

Определение бактерицидной активности эфирных масел пихты сибирской, чайного дерева, эвкалипта шаровидного, мяты перечной, кедра атласского и гвоздики

Елена Сергеевна Овчарова, Дмитрий Владимирович Маслов, Алла Филипповна Новикова

Всероссийский научно-исследовательский ветеринарный институт птицеводства (ВНИВИП) – филиал ФГБНУ ФНЦ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт птицеводства» РАН

Аннотация: Была изучена бактерицидная активность эфирных масел чайного дерева (*Melaleuca alternifolia*), эвкалипта шаровидного (*Eucalyptus globulus*), пихты сибирской (*Abies sibirica*), кедра атласского (*Cedrus atlantica*), мяты перечной (*Mentha piperita*) и гвоздики (*Syzygium aromaticum*) в отношении ряда основных возбудителей респираторных болезней птиц (*Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) в опытах *in vitro* методом лунок и методом паров. Было установлено, что все изученные эфирные масла обладают бактерицидной активностью, однако различаются по ее степени и селективности. Масло чайного дерева обладало широким спектром действия и подавляло рост всех тест-микроорганизмов. В то же время, некоторые масла проявляли избирательное действие: так, масло кедра атласского подавляло рост только *P. aeruginosa*, а масло пихты сибирской действовало только на *St. aureus*.

Ключевые слова: респираторные болезни птиц, эфирные масла, тест-культуры микроорганизмов, бактерицидная активность.

Для цитирования: Овчарова, Е.С. Определение бактерицидной активности эфирных масел пихты сибирской, чайного дерева, эвкалипта шаровидного, мяты перечной, кедра атласского и гвоздики / Е.С. Овчарова, Д.В. Маслов, А.Ф. Новикова // Птицеводство. – 2022. – №12. – С. 86-91.

doi: 10.33845/0033-3239-2022-71-12-86-91

Введение. Респираторные болезни птиц наносят большой экономический ущерб промышленному птицеводству. Поражения респираторных органов вызывают возбудители пастереллеза, орнитобактериоза, гемофилеоза, микоплазмоза, сальмонеллеза, колибактериоза, псевдомоноза, стафилококкоза, стрептококкоза и др. [1,8-10]. Высокая концентрация поголовья птицы на ограниченной территории способствует быстрому распространению этих возбудителей. Прямо или косвенно они поражают респираторный тракт, приводя к гибели значительного количества особей. Для лечения и профилактики бактериальных болезней птиц широко применяется антибиотикотерапия. Однако распространение антибиотикорезистентных штаммов микро-

организмов усложняет контроль инфекционных заболеваний бактериальной этиологии в птицеводческих хозяйствах. В связи с этим актуальным и значимым в настоящее время является поиск новых средств и методов борьбы с респираторными болезнями птиц бактериальной этиологии в промышленном птицеводстве.

Перспективным средством для решения этой проблемы могут стать биологически активные вещества растительного происхождения, в частности, эфирные масла [3]. Эфирные масла, как антибиотические средства, известны очень давно. Характерным компонентом эфирных масел являются терпены, в их состав также входят спирты, альдегиды, кетоны, простые и сложные эфиры, кислоты

и другие соединения [4-6]. Они обладают широким спектром антимикробного, антифунгального и антивирусного действия, являются иммуномодуляторами и стимулируют обменные процессы в организме животных [2,7,11,12].

Целью исследований было определение в опытах *in vitro* бактерицидной активности в отношении основных возбудителей респираторных болезней птиц ряда эфирных масел, как потенциальных препаратов для неспецифической профилактики респираторных болезней птиц бактериальной этиологии.

Материал и методика исследований. Для изучения бактерицидной эффективности были отобраны шесть эфирных масел: чайного дерева (*Melaleuca alternifolia*),



Таблица 1. Диаметр зоны задержки роста тест-микроорганизмов вокруг лунок с эфирными маслами, мм (n=3)

№ п/п	Эфирное масло	Исследуемые штаммы микроорганизмов			
		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>
1	Эвкалипт шаровидный	8	8	9	8
2	Пихта сибирская	-	-	-	-
3	Кедр атласский	-	-	-	-
4	Гвоздика	10	11	14	13
5	Мята перечная	-	-	-	-
6	Чайное дерево	15	11	20	21

Примечание: $p \leq 0,05$.

