

## Вплив екстракту горіха волоського вуглекислотного на адгезивну активність збудників ранової інфекції

I. В. Можаяєв <sup>1,A,B,C</sup>, В. Ю. Євсюкова <sup>1,B-D</sup>, І. І. Торяник <sup>1,C</sup>, В. В. Мінухін <sup>1,E</sup>,  
Н. М. Поліщук <sup>2,D,E</sup>, Д. Л. Кирик <sup>3,F</sup>

<sup>1</sup>Інститут мікробіології і імунології імені І. І. Мечникова НАМН України, м. Харків, <sup>2</sup>Запорізький державний медичний університет, Україна, <sup>3</sup>Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика, м. Київ

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті;  
F – остаточне затвердження статті

**Ключові слова:**  
екстракт  
рослинний, горіх  
волоський, адгезія,  
збудники гнійно-  
запальних інфекцій.

Запорізький  
медичний журнал.  
2023. Т. 25, № 2(137).  
С. 158-163

\*E-mail:  
victoria.yevsyukova@  
gmail.com

**Мета роботи** – вивчення впливу 3 % екстракту горіха волоського вуглекислотного (ЕГВВ) на адгезивні властивості грам-позитивних і грамнегативних мікроорганізмів.

**Матеріали та методи.** Об'єкт дослідження – 3 % ЕГВВ, музейні штами колекції ATCC і клінічні культури мікроорганізмів: *A. baumannii*, *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*. Як субстрат адгезії використали нативні формалінізовані еритроцити людини 0(I) групи крові Rh «+». З кожного зразка готували препарат-мазок, який забарвлювали за методом Романовського-Гімзи. За результатами мікроскопії мазків розраховували індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ).

**Результати.** Попереднє вивчення здатності до адгезії музейних і клінічних штамів мікроорганізмів показало: всі культури мали високоадгезивні властивості. Додавання 3 % ЕГВВ значно пригнічувало їхні адгезивні властивості. Так, у дослідженнях з музейними штамми виявили, що ІАМ *S. aureus* знизився на 59,47 %, *K. pneumoniae* – на 59,17 %, *E. coli* – на 56,32 %, *P. aeruginosa* – на 48,70 %, *A. baumannii* – на 49,77 %, *C. albicans* – на 51,59 %. В експериментах визначили зниження ІАМ усіх клінічних штамів мікроорганізмів: *S. aureus* – на 55,00 %, *K. pneumoniae* – на 53,50 %, *E. coli* – на 53,54 %, *P. aeruginosa* – на 49,04 %, *A. baumannii* – на 50,42 %, *C. albicans* – на 53,13 %.

**Висновки.** Результати вивчення адгезивної активності 3 % ЕГВВ дають підстави зробити висновок про високу здатність інгібувати адгезивну активність музейних і клінічних штамів, збудників гнійно-запальних інфекцій (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *C. albicans*), запобігає формуванню бактеріальної біоплівки. Ці властивості свідчать про перспективність наступного вивчення біологічних властивостей ЕГВВ і створення на його основі нового протимікробного препарату для лікування гнійно-запальної інфекції.

**Key words:**  
walnut, plant  
extracts adhesion,  
causative agents  
of purulent-  
inflammatory  
infections.

Zaporozhye  
medical journal  
2023; 25 (2), 158-163

### Effect of walnut extract supplemented with carbon dioxide on adhesive activity of agents causing wound infection

I. V. Mozhaiev, V. Yu. Yevsyukova, I. I. Torianyk, V. V. Minukhin, N. M. Polishchuk, D. L. Kyryk

**The aim:** to study the effect of 3 % carbon dioxide walnut extract (CDWE) on the adhesive properties of gram-positive and gram-negative microorganisms.

**Materials and methods.** The objects of the study – 3 % CDWE, museum strains of the ATCC collection and clinical cultures of microorganisms: *A. baumannii*, *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *C. albicans*. Native and formalized human erythrocytes of 0(I) Rh-positive blood group were used as a substrate for adhesion. A smear was prepared from each sample, which was stained by the Romanovsky-Giemsa method. According to the results of smear microscopy, the adhesion index of microorganisms (AIM) was calculated.

**Results.** A preliminary study of the adhesion ability of museum and clinical strains of microorganisms revealed that all cultures possessed highly adhesive properties. The addition of 3 % CDWE significantly inhibited their adhesive properties. Thus, in studies with museum strains, it was found that the AIM of *S. aureus* was decreased by 59.47 %, *K. pneumoniae* – by 59.17 %, *E. coli* – by 56.32 %, *P. aeruginosa* – by 48.70 %, *A. baumannii* – by 49.77 %, *C. albicans* – by 51.59 %. In the experiments, a decrease in AIM of all clinical strains of microorganisms was detected: *S. aureus* – by 55.00 %, *K. pneumoniae* – by 53.50 %, *E. coli* – by 53.54 %, *P. aeruginosa* – by 49.04 %, *A. baumannii* – by 50.42 %, *C. albicans* – by 53.13 %.

