+	-	-
	0,05	-	-	-
	0,1	-	-	-

Примітка: “+” – наявність росту, “-” – відсутність росту

В результаті аналізу отриманих даних табл. 2 можна зробити висновок, що дезінфектант має бактерицидну дію щодо *E. coli* у концентрації 0,05%. Тим

самим підтверджує попередні результати досліджень з визначення бактерицидної активності. Аналогічні результати були отримані і щодо *S. aureus* (табл. 3).

**Таблиця 3**

Ефективність знезараження поверхні тест-об’єктів, контамінованих *S. aureus*, препаратом “Барез”

Назва тест-об’єкту	Концентрація дезінфектанту, %	Експозиція, хв		
		10	30	60
Бетон	0,01	+	+	+
	0,02	+	+	+
	0,05	+	-	-
	0,1	-	-	-
Цегла	0,01	+	+	+
	0,02	+	+	+
	0,05	+	-	-
	0,1	-	-	-
Кахельна плитка	0,01	+	+	+
	0,02	+	-	-
	0,05	-	-	-
	0,1	-	-	-
Нержавіюча сталь	0,01	+	+	+
	0,02	+	-	-
	0,05	-	-	-
	0,1	-	-	-

Примітка: “+” – наявність росту, “-” – відсутність росту

З усього вищевказаного можна зробити висновок, що комплексний дезінфектант “Барез”, починаючи з 0,05 % концентрації, вже через 10 хв повністю інактивує мікроорганізми *E. coli* та *S. aureus*, проявляє бактерицидні властивості на різних матеріалах з різною структурою поверхні.

Механізм дії низьких доз наночастинок срібла та ефірних олій на мікроорганізми полягає в зниженні проникності цитоплазматических мембран, зменшенні інтенсивності метаболізму і активності аеробного дихання мікроорганізмів, деструкції цитоплазматических мембран, яку викликають бактерицидні дози ефірних олій.

Мікроорганізми при тривалому контакті з наночастинами срібла та ефірними оліями практично не виробляють до них стійкості, що є їхньою істотною перевагою перед антибіотиками і представляє інтерес для практичного використання в гуманній та ветеринарній медицині.

### Висновки

Досліджуваний препарат має високу бактерицидність щодо *S. aureus*, яка перевищує активність фенолу в 12,7 рази, щодо *E. coli* – в 24 рази.

За білкової забрудненості поверхонь бактерицидність знижується в 1,9 рази щодо грампозитивної мікрофлори та в 1,4 рази – щодо грамнегативної.

Комплексний дезінфектант “Барез”, починаючи з 0,05% концентрації, через 10 хв повністю інактивує мікроорганізми *E. coli* та *S. aureus*, проявляє бактерицидні властивості на різних матеріалах з різною структурою поверхні.

Досліджувані розчини ефірних олій володіють широким спектром антимікробної дії та можуть бути використані для дезінфекції при захворюваннях тварин, збудники яких прирівнюються за стійкістю до *E. coli* та при дії на збудники, стійкість яких прирівнюються до стійкості *S. aureus*.

### References

- Bergonzelli, G.E., Donnicola, D., Porta, N., & Corthésy-Theulaz, I.E. (2003). Essential oils as components of a diet-based approach to management of *Helicobacter* infection. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*, 47(10), 3240–3246. doi: 10.1128/AAC.47.10.3240-3246.2003.
- Borodina, A.V. (2004). Sravnitel'nyj analiz antimikrobnj aktivnosti jefirnyh masel. *Doneck: DMU*, 13(1–2), 65–67 (in Russian).
- Kovalenko, V.L. (2014). Metody kontroliu dezinfikuiuchykh zasobiv. *Dovidnyk. K.* (in Ukrainian).
- Kovalenko, V.L., Napnenko, O.O., Chomyi, I., & Zagrebnyi, A.V. (2018). The study of essential oil on antimicrobial activity and their composition towards microorganism. *Scientific Messenger of Lviv National University of Veterinary Medicine and Biotechnologies*. 20(87), 38–41. doi: 10.15421/nvlvet8707.
- Nikolaevskij, V.V. (2000). *Aromaterapija. M.:Medicina* (in Russian).
- Obrazhei, A.F., Kvachov, V.G., Ayshpur, O.E., & Sapeiko, V.P. (2008). Essential oils an alternative to antibiotics in respiratory infections treatment and prophylaxis in pigs. *Veterynarna biotekhnolohiia. Biuletyn*, 12, 147–150.
- Sartoratto, A., Machado, A.L.M., Delarmelina, C., Figueira, G.M., Duarte, M.C.T. & Rehder, V.L.G. (2004). Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*, 35(4), 275–280. doi: 10.1590/S1517-83822004000300001.
- Yakubchak, O.M., Khomenko, V.I., & Kovalenko, V.L. (2005). Rekomendatsii shchodo sanitarnomikrobiolohichnoho doslidzhennia zmyviv z poverkhon test-obiektiv ta obiektiv veterynarnoho nahliadu i kontroliu. *Metodychni rekomendatsii. K.* (in Ukrainian).