БІОЛОГІЯ

УДК 615.322:616.37
DOI https://doi.org/10.32782/2786-7684/2025-2-19

Гоблик Євген Іванович,
аспірант кафедри генетики, фізіології рослин та мікробіології,
ДВНЗ «Ужгородський національний університет»
ORCID ID: 0009-0001-8033-5745
м. Ужгород, Україна

Колесник Олександра Олегівна,
аспірант кафедри клініко-лабораторної
та морфофункціональної діагностики,
ДВНЗ «Ужгородський національний університет»
ORCID ID: 0000-0002-1331-4151
м. Ужгород, Україна

Антимікробні властивості ефірної олії *Achillea millefolium* L. щодо клінічних ізолятів бактерій

Вступ. У зв'язку з поширенням антибіотикорезистентних інфекцій зростає інтерес до рослинних альтернатив, зокрема ефірних олій. *Achillea millefolium* L. виявляє виражену антимікробну активність, що залежить від умов зростання та способу екстрагування. Дослідження підтверджують її ефективність проти низки патогенів, включаючи *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* та *H. pylori*, завдяки вмісту фенолів, флавоноїдів і сесквітерпенів.

Метою роботи було вивчити антимікробні властивості ефірної олії *Achillea millefolium* L. виділеної із рослинної сировини зібраної в Закарпатській області.

Офірну олію одержували з дикорослої рослинної сировини, зібраної поблизу села Ужок в Закарпатській області, із застосуванням гідродистиляції в апараті типу Клевенджера. Хімічний склад ефірної олії аналізували методом газової хроматографії з використанням капілярної колонки DB-WAX. Антимікробну активність ефірної олії досліджували щодо полірезистентних клінічних штамів *Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus haemolyticus, Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumoniae*

Escherichia coli, Citrobacter freundii, Klebsiella pneumoniae, Hafnia alvei, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, ізольованих із ранових поверхонь військовослужбовців.

Результати дослідження засвідчили виражену антимікробну активність ефірної олії *Achillea millefolium L.* щодо широкого спектра збудників інфекційних ускладнень. Визначено, що мінімальна інгібуюча концентрація ефірної олії становить 12,5% для грампозитивних ізолятів і 37,5% – для грамнегативних, що супроводжувалося бактеріостатичним ефектом на рівні 6,7%. Фітохімічний аналіз засвідчив вміст у ефірній олії α- і β-піненів, 1,8-цинеолу, естраголу та камфори, які, ймовірно, обумовлюють біологічну активність зразка.

Ключові слова: екстракти лікарських рослин, антимікробні властивості, фітосептики, антибіотикорезистентність, раневі інфекції.

Hoblyk Yevhen Ivanovych, Postgraduate Student at the Department of Genetics, Plant Physiology and Microbiology, Uzhhorod National University, ORCID ID: 0009-0001-8033-5745**,** Uzhhorod, Ukraine

Kolesnyk Oleksandra Olehivna, Postgraduate Student at the Department of Clinical Laboratory and Morphofunctional Diagnostics, Uzhhorod National University, ORCID ID: 0000-0002-1331-4151, Uzhhorod, Ukraine

Antimicrobial properties of *Achillea millefolium* L. essential oil against clinical bacterial isolates

Introduction. Due to the increasing prevalence of antibiotic-resistant infections, interest in plant-based alternatives – particularly essential oils – has grown substantially. *Achillea millefolium* L. exhibits pronounced antimicrobial activity, which varies depending on growing conditions and extraction methods. Studies have confirmed its efficacy against a range of pathogens, including *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, and *Helicobacter pylori*, owing to its content of phenolics, flavonoids, and sesquiterpenes.

The aim of this study was to investigate the antimicrobial properties of essential oil extracted from *Achillea millefolium* L. collected in the Zakarpattia region of Ukraine. The essential oil was obtained from wild plant material harvested near the village of Uzhok, Zakarpattia region, using hydrodistillation with a Clevenger-type apparatus. The chemical composition of the essential oil was analyzed by gas chromatography using a DB-WAX capillary column. The antimicrobial activity of the oil was tested against multidrug-resistant clinical strains of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Citrobacter freundii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Hafnia alvei*, *Enterococcus faecalis*, and *Enterococcus faecium*, all isolated from wound surfaces of military personnel.