**Conclusions.** The results gained from the study of the 3 % CDWE effect on the adhesive activity collectively suggest its high ability to inhibit the adhesive activity of museum and clinical strains of purulent-inflammatory infections (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *C. albicans*) and prevent the formation of a bacterial biofilm. These properties indicate potential benefits from further study on the biological properties of CDWE and the development of new antimicrobial drugs based on it for the treatment of purulent-inflammatory infections.

Актуальним і перспективним напрямом сучасної мікробіології є вивчення адгезії мікроорганізмів – складного багатокомпонентного процесу, що забезпечує колонізацію мікроорганізмами будь-яких щільних субстратів, включаючи тканини тіла та поверхні різноманітних девайсів, імплантованих в організм людини. Зважаючи на

вплив на здоров'я пацієнта, адгезія – негативне явище, що є «пусковим механізмом» виникнення інфекційного процесу [1–3].

Складний багатофакторний процес прикріплення бактерій до епітеліоцитів передбачає неспецифічні фізико-хімічні зв'язки та взаємодії між комплементарними

молекулами на клітинних поверхнях. Комплементарні взаємодії, на відміну від фізико-хімічних, утворюють міцніші зв'язки та забезпечують необхідне зв'язування мікроорганізмів з епітеліоцитами. Ефективна адгезія, особливо умовнопатогенних бактерій, є першим кроком успішної колонізації та утворення багаточарових біоплівки із щільним матриксом, який є непроникним для терапевтичних концентрацій антибіотиків та антисептичних речовин [4]. У результаті цих процесів забезпечується тривале збереження клітинної популяції в біоплівці та виникнення резистентності збудників інфекційних процесів до різноманітних протимікробних засобів.

Нині чимало уваги приділяють вивченню процесів адгезії збудників ранової інфекції. З-поміж них домінують такі умовнопатогенні мікроорганізми, як *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*. Ці мікроорганізми можуть швидко набувати антибіотикорезистентності та спричиняти спалахи внутрішньолікарняної інфекції. Саме це зумовило внесення Всесвітньою організацією охорони здоров'я названих збудників до списку пріоритетних щодо розроблення та створення нових антибактеріальних препаратів [5]. Разом із тим, привертає увагу збільшення кількості випадків розвитку ранової інфекції, що зумовлена грибами роду *Candida*. Це пов'язано з широким і нераціональним використанням антибактеріальних, кортикостероїдних, цитостатичних препаратів, а також відсутністю концепції одночасного призначення антибіотиків і протигрибкових препаратів із профілактичною метою [3].

Тому актуальним є пошук нових речовин, передусім рослинного походження, що мали б низку переваг перед синтетичними засобами та впливали на адгезивні властивості мікроорганізмів і процеси адгезії загалом.

Останніми роками увагу дослідників привертає горіх волоський – *Juglans regia* L. (ГВ) (родина горіхові *Juglandaceae*), який здавна широко використовують у народній медицині [6]. Так, група вчених з Іспанії та Португалії довела антиоксидантні й антимікробні властивості екстракту зеленого лушпиння волоського горіха [7]. Вчені з Ірану показали високу антибактеріальну ефективність спиртового екстракту листя ГВ щодо клінічних штамів *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, що виділені з інфікованих опікових ран [8]. У роботах багатьох науковців описана протизапальна, нейропротекторна, антиоксидантна й антипроліферативна дія екстрактів різних тканин волоського горіха (ядро, шкаралупа, лушпиння, кора, корінь, листя та перетинка) [9–15]. Так, наприклад, зелене лушпиння та листя, що традиційно застосовували в іранській народній медицині для лікування інфекційних хвороб, – багате джерело фенольних сполук, як-от флавоноїдів, фенольних кислот і нафтохінонів, що можуть поглинати вільні радикали [16].

Зазначимо, що фітохімічний профіль екстракту ГВ може змінюватися залежно від географічної зони, де виростає ця рослина, тобто хімічний склад *J. regia* чітко пов'язаний із сортом і кліматичною зоною [17]. Крім того, відомої нині інформації недостатньо для розуміння про-

цесів впливу екстракту горіха волоського, вирощеного на території України, на біологічні властивості мікроорганізмів, зокрема на адгезивні властивості бактерій.

## Мета роботи

Вивчення впливу 3 % екстракту горіха волоського вуглекислотного на адгезивні властивості грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів.

## Матеріали і методи дослідження

Об'єкти дослідження – культури мікроорганізмів і комерційний препарат «СК-CO2 екстракт горіха волоського, *Juglans regia* Extract» (BERRE, Україна), виготовлений із сировини, що вирощена на території України, й отриманий методом надкритичної екстракції вуглекислим газом (CO<sub>2</sub>). Препарат являв собою маслянисту масу коричневого кольору та, за даними виробника, як основну діючу речовину містив юглон. Як препарат порівняння обрали мірамистин – антисептик, ефективний щодо низки патогенних мікроорганізмів: бактерій, вірусів, грибової флори, найпростіших. Широкий спектр протимікробної дії, низька токсичність, відсутність подразнювальної дії (на шкіру та слизові оболонки) сприяють успішному застосуванню мірамистину для профілактики та лікування інфекцій [18].