эвкалипта шаровидного (*Eucalyptus globulus*), пихты сибирской (*Abies sibirica*), кедра атласского (*Cedrus atlantica*), мяты перечной (*Mentha piperita*) и гвоздики (*Syzygium aromaticum*). В исследованиях использовали следующие питательные среды: мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА), среду Эндо, желточно-солевой агар, XLD-агар.

В опытах *in vitro* методом лунок установили, обладают ли дан-

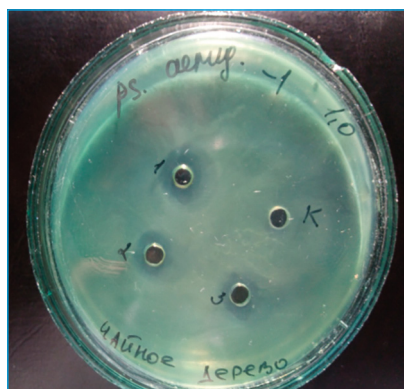


Рис. 1. Зона задержки роста *Pseudomonas aeruginosa* эфирным маслом чайного дерева

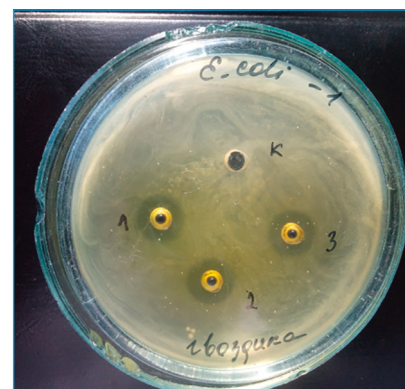


Рис. 2. Зона задержки роста *E. coli* эфирным маслом гвоздики

Таблица 2. Действие паров эфирных масел на рост *Pseudomonas aeruginosa*, n=3

Вид масла	<i>P. aeruginosa</i> , КОЕ/г	
	Опыт	Контроль
Эвкалипт шаровидный	$(2,3 \pm 0,43) \times 10^9$	$(2,2 \pm 0,20) \times 10^9$
Пихта сибирская	$(2,21 \pm 0,33) \times 10^9$	
Кедр атласский	$(1,3 \pm 0,21) \times 10^9$	
Гвоздика	$(2,19 \pm 0,16) \times 10^9$	
Мята перечная	$(1,2 \pm 0,43) \times 10^9$	
Чайное дерево	$(1,0 \pm 0,27) \times 10^9$	

Примечание: $p \leq 0,05$.

Таблица 3. Действие паров эфирных масел на рост *Staphylococcus aureus*, n=3

Вид масла	<i>St. aureus</i> , КОЕ/г	
	Опыт	Контроль
Эвкалипт шаровидный	$(1,2 \pm 0,25) \times 10^8$	$(2,5 \pm 0,20) \times 10^8$
Пихта сибирская	$(1,14 \pm 0,06) \times 10^8$	
Кедр атласский	$(2,49 \pm 0,06) \times 10^8$	
Гвоздика	$(1,4 \pm 0,43) \times 10^8$	
Мята перечная	$(1,3 \pm 0,18) \times 10^8$	
Чайное дерево	$(1,0 \pm 0,36) \times 10^8$	

Примечание: $p \leq 0,05$.

ные виды масел бактерицидной активностью в отношении *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas*

aeruginosa, штаммы которых были взяты из музея рабочих культур отдела микробиологии ВНИВИП. Перед проведением эксперимен-

тов музейные штаммы освежали и подтверждали их культуральные, тинкториальные, морфологические и биохимические свойства. Посев