The results demonstrated significant antimicrobial activity of *Achillea millefolium* L. essential oil against a broad spectrum of pathogens responsible for infectious complications. The minimum inhibitory concentration (MIC) was determined to be 12.5% for Gram-positive isolates and 37.5% for Gram-negative isolates, corresponding to a bacteriostatic effect of 6.7%. Phytochemical analysis revealed the presence of α- and β-pinene, 1,8-cineole, estragole, and camphor, which are likely contributors to the sample's biological activity.

Key words: medicinal plant extracts, antimicrobial properties, phytoseptics, antibiotic resistance, wound infections.

Вступ. Незважаючи на значні досягнення науки в області впровадження нових антибіотиків, широко розповсюдженими на сьогодні є інфекційні захворювання, які викликані антибіотикорезистентними мікроорганізмами. Відсутність ефективності, при застосуванні антибіотиків, обумовлена стрімкими темпами формування антибіотикостійкості, їх нераціональним використанням у різних галузях народного господарства. Звичайно, антибіотичні препарати залишаються основними засобами при лікуванні інфекційних захворювань, водночас актуальним є питання пошуку нових альтернативних засобів, які б мали високу бактерицидну або бактеріостатичну активність. Надзвичайно перспективними в даному аспекті є речовини рослинного походження, в тому числі ефірні олії. Біологічна активність ефірних олій різних видів має багато спільного, водночас, навіть в межах одного виду рослин, склад ефірних олій в залежності від місця зростання, кліматичних та географічних умов, хемотипу рослини може сильно варіювати, а відповідно, до складу змінюється і біологічна активність.

Деревій звичайний (*Achillea millefolium* L.) – один із найвідоміших і найпоширеніших видів рослин, який понад 3000 років входить до числа найбільш використовуваних видів рослин як у народній, так і в традиційній медицині [1, с. 136–143], головним чином для лікування ран, проблем із травленням, респіраторних інфекцій та захворювань шкіри, а також, серед іншого, для лікування захворювань печінки та як легкий заспокійливий засіб [2, с. 34].

Дослідженнями встановлено, антимікробні властивості *Achillea millefolium* L., у наукових публікаціях повідомляється про різний ступінь антимікробних вастивостей в залежності від географічної локалізації збору рослинної сировини, а також отримання біологічно активних сполук (екстрагування, дистилюванння).

У різних дослідженнях встановлнено антимікробні ефекти екстрактів та ефірної олії *Achillea millefolium* L. Зокрема у роботі [3, с. 3878–3883.] встановлено, що фармакологічні ефекти *Achillea millefolium* L. зумовлені наявністю кількох хімічних компонентів, ефірних олій, сесквітерпенів, фенольних сполук тощо, було висловлено припущення, що наявність різних вторинних метаболітів, таких як феноли та флавоноїди, відповідає за антибактеріальну активність деревію. У іншій публікації [4, с. 185–190.] було виявлено, що різні екстракти надземних частин *A. millefolium* активні щодо *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Aspergillus niger* та *Candida albicans*. Метанольний екстракт також активний щоодо *Helicobacter pylori* при мінімальній інгібуючій концентрації (МІК) 50 мкг/мл [2, с. 34].

Метою роботи було вивчити антимікробні властивості ефірної олії *Achillea millefolium* L. виділеної із рослинної сировини зібраної в Закарпатській області.

Методологія та методи дослідження.

Одержання ефірної олії

Рослинна сировина була зібрана (рис. 1) поблизу села Ужок Закарпатської області у 2023 вегетаційному році.

Рис. 1. *Achillea millefolium* L.

