

2) to determine regional specificity of the spread of the disease.

The prevalence of rabies in the animal population of Ukraine during the period of 2005-2013 was investigated.

In 2005-2013, a total of 1 040 cases of rabies were diagnosed in Dnipropetrovsk Region and wild animals were infected more often than domestic animals.

According to the records, in 2008-2013 mostly cats and dogs were infected. It is shown that the peak incidence of rabies accounted for 2005 and 2010, respectively – 162 and 157 cases.

The immunofluorescence method and the mouse inoculation test were used to diagnose the disease. Rabies was diagnosed in 18.18% of domestic and in 18.64% of wild animals. The disease was found to be spread in all regions of Dnipropetrovsk Region. The largest centers of rabies infection were determined to be in the districts of Mahdalynivka, Vasylykivka, Piatykhatky, Tsarychanka, Mezhoва. The highest number of rabies cases 66 was recorded in the Mahdalynivka district. Our results indicate a very uneven distribution of rabies infections and show that during 2005-2013 rabies was registered in the entire territory of Dnipropetrovsk Region.

The spread of rabies in the animal population creates a great danger to the public health. The results are a scientific basis for monitoring viral rabies and can be useful in the development of measures and to prevention the spreading of rabies.

Keywords: rabies, spreading, mouse inoculation test, immunofluorescence.

Рецензент – проф. Лихолат Ю. В.

Стаття надійшла 25.01.2017 року

© Полянська В. П., Саргош О. Д., Полянський О. О.

УДК 579. 61

Полянська В. П., Саргош О. Д., Полянський О. О.

ВИЗНАЧЕННЯ ФУНГІЦИДНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЕФІРНОЇ ОЛІЇ ЕВГЕНОЛУ ДЛЯ КУЛЬТУРИ ГРИБІВ ВИДУ ASPERGILLUS NIGER ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава)

microbiolumsa@gmail.com

Дослідження виконані в межах НДР кафедри гігієни, екології та охорони праці в галузі ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія» м. Полтави «Наукове обґрунтування профілактики негативного впливу окремих чинників довкілля на якість життя і стан здоров'я дітей в умовах геохімічної провінції», № державної реєстрації 0111U008522.

Вступ. Патогенні гриби роду *Aspergillus* широко розповсюджені у природі. Вони колонізують різноманітні еконіші і мешкають у природних регіонах земної кулі на усіх материках. Аспергіли, у широкому розумінні роду можуть бути унікальними патогенами і у той же час є сапробами. Вони є досить стійкі до таких факторів, як УФ-опромінення, високі чи низькі температури [9,13]. Для боротьби із спорами патогенних грибів використовуються токсичні для людини і тварин речовини, що можуть акумулюватися в організмі і забруднювати навколишнє середовище. Застосування таких засобів може сприяти виникненню патологій, які пов'язані з екологічними порушеннями і появою збудників стійких до лікарських хіміопрепаратів. Тому пріоритетним і актуальним залишається пошук нових, ефективних, екологічно безпечних композицій рослинного походження, до яких належать ефірні олії. Речовини рослинного походження не викликають резистентності мікроорганізмів, алергічних, імунотоксичних і мутагенних ефектів навіть у разі тривалого застосування [6,7,9]. Так, В.В. Ніколаєвський всебічно дослідив більшість відомих ефірних олій не лише з точки зору їх бактерицидної дії, а й з боку впливу на макроорганізм. Було виявлено, що найбільш виражена антимікробна активність при-

таманна ефірній олії монарди дудчастої та базилику евгенольного, а також експериментально було доведено відсутність негативного їх впливу на макроорганізм [6]. Встановлено фунгіцидний вплив водного екстракту з надземної частини *Monarda didyma* відносно фітопатогенного гриба *Fusarium oxysporum*. Антигрибкові властивості екстрактів рослин обумовлені передусім кількісним і якісним складом ефірних олій, які синтезують рослини [3]. Евгенол і карвакрол – складові багатьох ефірних олій, виділені як окремі препарати й рекомендовані для лікування орального кандидозу. Необхідні подальші дослідження їх фармакокінетичних і токсикологічних властивостей. Евгенол і карвакрол не викликають отруєння в щурів у терапевтичних дозах [12].