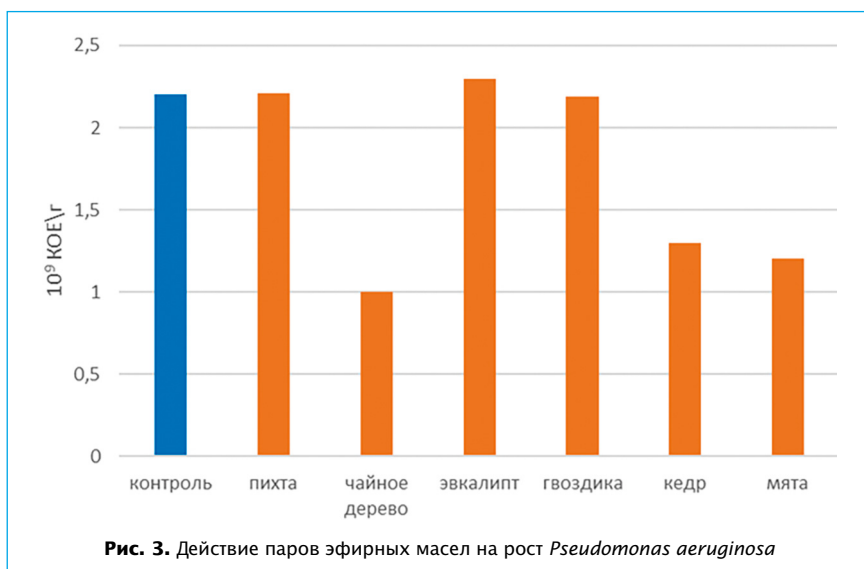


Рис. 3. Действие паров эфирных масел на рост *Pseudomonas aeruginosa*



каждого микроорганизма совершали на 2 чашки Петри в МПА в объеме 1 см³ в концентрациях (КОЕ/см³): *S. enteritidis* – 1,6x10⁸; *St. aureus* – 2,7x10⁸, *E. coli* – 3,2x10⁸, *P. aeruginosa* – 2,2x10⁸. В застывшем агаре вырезали лунки диаметром 5 мм. Для предупреждения подтекания препаратов под агар на дно лунки вносили по 1 капле расплавленного МПА. Эфирные масла в чистом виде вносили

в лунки – один вид масла на чашку с одним видом микроорганизма в три лунки – 1, 2, 3. Контролем (к) на каждой чашке служила лунка, заполненная стерильным физиологическим раствором. Чашки с посевами микроорганизмов инкубировали в термостате 24 ч при температуре 37,0^oC. Зону задержки роста измеряли линейкой. Все эксперименты проводили в двух повторностях.

С целью определения бактерицидной активности паров эфирных масел в отношении изучаемых тест-микроорганизмов на поверхность МПА вносили по 0,2 см³ смыва суточной культуры микроорганизмов в концентрациях (КОЕ/см³): *S. enteritidis* – 1,6x10⁸; *St. aureus* – 2,7x10⁸, *E. coli* – 3,2x10⁸, *P. aeruginosa* – 2,2x10⁸. Посевы подсушивали. На крышку чашки Петри наносили 0,2 мл эфирного масла и распределяли его шпателем по всей поверхности крышки. Чашки дном вверх помещали в термостат при температуре 37,0^oC на 24 ч и затем проводили подсчет выросших колоний. Все опытные серии сопровождалась посевами указанных микроорганизмов без добавления эфирных масел (контроль).

Статистическую обработку материалов исследований проводили методом вариационной статистики с использованием компьютерной программы Microsoft Excel. Различия показателей считали статисти-

Таблица 4. Действие паров эфирных масел на рост *Escherichia coli*, n=3

Вид масла	<i>E. coli</i> , КОЕ/г	
	Опыт	Контроль
Эвкалипт шаровидный	(4,5±0,26)×10 ⁹	(8,6±0,15)×10 ⁹
Пихта сибирская	(8,51±0,38)×10 ⁹	
Кедр атласский	(8,47±0,26)×10 ⁹	
Гвоздика	(2,3±0,37)×10 ⁹	
Мята перечная	(8,55±0,38)×10 ⁹	
Чайное дерево	(1,3±0,40)×10 ⁹	

Примечание: p≤0,05.

Таблица 5. Действие паров эфирных масел на рост *Salmonella enteritidis*, n=3

Вид масла	<i>S. enteritidis</i> , КОЕ/г	
	Опыт	Контроль
Эвкалипт шаровидный	(1,0±0,20)×10 ⁹	(2,6±0,25)×10 ⁹
Пихта сибирская	(2,53±0,17)×10 ⁹	
Кедр атласский	(2,49±0,29)×10 ⁹	
Гвоздика	(1,3±0,18)×10 ⁹	
Мята перечная	(1,25±0,21)×10 ⁹	
Чайное дерево	(1,1±0,34)×10 ⁹	

Примечание: p≤0,05.

