

Д. В. Вайдо, А. Д. Боровикова
ИССЛЕДОВАНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ
IN VITRO ИМБИРЯ ОБЫКНОВЕННОГО

Научный руководитель: канд. мед. наук И. А. Гаврилова

Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Резюме. Проведена оценка антимикробной активности трех лекарственных форм имбиря обыкновенного (*Zingiber officinale*) – 10% спиртового экстракта, водного отвара и свежего корневища имбиря – в отношении тест-культур микроорганизмов в опытах *in vitro*.

Ключевые слова: имбирь, *Zingiber officinale*, антимикробная активность.

Resume. The antimicrobial activity of three formulations of ginger (*Zingiber officinale*) - 10% alcohol extract, water infusion and fresh ginger rhizome – against test bacterial cultures was evaluated in 'in vitro' experiments.

Keywords: ginger, *Zingiber officinale*, antimicrobial activity.

Актуальность. Широкое распространение приобретенной резистентности микроорганизмов к средствам с противомикробной активностью, а также увеличение частоты токсико-аллергических реакций на химические антисептические средства обуславливают интерес исследователей в области поиска растительных антисептиков с отсутствием указанных нежелательных эффектов. Имбирь обыкновенный (аптечный) с давних пор используется в народной медицине разных стран. Обладая широким спектром биологически активных веществ, имбирь оказывает противовоспалительное, иммуномодулирующее, противомикробное действие [5].

Цель: оценка противомикробной активности *in vitro* водных, спиртовых экстрактов, а также свежего корневища имбиря обыкновенного (*Zingiber officinale*).

Задачи:

1. Изучить бактерио- и фунгистатическое действие имбиря в отношении типовых культур микроорганизмов.
2. Провести сравнительную оценку противомикробной активности различных лекарственных форм имбиря.

Материал и методы.

Тест-культуры микроорганизмов: *Escherichia coli* ATCC 11229, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15412, *Candida albicans* ATCC 10231.

Лекарственные формы имбиря: измельченное корневище свежего имбиря, спиртовой экстракт имбиря (10%, 5%, 2,5%), водный отвар имбиря (20%).

Нейтрализатор: 3,0% Твина 80; 3,0% сапонина; 0,1% гистидина; 0,3% лецитина; 0,1% цистеина; 1% пептона.

Питательные среды: мясо-пептонный агар, среда Сабуро.

Документация, регламентирующая исследования: «Методы проверки и оценки антимикробной активности дезинфицирующих и антисептических средств». Инструкция по применению. Регистрационный № 11-20-204-2003. Утв. 22.12.2003 г.

[1].

Количественным суспензионным методом изучали антимикробную активность водного и спиртового экстракта корневища имбиря обыкновенного в отношении типовых культур *E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa* и *C. albicans*. Для получения спиртового экстракта использовали 50% этиловый спирт при соотношении «сырье/экстрагент» 1:10. Время экстракции – 14 дней в прохладном темном месте. Получившийся настой процеживали в стерильную посуду. Оценивали противомикробную активность получившегося спиртового настоя (10%), а также его двукратных разведений стерильной дистиллированной водой (5%, 2,5%). Водный отвар получали, заливая очищенное и измельченное до частиц размером 0,2–0,5 мм корневище имбиря и настаивая отвар в течение 60 мин при комнатной температуре. Противомикробное действие свежего имбиря оценивали методом диффузии в агар.

Ход работы по оценке бактерио- и фунгистатической активности различных лекарственных форм имбиря обыкновенного в количественном суспензионном методе:

1. Взвеси суточных агаровых культур тест-микроорганизмов в физиологическом растворе стандартизировали до 10^7 КОЕ/мл, смешивали с исследуемыми растворами антисептиков (спиртовая настойка имбиря, отвар имбиря) в соотношении 1:10 (температура раствора 20°C). По истечении экспозиции антисептического средства (10 мин) его нейтрализовали в течение 15 мин. Из раствора нейтрализатора проводили высевы по 0,1 мл на сектора чашек с плотной средой, соответствующей питательным потребностям микроорганизма.

2. Для контроля взвесь тест-культуры смешивали со стерильной водопроводной водой на период экспозиции. Дальнейший ход исследования аналогичен описанному выше. Посевы инкубировали в термостате в течение 48 часов.

3. Подсчитывали число колоний и устанавливали количество выживших бактерий (КОЕ/мл) в опыте и контроле. Определяли десятичные логарифмы и факторы редукции (RF) числа бактерий в опыте по сравнению с контролем. Согласно Инструкции [1] критерием эффективности антисептика признается величина $RF \geq 4,0$.