Для досліджень використали 3 % екстракт горіха волоського та музейні тест-штами типових культур Інституту мікробіології і імунології імені І. І. Мечникова: *Acinetobacter baumannii* ATCC 19606, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* K-7 NCTC 9127, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Candida albicans* ATCC 885-653. Крім того, використали клінічні штами мікроорганізмів, що виділені з гнійного ексудату ран від хворих із різними гнійно-запальними станами під час перебування в хірургічних стаціонарах. Клінічні ізоляти характеризувалися резистентністю до певних груп протимікробних препаратів. Так, *S. aureus* стійкий до бензилпеніциліну, цефокситину, ципрофлоксацину, левофлоксацину, амікацину, гентаміцину; *E. coli* – до ампіциліну, ампіцилін-клавуланової кислоти, цефтріаксону, цефотаксиму, цефтазидиму, цефепіму, ертапенему, норфлоксацину, амікацину, гентаміцину; *K. pneumoniae* – до ампіциліну, ампіцилін-клавуланової кислоти, цефтріаксону, цефотаксиму, цефтазидиму, цефепіму, меропенему, ципрофлоксацину, амікацину, гентаміцину, тигецикліну; *P. aeruginosa* – до цефтазидиму, цефепіму, меропенему, іміпенему, ципрофлоксацину, тобраміцину; *A. baumannii* – до меропенему, іміпенему, ципрофлоксацину, амікацину, гентаміцину; *C. albicans* – до кетоконазолу, ністатину, флуконазолу.

Під час дослідів використали добові культури бактерій, з яких готували суспензії густиною 10<sup>9</sup> КУО/мл. Як субстрат адгезії застосували нативні формалінізовані еритроцити людини (в концентрації 10<sup>8</sup>/мл) 0(I) групи крові Rh «+», як антикоагулянт – гепарин (3 ОД/1,0 мл) [19]. У пробірки для дослідів вносили по 0,5 мл суспензії еритроцитів і бактерій, по 0,25 мл екстракту. Отриману суміш інкубували 30 хвилин за температури 37 °С, подеколи струшуючи. Як контроль замість екстракту

Таблиця 1. Адгезивні властивості штамів мікроорганізмів в умовах дії 3 % екстракту горіха волоського вуглекислотного

№ з/п	Культура мікроорганізмів	Індекс адгезивності мікроорганізмів		
		Контроль	У результаті дії 3 % ЕГВВ	В результаті дії мірамістину
1	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	4,60 ± 0,26	1,91 ± 0,27 <sup>1,2</sup>	2,98 ± 0,40
2	<i>S. aureus</i> *	4,77 ± 0,42	2,15 ± 0,35 <sup>1,2</sup>	3,10 ± 0,35
3	<i>E. coli</i> ATCC 25922	4,71 ± 0,47	2,03 ± 0,30 <sup>1,2</sup>	2,86 ± 0,44
4	<i>E. coli</i> *	4,61 ± 0,39	2,27 ± 0,35 <sup>1,2</sup>	2,83 ± 0,32
5	<i>K. pneumonia</i> K-7 NCTC 9127	4,66 ± 0,37	1,90 ± 0,24 <sup>1,2</sup>	2,93 ± 0,34
6	<i>K. pneumonia</i> *	4,85 ± 0,42	2,29 ± 0,33 <sup>1,2</sup>	2,96 ± 0,26
7	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	4,65 ± 0,45	2,47 ± 0,27 <sup>1,2</sup>	2,95 ± 0,28
8	<i>P. aeruginosa</i> *	4,69 ± 0,48	2,57 ± 0,21 <sup>1,2</sup>	3,10 ± 0,45
9	<i>A. baumannii</i> ATCC 19606	4,39 ± 0,55	2,27 ± 0,29 <sup>1,2</sup>	3,06 ± 0,41
10	<i>A. baumannii</i> *	4,64 ± 0,56	2,14 ± 0,24 <sup>1,2</sup>	3,15 ± 0,43
11	<i>C. albicans</i> ATCC 885-653	4,84 ± 0,44	2,35 ± 0,36 <sup>1,2</sup>	3,33 ± 0,32
12	<i>C. albicans</i> *	4,64 ± 0,56	2,14 ± 0,43 <sup>1,2</sup>	3,11 ± 0,34

\*: клінічний штам мікроорганізму; p ≤ 0,5; 1: Uf ≤ Ust при p = 0,05 порівняно з показником референтного препарату; 2: Uf ≤ Ust при p = 0,05 порівняно з контролем.

використали суміш еритроцитів і бактерій у стерильному фосфатному буфері. Після завершення часу експозиції видаляли неадгезовані бактеріальні клітини шляхом промивання еритроцитів фосфатно-сольовим буфером і центрифугування впродовж 5 хвилин при 1000 об/хв. З кожного зразка, у тому числі з контрольного, готували препарат-мазок, який висушували, фіксували розчином Май-Грюнвальда та забарвлювали за методом Романовського-Гімзи.