стически значимыми при уровне значимости $p \leq 0,05$.

Результаты исследований и их обсуждение. При изучении антимикробной активности масел был использован луночный метод, основанный на диффузии эфирного масла в толщу агаровой среды, содержащей тест-культуру, и подавление роста последней. Полученные результаты представлены в табл. 1 и на рис. 1 и 2.

Зоны задержки роста исследуемых микроорганизмов были зафиксированы у масел чайного дерева, гвоздики и эвкалипта шаровидного. Зона задержки роста микроорганизмов была наиболее выражена у масла чайного дерева и составила 15 мм в отношении возбудителя псевдомоноза, 11 мм – стафилококкоза, 20 мм – колибактериоза и 21 мм – сальмонеллеза. Бактерицидная активность масел пихты сибирской, кедра атласского и мяты перечной в исследовании методом лунок не проявлялась.

Результаты исследований бактерицидной активности паров эфирных масел в отношении изучаемых микроорганизмов представлены в табл. 2-5 и на рис. 3-6. Установлено, что наибольшим бактерицидным действием на *P. aeruginosa* обладали пары масла чайного дерева (табл. 2, рис. 3).

Наиболее выраженным бактерицидным действием в отношении *St. aureus* обладают пары масел чайного дерева, пихты сибирской и эвкалипта (табл. 3, рис. 4). Наибольшей бактерицидной активностью в отношении *E. coli* обладают пары масел чайного дерева, гвоздики и эвкалипта шаровидного; пары масел пихты сибирской, кедра атласского и мяты перечной не угнетали рост данной тест-