Мета дослідження. Визначення мінімальної пригнічуючої концентрації ефірної олії евгенолу для культури грибів виду *Aspergillus niger*.

Об'єкт і методи дослідження. В якості основної досліджуваної речовини використовували ефірну олію евгенолу (виробник ЗАО «ОЕЗ ВладМиВа», Россия). Виділення та ідентифікацію грибів *Aspergillus niger*, проводили за загальноприйнятими методиками. Визначення чутливості грибів до евгенолу здійснювали диско-дифузійним методом. Кількісне визначення мінімальної пригнічуючої концентрації (МПК) ефірної олії евгенолу для культури грибів досліджували за допомогою метода послідовних макророзведень [5]. Протигрибкову дію ефірних олій краще оцінювати у рідких середовищах, оскільки гідрофобна природа більшості компонентів ефірної олії перешкоджає однорідному

розповсюдженню цих речовин в агарі. Особливо визначали чутливість штамів *A. niger* до спиртового розчину у розведеннях даного дослідження. Суспензію спор культури грибів готували на бульйоні Сабуро, концентрацію колонієутворюючих одиниць в 1 мл суспензії визначали стандартним методом за допомогою камери Горяєва. Конідії обережно збирали бактеріологічною петлею з поверхні колоній (2-3 бактеріологічних петлі на 7-10 мл бульйону) та вносили у бульйон Сабуро, ретельно перемішуючи, аби «розбити» ланцюжки конідій. Перед кожним відбором суспензії для підрахунку спор її ретельно перемішували, оскільки спори швидко осідають на дно пробірки. Підраховували кількість спор мінімум у п'яти великих квадратах камери Горяєва по діагоналі або у кутах сітки та в її середині при збільшенні мікроскопа 15 x 10. Готували два препарати. Підрахунок спор у першому препараті проводили в обох сітках камери, у другому препараті – в одній із сіток. Таким чином, підрахунок проводили у трьох сітках. Вираховували середню кількість спор п. Сітка камери Горяєва складається з 225 великих квадратів, об'єм 1 квадрата дорівнює 0,004 мм³. Якщо в 1 квадраті (в 0,004 мм³) виявлено n колонієутворюючих одиниць, то в 1 мл (в 1000 мм³) їх кількість X дорівнює:

$$X = n \times 1000 : 0,004;$$

$$X = n \times 250000, \text{ отже } X = n \times 2,5 \times 10^6$$

Було досягнуто необхідної для методу серійних розведень концентрації спор *Aspergillus niger* у кількості 2 x 10⁶ КУО/мл, що відповідає оптичному стандарту мутності 0,5 за McFarland [12].

Посіви спор грибів інкубували при температурі 26°C протягом 72 годин [1]. Через 72 годин інкубації з пробірок, у яких немає ознак росту проводили посів на середовище Сабуро у чашки Петрі для визначення фунгіцидного та фунгіостатичного ефекту. Через 72 години інкубації при оптимальній температурі відмічали ту найменшу концентрацію препарату у пробірці, посів з якої не давав росту на щільному агарі Сабуро. Її вважали мінімальною фунгіцидною концентрацією.

Результати дослідження та їх обговорення. При вивченні впливу евгенолу на виділену культуру грибів виду *A. niger* показано здатність препарату пригнічувати її ріст на щільному живильному середовищі. Характер росту культури у порівнянні з контролем неоднорідний, колонії плоскі, утворення конідіальних голівок не спостерігалось у ділянках, безпосередньо прилеглих до межі зони пригнічення росту. Метод

паперових дисків показав, що ефірна олія евгенолу проявила виражені фунгіцидні властивості по відношенню до дослідженої культури *Aspergillus niger*, про що свідчив показник діаметру затримки росту культури (39±0,8 мм). Результати дослідження мінімальної пригнічуючої концентрації ефірної олії евгенолу для грибів виду *Aspergillus niger* представлені в **таблицях 1 і 2**.