Показники процесу адгезії мікроорганізмів до еритроцитів встановили, вивчивши не менше ніж 100 еритроцитів у 10 полях зору за допомогою світлової мікроскопії. За результатами мікроскопії розраховували індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ):  $ІАМ = СПА \times 100 / КУЕ$ , де ІАМ – індекс адгезивності мікроорганізмів (середня кількість мікробних клітин, адгезованих на одному еритроциті), СПА – середній показник адгезії (середня кількість мікроорганізмів, що прикріпились до одного еритроциту), КУЕ – коефіцієнт участі еритроцитів в адгезії (відсоток еритроцитів, які мають на поверхні адгезовані мікроорганізми).

Згідно з критеріями оцінювання адгезивних властивостей, мікроорганізм вважали неадгезивними при значенні ІАМ ≤ 1,75, низькоадгезивним – при ІАМ від 1,76 до 2,50, середньоадгезивним – від 2,51 до 4,00, високоадгезивним – при ІАМ понад 4,00.

У кожній серії дослідів виконали 10 незалежних визначень. Статистичне опрацювання даних здійснили за допомогою комп'ютерної програми StatSoft Statistica V 5.0. Застосували метод варіаційного аналізу з визначенням середнього арифметичного (M), похибки середнього арифметичного (m) та критерію достовірності відмінностей. Відмінність середніх величин (M ± m) вважали статистично значущою при p ≤ 0,5.

## Результати

Попереднє вивчення здатності до адгезії музейних тест-штамів *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *C. albicans* показало, що ці культури характеризуються високоадгезивними властивостями: ІАМ з різними культурами варіював від 4,39 ± 0,55 до 4,84 ± 0,44 (табл. 1). Разом із цим, додавання 3 % екстракту горіха волоського вуглекислотного (ЕГВВ)

значно пригнічувало адгезивні властивості цих мікроорганізмів.

Так, високий ступінь впливу екстракту визначили під час досліджень із тест-штамом *S. aureus* (ІАМ 1,91 ± 0,27) та представниками родини ентеробактерій: *K. pneumonia* та *E. coli* (ІАМ становив 1,90 ± 0,24 та 2,03 ± 0,30 відповідно). Тобто під впливом ЕГВВ ІАМ стафілококу знизився на 59,47 %, *K. pneumonia* – на 59,17 %, *E. coli* – на 56,32 %.

Щодо музейних культур *P. aeruginosa* та *A. baumannii*, то індекс адгезивності для цих штамів також став доволі низьким і дорівнював 2,47 ± 0,27 (зниження на 48,70 %) і 2,27 ± 0,29 (зниження на 49,77 %) відповідно. Аналогічні результати одержали під час досліджень із тест-штамом *C. albicans*.

Так, ІАМ в умовах дії екстракту становив 2,35 ± 0,36; це на 51,59 % менше, ніж вихідні показники. Зазначимо, що мірамістин також характеризувався доволі сильною антиадгезивною активністю щодо колекційних тест-штамів, але результати дослідження показали його недостатню ефективність порівняно з ЕГВВ.

Усі клінічні штами мікроорганізмів показали високу адгезивність в експериментах без екстракту: ІАМ із різними культурами варіював від 4,64 ± 0,56 до 4,64 ± 0,56. Додавання 3 % ЕГВВ значно знизило індекс адгезивності всіх клінічних штамів мікроорганізмів. Найбільшу активність досліджений екстракт мав щодо клінічного ізоляту *S. aureus*, ІАМ якого знизився з 4,77 ± 0,42 до 2,15 ± 0,35, тобто на 55,00 %. Майже в однаковому діапазоні зафіксовано зниження ІАМ *K. pneumonia* та *E. coli*: з 4,85 ± 0,42 до 2,29 ± 0,33 (на 53,50 %) у досліді із клібсієлюю та з 4,61 ± 0,39 до 2,27 ± 0,35 (на 53,54 %) – з кишковою паличкою.

Дещо нижчі показники ІАМ зафіксували для клінічних культур *P. aeruginosa* та *A. baumannii*. ІАМ псевдомонади знизився на 49,04 % та становив 2,57 ± 0,21, ацинетобактера – на 50,42 %, дорівнював 2,14 ± 0,24. Показник адгезивності *C. albicans* зменшився до 2,14 ± 0,43 – на 53,13 %.

Разом із цим, у дослідженнях із мірамістином виявили, що ІАМ із клінічними штамми варіював від 2,83 ± 0,32 (у дослідженнях з *E. coli*) до 3,15 ± 0,43 (з *A. baumannii*). Це свідчить про недостатню ефективність мірамістину порівняно з ЕГВВ.

## Обговорення

Актуальність використання лікарських рослин незмірно зросла в останні десятиліття. Це пов'язано з високою активністю деяких компонентів рослин щодо клітин-збудників і меншим ступенем резистентності мікроорганізмів до рослинних речовин. Вивчення взаємодії вуглеводних компонентів поверхонь клітинних стінок прокариотів із біологічно активними речовинами рослин може дати інформацію для обґрунтування застосування рослинних препаратів під час лікування інфекційних захворювань. Безсумнівно є необхідність продовження вивчення впливу біологічно активних речовин рослин на структурні компоненти бактеріальних клітин.