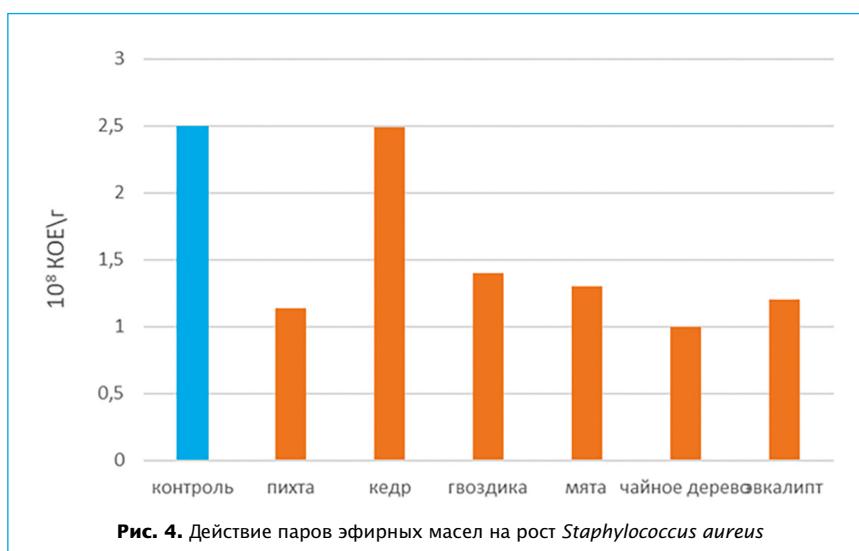


Рис. 4. Действие паров эфирных масел на рост *Staphylococcus aureus*

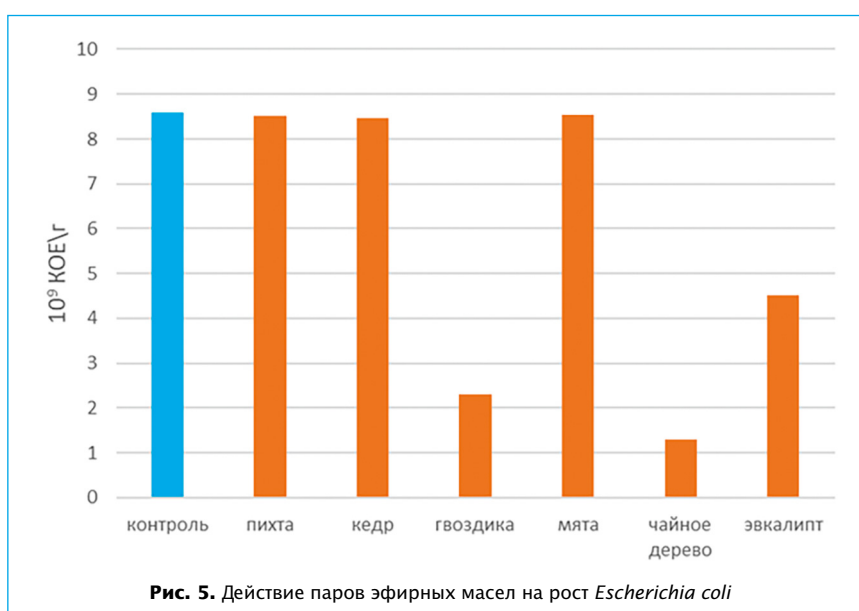


Рис. 5. Действие паров эфирных масел на рост *Escherichia coli*

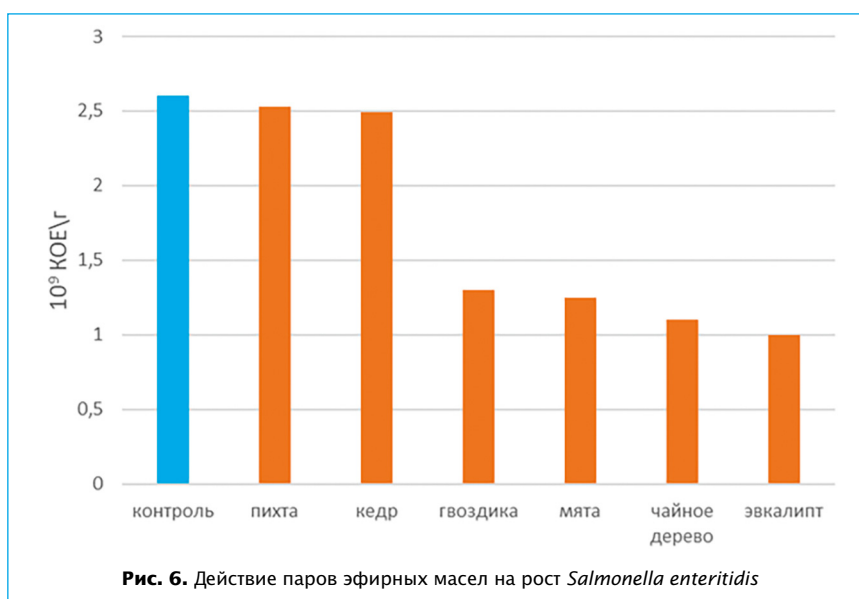


Рис. 6. Действие паров эфирных масел на рост *Salmonella enteritidis*





культуры (табл. 4, рис. 5). Наибольшей бактерицидной активностью в отношении *S. enteritidis* обладали пары масел чайного дерева, эвкалипта, мяты перечной и гвоздики (табл. 5, рис. 6).

Заключение. Установлено, что эфирные масла различались по степени бактерицидной активности. Масло чайного дерева обладало широким спектром действия и подавляло рост *S. enteritidis*, *St.*

aureus, *E. coli* и *P. aeruginosa*. Зона задержки роста в опыте методом лунок составила 15 мм в отношении возбудителя псевдомоноза, 11 мм – стафилококкоза, 20 мм – колибактериоза и 21 мм – сальмонеллеза. Бактерицидная активность масел пихты сибирской, кедра атласского и мяты перечной методом лунок не проявлялась. В то же время, некоторые из этих масел проявляли избирательное бактерицид-

ное действие в опытах с парами. Так, пары масла кедра атласского значительно подавляли рост только *P. aeruginosa*, а пихты сибирской – только *St. aureus*.

В целом установлено, что среди изученных эфирных масел наибольшей антимикробной активностью в отношении изученных микроорганизмов обладают масла чайного дерева, гвоздики и эвкалипта.