Як свідчать результати, відображені у **таблицях 1 і 2**, пригнічення росту грибів виду *A. niger* спостерігалось у живильних середовищах з концентрацією ефірної олії евгенолу у діапазоні 267,4 мг/мл – 16,7 мг/мл після 72 години і мінімальна пригнічуюча концентрація евгенолу для *A. niger* становила 16,7 мг/мл.

Результати дослідження мінімальної фунгіцидної концентрації олії евгенолу для культури грибів виду *Aspergillus niger* представлені в **таблиці 3**.

При аналізі результатів, відображених у **таблиці 3**, встановлено, що мінімальна фунгіцидна

Таблиця 1.

Визначення мінімальної пригнічуючої концентрації ефірної олії евгенолу методом серійних розведень

Досліджувана культура	Концентрація евгенолу							
	контроль	1	2	3	4	5	6	7
<i>Aspergillus niger</i>	-	267,4	133,7	66,8	33,42	16,7	8,35	4,17
Облік через 72 год	ріст	-	-	-	-	-	ріст	ріст

Таблиця 2.

Особливості росту тест-культури при культивуванні з ефірною олією евгенолу в рідкому поживному середовищі

Концентрація ефірної олії (мг/мл)	Тривалість інкубації (години)	
		72
контроль	Помутніння середовища, поверхневий ріст культури бархатистого вигляду, з добре розвиненим пігментованим міцелієм сіро-зеленуватого кольору, наявні конідіальні голівки	
267,4	Ознаки росту відсутні, суспензія без змін	
133,7	Ознаки росту відсутні, суспензія без змін	
66,8	Ознаки росту відсутні, суспензія без змін	
33,42	Ознаки росту відсутні, суспензія без змін	
16,7	Ознаки росту відсутні, суспензія без змін	
8,35	Активний ріст культури, помутніння середовища, поверхневий ріст культури бархатистого вигляду, з добре розвиненим пігментованим міцелієм сіро-зеленуватого кольору, наявні конідіальні голівки	
4,17	Активний ріст культури, помутніння середовища, поверхневий ріст культури бархатистого вигляду, з добре розвиненим пігментованим міцелієм сіро-зеленуватого кольору, наявні конідіальні голівки	

Таблиця 3.

Визначення фунгіцидної концентрації ефірної олії евгенолу

Тривалість інкубації (години)	Концентрація ефірної олії в пробірці, з якої виконано пересів на щільне середовище Сабуро, мг/мл							
	контроль	267,4	133,7	66,8	33,42	16,7	8,35	4,17
72	ріст	-	-	-	-	-	ріст	ріст

концентрація ефірної олії евгенолу через 72 години інкубації становить 16,7 мг/мл. При цьому, фунгістатична дія евгенолу на гриби виду *Aspergillus niger* за даних розведень не спостерігалась.

На думку дослідників [2,11] фунгіцидну активність ефірних олій, можна пояснити залежить від їх здатності розчинятися у жирах, що обумовлює їх проникність через біологічні мембрани. Відомо, що структура евгенолу містить ліпофільні молекули, які здатні проникати між ацільними ланками жирних кислот, тим самим порушуючи текучість і проникність мембран. Це впливає на регуляцію і функцію мембрано-асоційованих ферментів, які каталізують синтез основних полісахаридних компонентів клітинної стінки, у тому числі бета-глікану, хітину, маннану, що призводить до порушення росту клітин і морфогенезу оболонки

Висновки

1. Ефірна олія евгенолу володіє вираженою фунгіцидною активністю щодо культури грибів виду *Aspergillus niger*.

2. Мінімальна пригнічуюча концентрація ефірної олії евгенолу становила 16,7 мг/мл.

3. Мінімальна фунгіцидна концентрація ефірної олії евгенолу становила 16,7 мг/мл.

4. Фунгістатична активність евгенолу щодо культури грибів виду *Aspergillus niger* не встановлена.

5. Ефірна олія евгенолу може бути використана як протигрибковий засіб.

Перспективи подальших досліджень. У перспективі планується продовжити вивчення фунгіцидних властивостей ефірних олій щодо збудників опортуністичних мікозів.