Ход работы по оценке бактерио- и фунгистатической активности различных лекарственных форм имбиря обыкновенного методом диффузии вещества в плотной питательной среде:

1. Взвесь суточных агаровых культур тест-микроорганизмов в физиологическом растворе стандартизировали до 10^5 КОЕ/мл. Затем 1 мл суспензии засеивали газоном на плотную питательную среду. Оставляли закрытые чашки Петри при комнатной температуре до полного впитывания взвеси тест-культур в питательную среду.

2. В асептических условиях пробойником проделывали лунки в агаре диаметром 0,5 см, удаляли среду из лунок. Заполняли лунки антисептическим средством (измельченный имбирь, спиртовая настойка имбиря, отвар имбиря).

3. Посевы инкубировали в термостате в течение 24 часов при 37°C.

4. Учёт производили, измеряя диаметр зон задержки роста вокруг лунок с антисептическими средствами. Опыт проводили в трех повторах, высчитывали среднее значение показателя.

Результаты и их обсуждение. При количественном учете результатов опыта было установлено, что факторы редукции 2,5%, 5% и 10% спиртовой имбирной настойки не соответствовали критериям эффективности антисептического средства (таблица 1). При этом максимальная активность спиртовой настойки была отмечена в отношении кишечной палочки (количество микробов уменьшилось в 1000 раз после воздействия 10% спиртового раствора имбиря, при воздействии 5% настойки RF составил 2,01). Минимальной эффективностью данная лекарственная форма обладала против стафилококка ($RF \leq 1,5$).

Таблица 1. Результаты оценки антимикробной активности спиртового экстракта имбиря в количественном суспензионном методе

Тест-культура	Группы	Спиртовая настойка имбиря								
		10% – 10 мин			5% – 10 мин			2,5% – 10 мин		
		КОЕ/мл	lg	RF	КОЕ/мл	lg	RF	КОЕ/мл	lg	RF
<i>E. coli</i>	опыт	$4,0 \times 10^3$	3,62	2,92	$3,4 \times 10^4$	4,53	2,01	$>3,0 \times 10^5$	5,48	1,06
	контроль	$3,5 \times 10^6$	6,54		$3,5 \times 10^6$	6,54		$3,5 \times 10^6$	6,54	
<i>S. aureus</i>	опыт	$9,8 \times 10^4$	4,98	1,67	$>3,0 \times 10^5$	5,48	1,17	$>3,0 \times 10^5$	5,48	1,17
	контроль	$4,5 \times 10^6$	6,65		$4,5 \times 10^6$	6,65		$4,5 \times 10^6$	6,65	
<i>P. aeruginosa</i>	опыт	$1,9 \times 10^5$	5,28	1,62	$>3,0 \times 10^5$	5,48	1,42	$>3,0 \times 10^5$	5,48	1,42
	контроль	$8,0 \times 10^6$	6,90		$8,0 \times 10^6$	6,90		$8,0 \times 10^6$	6,90	
<i>C. albicans</i>	опыт	$1,0 \times 10^3$	3,03	2,82	$1,9 \times 10^5$	5,28	0,57	$>3,0 \times 10^5$	5,48	0,57
	контроль	$7,0 \times 10^5$	5,85		$0,7 \times 10^6$	5,85		$0,7 \times 10^6$	5,85	

При изучении противомикробной активности 20% водного отвара имбиря результаты эффективности данной формы как антисептика также были отрицательными (таблица 2), но наибольший бактериостатический эффект был отмечен для грамотрицательных бактерий – синегнойной палочки ($RF=1,42$) и кишечной палочки. Наименьшей была противогрибковая активность.

Таблица 2. Результаты оценки антимикробной активности водного отвара имбиря в количественном суспензионном методе

Тест-культура	Группы	Отвар имбиря		
		20% – 10 мин		
		КОЕ/мл	lg	RF
<i>E. coli</i>	опыт	$>3,0 \times 10^5$	5,48	1,06
	контроль	$3,5 \times 10^6$	6,54	
<i>S. aureus</i>	опыт	$7,2 \times 10^5$	5,86	0,79
	контроль	$4,5 \times 10^6$	6,65	
<i>P. aeruginosa</i>	опыт	$>3,0 \times 10^5$	5,48	1,42
	контроль	$8,0 \times 10^6$	6,90	
<i>C. albicans</i>	опыт	$2,2 \times 10^5$	5,34	0,51
	контроль	$7,0 \times 10^5$	5,85	

При учете зон задержки роста и измерении их диаметра в диффузионном методе были получены отрицательные результаты в отношении эффективности, что позволяет судить лишь о большей или меньшей активности различных лекарственных форм имбиря (таблица 3). Так, наибольшая активность, как и в суспензионном методе, была отмечена против грамотрицательных бактерий. При этом измельченный свежий имбирь отличался максимальной активностью по сравнению с водным и спиртовым экстрактами. Антисинегнойная активность свежего имбиря была максимальной – при диффузии в агар антисептика средний диаметр зон задержки роста превысил 7,5 мм.