Литература

1. Рождественская, Т.Н. Респираторный синдром – открытые ворота для инфекции / Т.Н. Рождественская, С.В. Панкратов, А.В. Рузина, О.Б. Новикова // Птица и птицепродукты. - 2020. - №6. - С. 40-42.
2. Ткаченко, К.Г. Антимикробное действие эфирных масел некоторых видов *Heracleum L.* / К.Г. Ткаченко, Н.Е. Преображенская, И.Ф. Сацыперова // Растительные ресурсы. - 1988. - Т. 24. - №1. - С. 99-104.
3. Ткаченко, К.Г. Санационные свойства эфирных масел некоторых видов растений / К.Г. Ткаченко, Н.В. Казаринова, Л.М. Музыченко, А.М. Шургая, О.В. Павлова, Н.Г. Сафонова // Растительные ресурсы. - 1999. - Т. 35. - №3. - С. 11-24.
4. Вичканова, С.А. Перспективы изучения антимикробной и противовирусной активности эфирных масел / С.А. Вичканова // IV Международный конгресс по эфирным маслам, Тбилиси, сентябрь 1968 г. - Ч. 1. - С. 52-57.
5. Вичканова, С.А. Антимикробная активность эфирных масел *in vitro* / С.А. Вичканова, М.А. Рубинчик // Изучение и использование лекарственных растительных ресурсов СССР. - Баку, 1964. - С. 218-222.
6. Николаевский, В.В. Биологическая активность эфирных масел / В.В. Николаевский, А.Е. Еременко, И.К. Иванов. - М., 1987. - 286 с.
7. Пухов А.А. Эфирные масла с антимикробными и противовирусными свойствами для медицинской практики // Медицинский научно-практический портал LVrach.ru. - URL: <https://www.lvrach.ru/2036/partners/15437708>. - Дата публикации: 12.10.2020.
8. Бессарабов, Б.Ф. Ветеринарно-санитарные мероприятия по профилактике болезней птиц / Б.Ф. Бессарабов. - М. : Россельхозиздат, 1983. - С. 81-95.
9. Лыско, С.Б. Лечение птиц при ассоциативной респираторной инфекции / С.Б. Лыско, М.В. Задорожная, А.А. Гофман, А.П. Красиков // Вет. врач. - 2018. - №3. - С. 19-23.
10. Гофман, А.А. Видовой состав возбудителей инфекционных болезней птиц с патологией респираторного тракта / А.А. Гофман, С.Б. Лыско, О.А. Сунцова, А.П. Красиков // Ветеринария с.-х. животных. - 2016. - №7. - С. 22-25.
11. Вичканова, С.А. Перспективы поиска антимикробных средств среди природных веществ из высших растений / С.А. Вичканова // Состояние и перспективы исследований биологически активных веществ из растений и создание на их основе новых лекарственных препаратов: Сб. науч. тр. ВИЛР. - М., 1983. - С. 107-118.
12. Ткаченко, К.Г. Эфирные масла как средства дезинфекции в ветеринарии / К.Г. Ткаченко, Н.В. Казаринова, Н.А. Шкиль, Н.В. Чупахина // Науч. ведом. БелГУ, сер. Естеств. науки. - 2009. - №11. - С. 65-71.

Сведения об авторах:

Овчарова Е.С.: кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник; vnivip@yandex.ru. **Маслов Д.В.:** кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник. **Новикова А.Ф.:** кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник.

Статья поступила в редакцию 21.10.2022; одобрена после рецензирования 10.11.2022; принята к публикации 15.11.2022.



Research article

The *In Vitro* Determination of Antimicrobial Activity of Essential Oils of *Melaleuca alternifolia*, *Eucalyptus globulus*, *Abies sibirica*, *Cedrus atlantica*, *Mentha piperita*, and *Syzygium aromaticum*

Elena S. Ovcharova, Dmitry V. Maslov, Alla F. Novikova

All-Russian Research Veterinary Institute of Poultry Science – branch of the Federal Scientific Center “All-Russian Research and Technological Institute of Poultry” of Russian Academy of Sciences

Abstract. Antimicrobial activity of essential oils of tea tree (*Melaleuca alternifolia*), blue gum (*Eucalyptus globules*), Siberian fir (*Abies sibirica*), Atlas cedar (*Cedrus atlantica*), peppermint (*Mentha piperita*), and cloves (*Syzygium aromaticum*) against certain causative agents of respiratory diseases in poultry (*Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) was studied *in vitro* using two methods for application to test cultures, instillation into agar well plate and evaporation in Petri dishes. It was found that all studied oils featured certain antimicrobial activity though differed in its intensity and selectivity. Tea tree oil inhibited growth of all tested microorganisms while for certain oils the effect was selective: e.g. cedar oil inhibited only *P. aeruginosa*, fir oil only *St. aureus*.