Література

1. Билай В.И. Основы общей микологии: Учеб. пособие для вузов. – 2-е изд., перераб. и доп. / В.И. Билай. – К.: Вища шк.: Главное изд-во, 1980. – 360 с.
2. Брага П.С. Эвгенол и тимол по отдельности и в сочетании вызывают морфологические изменения оболочки *Candida albicans* / П.С. Брага, М. Даль Сассо, М. Альфири // Физиотерапия. – 2007. – Т. 78, № 6. – С. 396-400.
3. Котюк Л.А. Фунгіцидна активність екстрактів ефіроолійних рослин родини Lamifceae Lindl. відносно *Fusarium Oxysporum* / Л.А. Котюк, І.В. Іващенко // Біологічний вісник Мелітопольського державного педагогічного університету ім. Богдана Хмельницького. – Мелітополь, 2013. – Вип. 3 (9), Т. 3. – С. 70-82.
4. Методы экспериментальной микологии. Справочник / Под. общ. ред. В.И. Билая. – К.: Наук. думка, 1982. – 551 с.
5. Наказ МОЗ України за № 167 від 05.04.2007 р. «Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів». – К., 2007. – 52 с.
6. Николаевский В.В. Биологическая активность эфирных масел / В.В. Николаевский, А.Е. Еременко, И.К. Иванов. – М.: Медицина, 1987. – С. 144.
7. Николаевский В.В. Ароматерапия: Справочник / В.В. Николаевский. — М.: Медицина, 2009. – 197 с.
8. Сергеев А.Ю. Грибковые инфекции: Рук. для врачей / А.Ю. Сергеев, Ю.В. Сергеев. – М.: Бином-Пресс, 2003. – 439 с.
9. Солдатенко С.С. Ароматерапия. Профилактика и лечение эфирными маслами / С.С. Солдатенко, Г.Ф. Кащенко, А.В. Пиддаев. – Симферополь: Таврида, 1999. – 206 с.
10. Челпаченко О.Е. Микробиологические аспекты антимикотической фитотерапии (Обзор) / О.Е. Челпаченко, Н.Б. Перунова, Е.В. Иванова, С.В. Андрищенко, Е.И. Данилова, Л.П. Федотова // Проблемы медицинской микологии. – 2014. – Т. 16, №3. – С. 13-18.
11. Aspergillosis: From Diagnosis to Prevention / Edited by Alessandro C. Pasqualotto. – Springer Science+Business Media B.V., 2010. – 1027 p.
12. Chami N. Antifungal treatment with carvacrol and eugenol of oral candidiasis in immunosuppressed rats / N. Chami, F. Chami, S. Bennis, J. Trouillas, A. Remmal // Brazilian Journal of Infectious Diseases. – 2004. – V. 8, № 3. – P. 217-226.
13. Polianska V.P. Medical mycology textbook / V.P. Polianska, N.P. Kovalenko, I.A. Kovalenko. – Poltava: PUET, 2012. – 80 p.

УДК 579. 61

ВИЗНАЧЕННЯ ФУНГІЦИДНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ЕФІРНОЇ ОЛІЇ ЕВГЕНОЛУ ДЛЯ КУЛЬТУРИ ГРИБІВ ВИДУ *ASPERGILLUS NIGER*

Полянська В. П., Саргош О. Д., Полянський О. О.

Резюме. У статті наведені результати експериментального дослідження фунгіцидної активності ефірної олії евгенолу щодо грибів виду *Aspergillus niger*. За результатами дослідження встановлена фунгіцидна дія евгенолу у діапазоні 267,4-16,7 мг/мл, визначена мінімальна фунгіцидна активність евгенолу щодо грибів виду *Aspergillus niger*, яка становила 16,7 мг/мл. Фунгістатична активність евгенолу не була встановлена. Ефірна олія евгенолу може бути використана як дезінфікуючий засіб.

Ключові слова: ефірна олія, евгенол, гриби виду *Aspergillus niger*, мінімальна пригнічуюча концентрація, мінімальна фунгістатична концентрація, мінімальна фунгіцидна концентрація.