Ефірні олії, використані у дослідженні, були виготовлені на підприємстві *Calendula,* Nova Lubovna (Словаччина) на замовлення ДВНЗ «Ужгородський національний університет». Дистиляцію ефірної олії здійснювали шляхом гідродистиляції в апараті типу Клевенджера з використанням суміші гексану для збору розчинника [Державна Фармакопея України: в 3 т. / ДП "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів". 2-ге вид., Х.: ДП "Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів", 2015; 1: 1130.5]. Ефірна олія зберігалася під N_2 при + 4° у темному місці. Визначення якісного складу ефірних олій проводили методом газової хроматографії з використанням газового хроматографа Carlo Erba Vega на капілярній колонці DB-WAX, 30 м. Компоненти ефірної олії були ідентифіковані за часом їхнього утримання. Стандарти для порівняння ефірних олій використані Extrasynthese Ltd. і Sigma-Aldrich. Відсоток одиноких хроматографічних піків вимірювали за відношенням площі поодиноких піків до їхньої загальної площі. Результати дослідження представлені у відсотках.

Дослідження антимікробних властивостей ефірної олії методом визначення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК)

Ефірну олію попередньо розчиняли у диметилсульфоксиді у співвідношенні 1:9. Для дослідження застосовували 96-лункові полістиролові планшети. У відповідні лунки вносили м'ясо-пептонний бульйон (МПБ) та розчин ефірної олії в шести різних об'ємних співвідношеннях: 140 мкл/10 мкл, 131 мкл/19 мкл, 112 мкл/38 мкл, 94 мкл/56 мкл, 75 мкл/75 мкл та 38 мкл/112 мкл. Як контроль використовували 150 мкл бульйону без додавання ефірної олії.

Було здійснено скринінг клінічної чутливості та сформовано базу даних типових колекцій мікроорганізмів, ізольованих із ранових поверхонь військовослужбовців, які перебували на лікуванні в Ужгородській міській клінічній лікарні. У тестуванні використовували клінічні ізоляти з вираженою полірезистентністю до антибіотиків, зокрема: *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*.

До кожної лунки планшета додавали по 10 мкл суспензії мікроорганізмів, стандартизованої до 0,5 за шкалою МакФарланда. Інкубацію проводили при температурі 37°С: протягом 24 годин. Після завершення інкубації проводили висів на м'ясо-пептонний агар у кількості 10 мкл. Оцінку росту мікроорганізмів здійснювали через 24 години після інкубації [5].

Виклад основного матеріалу дослідження. Результати дослідження продемонстрували виражену антимікробну активність ефірної олії щодо всіх протестованих бактеріальних ізолятів. Найвищу чутливість до дії олії виявив *Staphylococcus aureus*, для якого повне пригнічення росту спостерігалося вже при концентрації 12,5% (рис.2). Для *Escherichia coli* повна відсутність колонієутворення фіксувалася при концентрації 37,5% і вище, тоді як мінімальні прояви росту ще зберігались на рівні 12,5% та 25% (рис 3.).

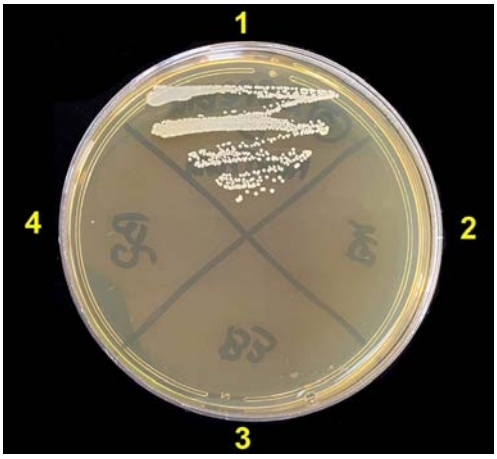

Рис. 2. Дослідження антимікробних властивостей ефірної олії *Achillea millefolium* L. методом визначення МІК щодо *St. aureus*. 1 – контроль, 2 – 37,5%; 3 – 25%; 4 – 12,5%