Особливе занепокоєння медичної спільноти викликає феномен резистентності збудників гнійно-запальних інфекцій (ГЗІ) до антибіотиків, що вкрай обмежує використання антибактеріальних препаратів і негативно впливає на успіх лікування хворих хірургічних стаціонарів. Тому важливо дослідити, як вплине на адгезивну активність відомих збудників ГЗІ 3 % екстракт горіха волоського, адже відомо, що адгезія – один із важливих етапів прояву бактеріальної агресії.

Результати досліджень свідчать, що цей екстракт може суттєво пригнічувати адгезивну активність мікроорганізмів і музейних тест-штамів, і клінічних ізолятів, збудників ГЗІ: *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *C. albicans*. Порівняльний аналіз антиадгезивного ефекту 3 % ЕГВВ не виявив значні відмінності між референтними та клінічними штамми, але показники ІАМ клінічних штамів дещо вищі за параметри адгезивності музейних тест-штамів. Крім того, результати, що одержали в експериментах з препаратом порівняння – мірамистином, дають підстави зробити висновок про високу антиадгезивну активність екстракту. Отже, завдяки впливу на адгезивні властивості мікроорганізмів ЕГВВ може впливати на формування біоплівки, запобігаючи утворенню її структур. Цей факт підтверджено в роботі Rosaria Acquaviva et al., які довели, що ЕГВВ гальмує утворення стафілококами біоплівки, запобігаючи адгезії 50 % бактеріальних клітин [20].

Опубліковано чимало робіт, в яких на основі визначеної протимікробної активності ЕГВВ зробили тільки теоретичні висновки про те, що він може перешкоджати прикріпленню бактерій до субстрату. В доступній фаховій літературі не виявили роботи, в яких аналізували б антиадгезивну активність складових горіхових екстрактів. Тому мета першого етапу нашої роботи – отримання даних, що підтвердили б чи спростували наявність антиадгезивної дії ЕГВВ. Дані, що одержали, підтвердили припущення про такий вплив екстракту, але викликали закономірні питання про те, які саме складові екстракту запобігають адгезії мікроорганізмів і який механізм цього процесу.

Відомо, що юглон (5-hydroxy-1,4-naphthoquinone) належить до нафтохінонів, а отже є природною біологічно активною речовиною, що має виражену протимікробну активність [21]. Тому можна припустити, що він характеризується прямою пошкоджувальною дією на структури бактеріальної клітини, що відповідають за адгезію. Втім, необхідно пам'ятати, що до складу екстракту волоського горіха входять терпени (терпеноїди), які також мають антибактеріальну активність і можуть підсилювати про-

тимікробний ефект інших речовин. Так, E. Sieniawska et al. довели наявність цього ефекту в експериментах із використанням штамів *Mycobacterium tuberculosis* [22].

Найбільше опрацьована тема антибактеріальної та антиадгезивної активності флавоноїдів, на які багаті екстракти багатьох рослин, а не тільки волоського горіха, та котрі є низькомолекулярними поліфенольними сполуками, що здатні безпосередньо знищувати бактерії, інгібувати прикріплення бактерій, гальмувати експресію генів, відповідальних за міжбактеріальні зв'язки в біоплівках і синергічно активувати антибіотики [23,24].

Наведені факти обґрунтовують актуальність досліджень, що спрямовані на вивчення процесів бактеріальної адгезії та формування біоплівок в умовах дії складових екстракту волоського горіха. Розуміння цих процесів на молекулярному рівні дасть змогу розширити напрями ефективного використання цього препарату.

## Висновки

1. Виявили, що 3 % екстракт горіха волоського вуглекислотний ефективно інгібує адгезивну активність музейних і клінічних штамів *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *C. albicans*.

2. Пригнічення 3 % екстрактом горіха волоського адгезивних властивостей клінічних штамів, збудників гнійно-запальних інфекцій (*S. aureus*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *E. coli*, *C. albicans*), сприяє запобіганню формуванню бактеріальної біоплівки.

3. Результати вивчення адгезивної активності 3 % ЕГВВ дають підстави зробити висновок про перспективність продовження вивчення його біологічних властивостей і створення на його основі нового протимікробного препарату для лікування гнійно-запальних інфекцій.

**Перспективи подальших досліджень** полягають у вивченні антибактеріальної, антифунгіцидної та антиадгезивної активностей усіх компонентів 3 % екстракту волоського горіха.

## Фінансування

Дослідження виконано в рамках НДР ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова Національної академії медичних наук України»: «Створення комбінованого лікарського засобу протимікробної дії для лікування ран і ранової інфекції», № держреєстрації 0117U002279 (2017–2019).

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

Надійшла до редакції / Received: 05.09.2022

Після доопрацювання / Revised: 01.02.2023

Прийнято до друку / Accepted: 07.02.2023

## Відомості про авторів:

Можаяв І. В., аспірант, ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України», м. Харків.

ORCID ID: [0000-0003-2704-0232](https://orcid.org/0000-0003-2704-0232)

Євсюкова В. Ю., канд. мед. наук, старший дослідник, провідний науковий співробітник лабораторії протимікробних засобів, ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України», м. Харків.