УДК 579. 61

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФУНГИЦИДНЫХ СВОЙСТВ ЭФИРНОГО МАСЛА ЭВГЕНОЛА ДЛЯ КУЛЬТУРЫ ГРИБОВ ВИДА *ASPERGILLUS NIGER*

Полянская В. П., Саргош О. Д., Полянский А. А.

Резюме. В статье приведены результаты экспериментального исследования фунгицидной активности эфирного масла по отношению к грибам вида *Aspergillus niger*. По результатам исследования установлено фунгицидное действие эвгенола в диапазоне 267,4-16,7 мг/мл, определена минимальная фунгицидная активность эвгенола по отношению к грибам вида *Aspergillus niger*, которая составляла 16,7

мг/мл. Фунгиостатическая активность эвгенола не была установлена. Эфирное масло эвгенола может быть использовано как дезинфицирующее средство.

Ключевые слова: эфирное масло, эвгенол, грибы вида *Aspergillus niger*, минимальная угнетающая концентрация, минимальная фунгиостатическая концентрация, минимальная фунгицидная концентрация.

UDC 579. 61

SPECIFICATION OF THE FUNGICIDAL PROPERTIES OF EUGENOL ESSENTIAL OIL FOR THE FUNGI CULTURE SPECIES *ASPERGILLUS NIGER*

Polianska V. P., Sarhosh O. D., Polianskyi O. O.

Abstract. Pathogenic fungi of genus *Aspergillus* are widely spread in nature. They colonize various environmental niches and live in natural areas of the globe on all the continents. *Aspergilli*, in the broadest sense of the genus can be unique pathogens but at the same time they are saprobes. They are resistant to such factors as UV irradiation, high or low temperatures. The toxic substances harmful to humans and animals that can be accumulated in the organism and pollute the environment are used to fight with the pathogenic fungi spores. Therefore, the development of new, effective, environmentally safe compositions of plant origin, which include essential oils is the priority and currently important task. Substances of plant origin do not cause microbial resistance, allergic, immunotoxic and mutagenic effects even in long-term use. According to the literature data the use of eugenol (4-allyl-2-methoxyphenol) which belongs to the phenol group is widely applied in medicine and has anti-bacterial, anti-inflammatory, pain-relieving properties.

Therefore, *the aim of our study* was to determine the minimal inhibitory concentration of eugenol essential oil for the culture of fungi species *Aspergillus niger*. While studying the effect of eugenol on the selected culture of fungi species *A. niger* the drug efficiency inhibiting its growth on the dense nutrient medium was presented. The paper disc method determined that the eugenol essential oil represented pronounced antifungal properties against the studied *Aspergillus niger* culture, that was stated by the diameter index of growth inhibition of culture (39 ± 0.8 mm). The growth inhibition of the fungi species *A. niger* was observed in the nutrient medium with concentration of eugenol essential oil in the range of 267.4 mg/ml – 16.7 mg/ml after 72 hours and the minimal inhibitory concentration of eugenol for *A. niger* was 16.7 mg/ml. It was determined that the minimal fungicidal concentration of eugenol essential oil after 72 hours of incubation amounts to 16.7 mg/ml. Thus, the fungistatic eugenol effect on fungi of the species *Aspergillus niger* according to given dilutions was not observed. The fungicidal activity of essential oils depends on their ability to dissolve in fats, which causes their permeability through biological membranes. It is known that the structure of eugenol contains lipophilic molecules that are able to penetrate between acyl links of fatty acids, thereby disrupting fluidity and permeability of membranes. This affects the regulation and functioning of membrane-associated enzymes that catalyze synthesis of the major polysaccharid components of cell wall, including beta-glycan, chitin, mannan, which causes the disruption of cell growth and membrane morphogenesis.

Consequently, the eugenol essential oil can be used as disinfectant.

Keywords: essential oil, eugenol, fungi of species *Aspergillus niger*, minimal overwhelming concentration, minimal fungistatic concentration, minimal fungicidal concentration.

Рецензент – проф. Лобань Г. А.
Стаття надійшла 26.01.2017 року