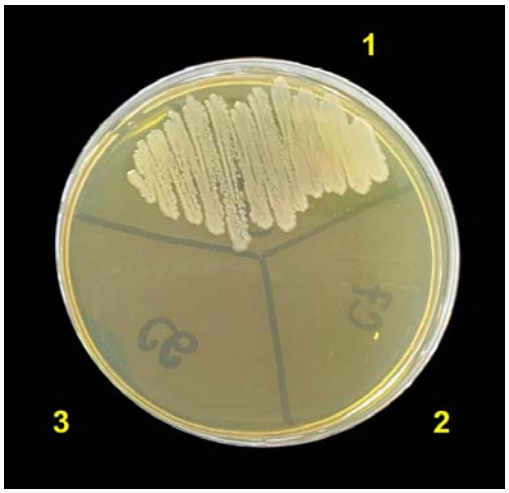

Рис. 3. Дослідження антимікробних властивостей ефірної олії *Achillea millefolium* L. методом визначення МІК щодо *Escherichia coli* – 1 – контроль, 2 – 75%; 3 – 50%

Ізолят *Enterococcus faecalis* також виявив високу чутливість – повне пригнічення відбувалося при концентрації 37,5%, тоді як при 25% ріст був мінімальним (усього 7 КУО/мл) (рис 4.).

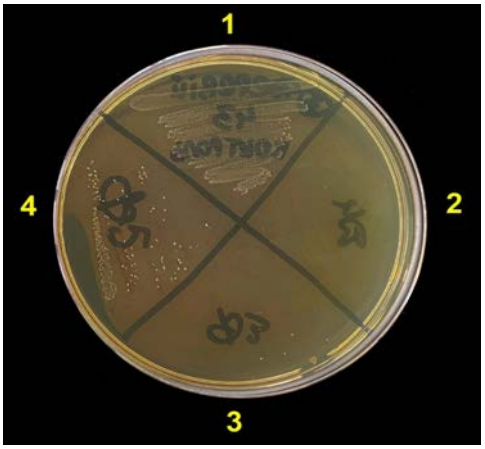

Рис. 4. Дослідження антимікробних властивостей ефірної олії *Achillea millefolium* L. методом визначення МІК щодо *Enterococcus faecalis* 1 – контроль; 2 – 37,5%; 3 – 25%; 4 – 12,5%

Дослідження показали антибактеріальний ефект ефірної олії *Achillea millefolium* L. щодо всіх ізолятів відібраних в експеримент.

Найвищу антимікробну активність ефірної олії виявлено щодо грампозитивних бактерій, зокрема роду *Staphylococcus, Streptococcus, Enterococcus.* Мінімальна інгібуюча концентрація становила 12,5 %, значний бактеріостатичний ефект спостерігали за дії 6,7% ефірної олії.

Мінімальна інгібуюча концентрація ЕО щодо бактерій роду *Enterobacteralis*, була вищою і становила 37,5%, бактеріостатичний ефект спостерігали за дії 12,5% та 6,7% ЕО.

Встановлення основних показників фітохімічного складу показало високий вміст в ефірній олії α-піненів, β-піненів, 1,8-цинеолу, естраголу та камфори (табл. 2).

Таким чином, ефірна олія продемонструвала високу антибактеріальну дію щодо грампозитивних і грамнегативних бактерій при концентраціях від 6,7% до 37,5% залежно від виду мікроорганізму.

Обговорення. У наших попередніх дослідженнях встановлено антимікробні властивості екстрактів *Achillea millefolium* L. щодо клінічних ізолятів мікроорганізмів, водночас дія ефірної олії була значно вищою [6, 7].

Про антимікробні властивості екстрактів та ефірних олій *Achillea millefolium* L. свідчать публікації інших вчених. Так у роботі Grigore A та співавт. проведено скринінг антимікробного потенціалу водно-спиртового екстракту деревію, що містить 0,24% г/г флавоноїдів, 0,0625% г/г поліфенолкарбонових кислот, 0,5% тритерпенових сапонінів (визначено спектрофотометрично) [2, с. 57].