ORCID ID: [0000-0002-8688-6732](https://orcid.org/0000-0002-8688-6732)

Торяник І. І., д-р мед. наук, старший науковий співробітник, провідний науковий співробітник лабораторії вірусних інфекцій, ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України», м. Харків.

ORCID ID: [0000-0001-6843-8808](https://orcid.org/0000-0001-6843-8808)

Мінухін В. В., д-р мед. наук, професор, директор ДУ «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України», м. Харків.

ORCID ID: [0000-0002-9682-9686](https://orcid.org/0000-0002-9682-9686)

Поліщук Н. М., канд. мед. наук, доцент каф. мікробіології, вірусології та імунології, Запорізький державний медичний університет, Україна.

ORCID ID: [0000-0002-9791-5818](https://orcid.org/0000-0002-9791-5818)

Кирик Д. А., д-р мед. наук, професор, зав. каф. мікробіології, Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика, м. Київ.

ORCID ID: [0000-0001-8521-3782](https://orcid.org/0000-0001-8521-3782)

#### Information about the authors:

Mozhaiev I. V., PhD student, State Institution "Institute of Microbiology and Immunology named after I. I. Mechnikov of the National Academy of Sciences of Ukraine", Kharkiv.

Yeysiukova V. Yu., MD, PhD., Senior Researcher, Leading Researcher of the Laboratory of Antimicrobial Agents, State Institution "Institute of Microbiology and Immunology named after I. I. Mechnikov of the National Academy of Sciences of Ukraine", Kharkiv.

Torjanyk I. I., MD, PhD, DSc, Senior Researcher, Leading Researcher of the Laboratory of Viral Infections, State Institution "Institute of Microbiology and Immunology named after I. I. Mechnikov of the National Academy of Sciences of Ukraine", Kharkiv.

Minukhin V. V., MD, PhD, DSc, Professor, Director, State Institution "Institute of Microbiology and Immunology named after I. I. Mechnikov of the National Academy of Sciences of Ukraine", Kharkiv.

Polishchuk N. M., MD, PhD, Associate Professor of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine.

Kyryk D. L., MD, PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Microbiology, Shupyk National Healthcare University of Ukraine, Kyiv.

#### Список літератури

- [1] Фаустова М. О. Взаємозв'язок адгезивних та плівкоутворюючих властивостей *Staphylococcus* spp. – збудників інфекційно-запальних захворювань м'яких тканин щелепно-лицевої ділянки. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2021. Т. 21. № 2. С. 165-168. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.21.2.165>
- [2] Krachler A. M., Orth K. Targeting the bacteria-host interface: strategies in anti-adhesion therapy. *Virulence*. 2013. Vol. 4, Iss. 4. P. 284-294. <https://doi.org/10.4161/viru.24606>
- [3] Адгезивні властивості асоціації *Candida albicans* і *Staphylococcus aureus* / В. В. Мінухін, О. В. Кочнева, С. М. Граматюк, М. П. Сухомлин. *Вісник проблем біології і медицини*. 2013. Вип. 2. С. 89-91.
- [4] Біоплівки. Сучасний стан і перспективи антимікробної терапії / Н. О. Вринчану, Д. М. Дудікова, Н. І. Гринчук, В. В. Недашківська. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2019. Т. 13. № 5. С. 311-321. <https://doi.org/10.33250/13.05.311>
- [5] WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. *World Health Organization*. 2017. URL : <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
- [6] Мінухін В., Казмірчук В., Торяник І. Лікарські композиції на основі настоянок/екстрактів горіхів чорного/волосякого у інфекційній патології ран та ранових ускладнень. *Medical sciences*. 2019. Т. 1. № 1. С. 59-69. <https://doi.org/10.30525/978-9934-588-15-0-68>
- [7] Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extracts / A. Fernández-Agulló et al. *Industrial Crops and Products*. 2013. Vol. 42, Iss. 1. P. 126-132 <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.05.021>
- [8] Comparison of Antibacterial Activities of Walnut (*Juglans Regia* L.) and Pine (*Pinus halepensis* Mill.) Leaves Alcoholic Extracts against Bacteria Isolated from Burn Wound Infections / Y. Nozohour et al. *Acta Microbiologica Hellenica*. 2019. Vol. 64, Iss. 2. P. 99-108.