Keywords: respiratory diseases of poultry, essential oils, test cultures of microorganisms, antimicrobial activity.

For Citation: Ovcharova E.S., Maslov D.V., Novikova A.F. (2022) The *in vitro* determination of antimicrobial activity of essential oils of *Melaleuca alternifolia*, *Eucalyptus globulus*, *Abies sibirica*, *Cedrus atlantica*, *Mentha piperita*, and *Syzygium aromaticum*. *Ptitsevodstvo*, 71(12): 86-91. (in Russ.)

doi: 10.33845/0033-3239-2022-71-12-86-91

References

1. Rozhdestvenskaya TN, Pankratov SV, Ruzina AV, Novikova OB (2020) *Poult. Chicken Prod.*, (6):40-2; doi 10.30975/2073-4999-2020-22-6-40-42 (in Russ.).
2. Tkachenko KG, Preobrazhenskaya NE, Satsyperova IF (1988) Antimicrobial effects of essential oils of certain *Heracleum L.* species. *Plant Resour.*, **24**(1):99-104 (in Russ.).
3. Tkachenko KG, Kazarinova NV, Muzychenko LM, Shurgaya AM, Pavlova OV, Safonova NG (1999) Sanitizing effects of essential oils of certain plant species. *Plant Resour.*, **35**(3):11-24 (in Russ.).
4. Vichkanova SA (1968) The perspectives of research in antimicrobial and antiviral activity of essential oils. Proc. IV Intl. Congr. on Essential Oils, Tbilisi, Sep. 1968, Pt. 1:52-7 (in Russ.).
5. Vichkanova SA, Rubinchik MA (1964) Antimicrobial activity of essential oils *in vitro*. In: Research and Application of Medical Plant Resources of the USSR, Baku:218-22 (in Russ.).
6. Nikolaevsky VV, Eremenko AE, Ivanov IK (1987) Biological Activity of Essential Oils, Moscow, 286 pp. (in Russ.).
7. Pukhov AA (2020) Essential oils with antimicrobial and antiviral effects for medical practice. Web Journal LVrach.ru: <https://www.lvrach.ru/2036/partners/15437708> (in Russ.).
8. Bessarabov BF (1983) Veterinarian and Sanitarian Measures to Prevent Diseases in Poultry. Moscow, RosSelkhozizdat Publ.:81-95 (in Russ.).
9. Lysko SB, Zadorozhnaya MV, Gofman AA, Krasikov AP (2018) Treatment of birds with associative respiratory infection. *Veterinarian*, (3):19-23 (in Russ.).
10. Gofman A, Lysko S, Suntsova O, Krasikov A (2016) Species composition of infectious disease agents of poultry with respiratory tract pathologies. *Vet. Agric. Anim.*, (7):22-5 (in Russ.).
11. Vichkanova SA (1983) The perspectives of search of antimicrobial drugs among natural plant derived substances. *Proc. All-Rus. Inst. Med. Plants*, Moscow:107-18 (in Russ.).
12. Tkachenko KG, Kazarinova NV, Shkil NA, Chupakhina NV (2009) Essential oil as disinfectants in veterinary. *Sci. Rep. Belgorod State Univ., ser. Nat. Sci.*, (11):65-71 (in Russ.).

Authors:

Ovcharova E.S.: Cand. of Vet. Sci., Lead Research Officer; vnivip@yandex.ru. **Maslov D.V.:** Cand. of Vet. Sci., Senior Research Officer. **Novikova A.F.:** Cand. of Vet. Sci., Senior Research Officer.

Submitted 21.10.2022; revised 10.11.2022; accepted 15.11.2022.