Екстракт Achillea millefolium продемонстрував слабку антимікробну активність проти *Yersinia enterocolitica* та *Streptococcus salivarius* (середня зона інгібування 10–11 мм) та сильну активність проти *Staphylococcus aureus* (середня зона інгібування 21 мм). Протигрибкового ефекту не виявлено. Подібні результати були отримані раніше; етанольний екс-

Таблиця 1

Антибактеріальні властивості ефірної олії *Achillea millefolium* L. щодо клінічних ізолятів, (n=10 кожного виду бактерій)

№	Мікроорганізм	Бульйон (контроль) КУО/мл	Бульйон + розчин ефірної олії					
			6,7%	12,5%	25%	37,5%	50%	75%
1	*Staphylococcus aureus*	4,7±0,5* 10^8	3,6±0,3* 10^2	0	0	0	0	0
2	*Staphylococcus epidermidis*	4,8±0,3* 10^8	0	0	0	0	0	0
3	*Staphylococcus haemolyticus*	4,8±0,4* 10^8	1,2±0,2* 10^2	0	0	0	0	0
4	*Streptococcus pyogenes*	4,7±0,6* 10^8	2,4±0,3* 10^2	0	0	0	0	0
5	*Streptococcus pneumoniae*	4,8±0,5* 10^8	6,2±0,3* 10^4	0	0	0	0	0
6	*Escherichia coli*	5,1±0,2* 10^8	5,7±0,4* 10^3	1,1±0,5*10^2	2,2±0,7*10	0	0	0
7	*Citrobacter freundii*	4,9±0,4* 10^8	6,5±0,5* 10^3	2,1±0,3*10^2	4,1±0,6*10	0	0	0
8	*Klebsiella pneumoniae*	5,1±0,4* 10^8	7,2±0,4* 10^3	4,6±0,6*10^2	2,8±0,8*10	0	0	0
9	*Hafnia alvei*	5,0±0,5* 10^8	8,1±0,4* 10^3	5,3±0,3*10^2	5,2±0,7*10	0	0	0
10	*Enterococcus faecalis*	4,9±0,4* 10^8	3,3±0,4* 10^3	5,7±0,5*10^2	7,0±0,2	0	0	0
11	*Enterococcus faecium*	5,0±0,3* 10^8	5,1±0,3* 10^3	6,2±0,3*10^2	0	0	0	0

Таблиця 2

Основні фітохімічні показники складу ефірної оілї *Achillea millefolium* L.

Результати GC аналізу	%
α-пінени	3,5±0,2
камфени	0,6±0,05
β-пінени	13,0±0,5
1,8-цинеол	7,6±0,5
ментол	1,3±0,05
естрагол	1,7±0,2
камфора	2,3±0,3
Ліналіл ацетат	-

тракт надземної частини *A. millefolium* був досліджений на антимікробну активність проти *E. coli*, *B. cereus*, *P. aeruginosa*, *S. enteritidis* та *C. albicans*, і було виявлено, що найвище значення МІК 62,50 мг/мл спостерігалося проти *B. cereus* та *S. enteritidis*, тоді як у трьох інших протестованих штамах активності не спостерігалося.

З іншого боку, Fierascu та співавт. показали різні результати щодо протигрибкового ефекту. Вони виявили, що гідроспиртовий екстракт *Achillea millefolium* L. сильно впливав на ріст деяких грибів (70,19% для *Aspergillus niger* та 47,40% для *Penicillium hirsutum* порівняно з негативним контролем) [8, с. 10626–10636].

Значна антимікробна активність ЕО встановлена проти *Bacillus subtilis*, *Proteus mirabilis* та *Candida albicans*. Ефективність ЕО також оцінювали в модельних харчових системах (капуста та ячмінь), штучно інокульованих під час зберігання. Результати показали, що додавання мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) та 4×МІК проявлялось у зменшенні росту *Proteus mirabilis* у модельних харчових системах. Результати досліджень свідчать про те, що ЕО може потенційно використовуватися як альтернативний харчовий консервант [9, с. 668].