- [9] Comparative Review on the Extraction, Antioxidant Content and Antioxidant Potential of Different Parts of Walnut (*Juglans regia* L.) Fruit and Tree / A. Jahanban-Esfahlan et al. *Molecules*. 2019. Vol 24, Iss. 11. P. 2133. <https://doi.org/10.3390/molecules24112133>
- [10] The double effect of walnut septum extract (*Juglans regia* L.) counteracts A172 glioblastoma cell survival and bacterial growth / C. Genovese et al. *International Journal of Oncology*. 2020. Vol. 57, Iss. 5. P. 1129-1144. <https://doi.org/10.3892/ijo.2020.5130>
- [11] Antimicrobial, Antioxidant, and Cytotoxic Activities of *Juglans regia* L. Pellicle Extract / F. D'angeli et al. *Antibiotics*. 2021. Vol. 10, Iss. 2. P. 159. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10020159>
- [12] Protective effects of methanolic extract of *Juglans regia* L. leaf on streptozotocin-induced diabetic peripheral neuropathy in rats / D. Nasiry et al. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2017. Vol. 17, Iss. 1. P. 476. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1983-x>
- [13] Dietary Supplementation of Walnut Partially Reverses 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine Induced Neurodegeneration in a Mouse Model of Parkinson's Disease / M. M. Essa et al. *Neurochemical Research*. 2015. Vol. 40, Iss. P. 1283-1293. <https://doi.org/10.1007/s11064-015-1593-2>
- [14] Protective effects of Walnut extract against amyloid  $\beta$  peptide-induced cell death and oxidative stress in PC12 cells / B. Muthaiyah et al. *Neurochemical Research*. 2011. Vol. 36, Iss. 11. P. 2096-2103. <https://doi.org/10.1007/s11064-011-0533-z>
- [15] *Juglans Regia* L. Leaf Extract Attenuates Diabetic Nephropathy Progression in Experimental Diabetes: An Immunohistochemical Study / D. Nasiry et al. *Iranian Journal of Medical Sciences*. 2019. Vol. 44, Iss. 1. P. 44-52.
- [16] Flavonoids in *Juglans regia* L. leaves and evaluation of in vitro antioxidant activity via intracellular and chemical methods / M. H. Zhao, Z. T. Jiang, T. Liu, R. Li. *Scientific World Journal*. 2014. P. 303878. <https://doi.org/10.1155/2014/303878>
- [17] The effects of cultivar and climate zone on phytochemical components of walnut (*Juglans regia* L.) / S. Wu et al. *Food and Energy Security*. 2020. Vol. 9, Iss. 2. P. 1-9. <https://doi.org/10.1002/fes3.196>
- [18] Береза Б. М., Гончар О. О., Зарицький О. М. До питання фізико-хімічної, мікробіологічної характеристики антисептиків Декаметоксину®, Декасану®, Мірамістину. *Вісник морфології*. 2016. Т. 22, № 2. С. 236-239.
- [19] Адгезивні властивості бактерій за впливу безклітинних екстрактів *Bifidobacterium bifidum* 1 та *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 / О. В. Книш, С. А. Колпак, М. С. Погоріла, Є. М. Бабич. *Актуальні проблеми сучасної медицини*. 2020. Т. 20. Вип. 2. С. 129-134. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.20.2.129>
- [20] Antibacterial and anti-biofilm activities of walnut pellicle extract (*Juglans regia* L.) against coagulase-negative staphylococci / R. Acquaviva et al. *Natural product research*. 2021. Vol. 35, Iss. 12. P. 2076-2081. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1650352>
- [21] PubChem Compound Summary for CID 3806, Juglone. National Center for Biotechnology Information. URL : <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Juglone>
- [22] Natural Terpenes Influence the Activity of Antibiotics against Isolated *Mycobacterium tuberculosis* / E. Sieniawska et al. *Medical Principles and Practice*. 2017. Vol. 26, Iss. 2. P. 108-112. <https://doi.org/10.1159/000454680>
- [23] Cushnie T. P., Lamb A. J. Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2011. Vol. 38, Iss. 2. P. 99-107. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014>
- [24] Antibacterial activities of flavonoids: structure-activity relationship and mechanism / Y. Xie et al. *Current Medicinal Chemistry*. 2015. Vol. 22, Iss. 1. P. 132-149. <https://doi.org/10.2174/0929867321666140916113443>

#### References

- [1] Faustova, M. O. (2021). Vzaïmozv'язok adhezyvnykh ta plivkoutvoriuyuchykh vlastyvostei Staphylococcus spp. – zbudnykiv infektsiyno-zapalnykh zakhvoriuvan myakyykh tkany shcheleno-lytsevoi dilianky [Relationship between adhesive and film-forming properties of *Staphylococcus* spp. – pathogens of infectious inflammatory diseases in soft tissues of jaw and facial area]. *Aktualni problemy suchasnoi medytsyny*, 21(2), 165-168. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.21.2.165>
- [2] Krachler, A. M., & Orth, K. (2013). Targeting the bacteria-host interface: strategies in anti-adhesion therapy. *Virulence*, 4(4), 284-294. <https://doi.org/10.4161/viru.24606>
- [3] Minukhin, V. V., Kochneva, O. V., Gramatiuk, S. M., & Sukhomlyn, M. P. (2013). Adhezyvni vlastyvosti asotsiatsiyi *Candida albicans* i *Staphylococcus aureus* [Adhesive Properties of Association *Candida Albicans* and *Staphylococcus Aureus*]. *Visnyk problem biolohii i medytsyny*, (2), 89-91. [in Ukrainian].