Таблица 3. Результаты оценки антимикробной активности различных лекарственных форм имбиря в диффузионном методе

Антисептик	Опыт	Зона задержки роста, мм			
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>
Измельченный имбирь	I	7	5	7	5
	II	6	5	9	5
	III	6	5	7	5
	Средн.знач.	6,3	5,0	7,7	5,0
Спиртовой экстракт имбиря	I	5	5	5	5
	II	5	5	5	5
	III	6	5	7	5
	Средн.знач.	5,3	5,0	5,7	5,0
Отвар имбиря	I	5	6	6	5
	II	5	6	8	5
	III	7	5	6	5
	Средн.знач.	5,7	5,7	6,7	5,0

Необходимо отметить, что полученные результаты отличаются от данных, описанных в литературе [2, 4], что свидетельствует о необходимости продолжения исследований. Отсутствие антисептической эффективности, предположительно может быть связано с низким качеством используемого сырья (корневище имбиря) либо с необходимостью коррекции методик экстрагирования активных веществ, а также с необходимостью изменения условий постановки опыта (увеличение концентрации активных веществ в исследуемых лекарственных формах и экспозиции антисептика). По данным исследователей, выделение из имбиря обыкновенного таких активных действующих веществ, как 6-шогаол и 6-гингерол по описанным в литературных источниках методикам [3], сможет существенно оптимизировать дальнейшее изучение антимикробных свойств биологически активных веществ в составе имбиря обыкновенного.

Выводы:

1 Проведена оценка антимикробной активности различных лекарственных форм имбиря обыкновенного (*Zingiber officinale*) – 10% спиртового экстракта, водного отвара и свежего корневища имбиря в отношении тест-культур бактерий в

серии экспериментов *in vitro*. В соответствии с принятыми критериями оценки противомикробной активности антисептических средств, ни одна из изученных лекарственных форм имбиря не может быть признанной эффективной в отношении тест-микроорганизмов.

2 Установлено, что имбирь обыкновенный обладает наибольшей активностью против грамотрицательных бактерий.

3 Проведена сравнительная оценка противомикробных свойств различных лекарственных форм имбиря. Установлено, что 10% спиртовая настойка имбиря наиболее активна в отношении *E.coli*, а 20% отвар и свежий имбирь обладают наибольшей антисинегнойной активностью.

D. V. Vaido, A. D. Borovikova

**IN VITRO RESEARCH OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF GINGER
(ZINGIBER OFFICINALE)**

Tutor: Candidate of Medical Sciences I. A. Gavrilova

*Department of microbiology, virology, immunology
Belarusian State Medical University, Minsk*

Литература

1. Методы проверки и оценки антимикробной активности дезинфицирующих и антисептических средств: инструкция по применению / Министерство здравоохранения Респ. Беларусь; В. П. Филонов и др. – Минск, 2003. – 41 с.
2. Activity of solvent extracts of *Prosopis spicigera*, *Zingiber officinale* and *Trachyspermum ammi* against multidrug resistant bacterial and fungal strains. / R. Khan, M. Zakir, SH. Afaq [et al] // *J Infect Dev Ctries.* – 2010. – Vol. 4, № 5. – P. 292–300.
3. Ghasemzadeh, A. Optimization protocol for the extraction of 6-gingerol and 6-shogaol from *Zingiber officinale* var. *rubrum* Theilade and improving antioxidant and anticancer activity using response surface methodology / A. Ghasemzadeh, H. Z. Jaafar, A. Rahmat // *BMC Complement Altern Med.* – 2015. – Vol. 15. – P. 1–10.
4. Giriraju, A. Assessment of antimicrobial potential of 10% ginger extract against *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, and *Enterococcus faecalis*: an *in vitro* study / A. Giriraju, G. Y. Yunus // *Indian J Dent Res.* – 2013
5. In Vitro Effect of *Zingiber officinale* Extract on Growth of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* / A. Azizi, S. Aghayan, S. Zaker et al // *Int J Dent* [Электрон. журн.]. – 2015 (2015). – Режим доступа к журн.: <http://www.hindawi.com/journals/ijd/2015/489842>. (дата обращения: 15.03.2016).