У іншій роботі встановлено антимікробну активність ефірної олії Achillea tenuifolia Lam. Встановлено, що склад ефірних олій змінюється залежно від фенологічних стадій та географічних регіонів. Ефірна олія продемонструвала значні антибактеріальні властивості проти грампозитивних та грамнегативних бактерій, що було визначено дисковим методом, методом мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) та мінімальної бактерицидної концентрації (МБК). За винятком *Pseudomonas aeruginosa*, ефірні олії різних фенологічних стадій показали вищу антибактеріальну активність проти тестованих бактерій. Більше того, хоча антибактеріальні характеристики ефірної олії на вегетативній стадії та стадії цвітіння були подібними (p = 0,91), вони суттєво відрізнялися від характеристик стадії плодоношення (p < 0,005 як у тестах МІК, так і в тестах МБК). Це підкреслює важливість стадії розвитку рослини для біологічних властивостей її ефірної олії та виправдовує широке застосування цієї рослини на вегетативній стадії [10, с. 1900289].

Висновки з дослідження. Таким чином, встановлено, що ефірна олія *Achillea millefolium* L., з рослинної сировини, зібраної поблизу села Ужок Закарпатської області проявляла високий антимікробний ефект щодо клінічних ізолятів грампозитивних та грамнегативних бактерій. Мінімальна інгібуюча концентрація варіювала від 6,7% щодо бактерій роду *Staphylococcus* щодо до 37,5 % щодо бактерій роду Klebsiella. Біохімічний аналіз ефірної олій вказує на високий міст α-піненів, β-піненів, 1,8-цинеолу, естраголу та камфори.

REFERENCES

1. Radusiene J, Gudaityte O. Distribution of proazulenes in *Achillea millefolium*'s wild populations in relation to phytosociological dependence and morphological characters. Plant Genet Resour. 2005;3:136–143. https://doi.org/10.1079/PGR200568

2. Grigore A, Colceru-Mihul S, Bazdoaca C, Yuksel R, Ionita C, Glava L. Antimicrobial Activity of an *Achillea millefolium* L. *Proceedings*. 2020;57:34. https://doi.org/10.3390/proceedings2020057034

3. Faiku F, Haziri A, Mehmeti I, Mehmeti A, Hoti G. In vitro antibacterial activity of different solvent extracts of *Achillea millefolium* (L.) growing wild in Kosovo. Fresenius Environ Bull. 2018;27:3878–3883.

4. Stojanovic G, Radulovic N, Hashimoto T, Palic R. In vitro antimicrobial activity of extracts of four *Achillea* species: The composition of *Achillea clavennae* L. (Asteraceae) extract. J Ethnopharmacol. 2005;101:185–190. https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.026

5. Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. J Pharm Anal. 2016;6(2):71–79. https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005

6. Kryvtsova M, Koščová J. Antibiofilm-forming and antimicrobial activity of extracts of *Arnica montana* L., *Achillea millefolium* L. on *Staphylococcus* genus bacteria. Biotechnol Acta. 2020;13(1):30–37

7. Kryvtsova M, Hoblyk Ye, Kolesnyk A, Salamon I, Mihlias V, Zaiachuk I. Osoblyvosti farmatsevtychnoi syrovyny likarskykh roslyn: fitokhimichni ta antymikrobni vlastyvosti ekstraktiv *Achillea millefolium* L. Intermed J. 2024;(2):98–103. https://doi.org/10.32782/2786-7684/2024-2-17

8. Fierascu I, Ungureanu C, Avramescu S, Fierascu R, Ortan A, Soare L, Paunescu A. In vitro antioxidant and antifungal properties of *Achillea millefolium* L. Rom Biotechnol Lett. 2015;20:10626–10636.

9. Benali T, Habbadi K, Khabbach A, Marmouzi I, Zengin G, Bouyahya A, et al. GC–MS analysis, antioxidant and antimicrobial activities of *Achillea odorata* subsp. *pectinata* and *Ruta montana* essential oils and their potential use as food preservatives. Foods. 2020;9:668. https://doi.org/10.3390/foods9050668

10. Aminkhani A, Sharifi R, Dorosti R. Chemical composition and antimicrobial activity of *Achillea tenuifolia* Lam. essential oil at different phenological stages from Khoy. Chem Biodivers. 2019;16(12):e1900289. https://doi.org/10.1002/cbdv.201900289