- [4] Vrynchanu, N. O., Dudikova, D. M., Hrynychuk, N. I., & Nedashkivska, V. V. (2019). Bioplivky. Suchasnyi stan i perspektivy antimikrobnoi terapii [Biofilms. The current status and prospects of antimicrobial therapy]. *Farmakologiya ta likarska toksykologiya*, 13(5), 311-321. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.33250/13.05.311>
- [5] World Health Organization. (2017). *WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed*. <https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>
- [6] Minukhin, V., Kazmirchuk, V., & Toriannyk, I. (2019). Likarski kompozytsii na osnovi nastoianok/ ekstraktiv horikiv chornoho/ voloskoho u infektsinii patolohii ran ta ranovykh uskladnen [Pharmaceutical compositions based on infusions/extracts of black walnuts/walnut in infectious pathology and wound healing complications]. *Medical sciences*, 1(1), 59-69. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.30525/978-9934-588-15-0-68>
- [7] Fernández-Agulló, A., Pereira, E., Freirea, M. S., Valentão, P., Andrade, B., González-Álvarez, J., & Pereira, J. A. (2013). Influence of solvent on the antioxidant and antimicrobial properties of walnut (*Juglans regia* L.) green husk extracts. *Industrial Crops and Products*, 42(1), 126-132. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.05.021>
- [8] Nozohour, Y., Golmohammadi, R., Mirnejad, R., Moghaddam, M. M., & Fartashvand, M. (2019). Comparison of Antibacterial Activities of Walnut (*Juglans Regia* L.) and Pine (*Pinus halepensis* Mill.) Leaves Alcoholic Extracts against Bacteria Isolated from Burn Wound Infections. *Acta Microbiologica Hellenica*, 64(2), 99-108.
- [9] Jahanban-Esfahlan, A., Ostadrahimi, A., Tabibiazar, M., & Amarowicz, R. (2019). A Comparative Review on the Extraction, Antioxidant Content and Antioxidant Potential of Different Parts of Walnut (*Juglans regia* L.) Fruit and Tree. *Molecules*, 24(11), 2133. <https://doi.org/10.3390/molecules24112133>
- [10] Genovese, C., Cambria, M. T., D'angeli, F., Addamo, A. P., Malfa, G. A., Siracusa, L., Pulvirenti, L., Anfuso, C. D., Lupo, G., & Salmeri, M. (2020). The double effect of walnut septum extract (*Juglans regia* L.) counteracts A172 glioblastoma cell survival and bacterial growth. *International Journal of Oncology*, 57(5), 1129-1144. <https://doi.org/10.3892/ijo.2020.5130>
- [11] D'Angeli, F., Malfa, G. A., Garozzo, A., Volti, G. Li, Genovese, C., Stivala, A., Nicolosi, D., Attanasio, F., Bellia, F., Ronsisvalle, S., & Acquaviva, R. (2021). Antimicrobial, Antioxidant, and Cytotoxic Activities of *Juglans regia* L. Pellicle Extract. *Antibiotics*, 10(2), 159. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10020159>
- [12] Nasiry, D., Khalatbary, A. R., Ahmadvand, H., Amiri, F. B. T., & Akbari, E. (2017). Protective effects of methanolic extract of *Juglans regia* L. leaf on streptozotocin-induced diabetic peripheral neuropathy in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17(1), 476. <https://doi.org/10.1186/s12906-017-1983-x>
- [13] Essa, M. M., Subash, S., Dhanalakshmi, C., Manivasagam, T., Al-Adawi, S., Guillemin, G. J., & Justin Thenmozhi, A. (2015). Dietary Supplementation of Walnut Partially Reverses 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine Induced Neurodegeneration in a Mouse Model of Parkinson's Disease. *Neurochemical Research*, 40(6), 1283-1293. <https://doi.org/10.1007/s11064-015-1593-2>
- [14] Muthaiyah, B., Essa, M. M., Chauhan, V., & Chauhan, A. (2011). Protective effects of walnut extract against amyloid beta peptide-induced cell death and oxidative stress in PC12 cells. *Neurochemical research*, 36(11), 2096-2103. <https://doi.org/10.1007/s11064-011-0533-z>
- [15] Nasiry, D., Khalatbary, A. R., Ahmadvand, H., & Talebpour Amiri, F. (2019). *Juglans Regia* L. Leaf Extract Attenuates Diabetic Nephropathy Progression in Experimental Diabetes: An Immunohistochemical Study. *Iranian journal of medical sciences*, 44(1), 44-52.
- [16] Zhao, M. H., Jiang, Z. T., Liu, T., & Li, R. (2014). Flavonoids in *Juglans regia* L. leaves and evaluation of in vitro antioxidant activity via intracellular and chemical methods. *Scientific World Journal*, 2014, 303878. <https://doi.org/10.1155/2014/303878>
- [17] Wu, S., Ni, Z., Wang, R., Zhao, B., Han, Y., Zheng, Y., Liu, F., Gong, Y., Tang, F., & Liu, Y. (2020). The effects of cultivar and climate zone on phytochemical components of walnut (*Juglans regia* L.). *Food and Energy Security*, 9(2). <https://doi.org/10.1002/fes3.196>
- [18] Bereza, B. M., Gonchar, O. O., & Zarytskyi, O. M. (2016). Do pytannia fizykokhimičnoi, mikrobiolohičnoi karakterystyky antyseptykiv deksametoksynu, dekasanu, miramistynu [To the question of physical and chemical, characteristics of antiseptics of decamethoxine®, decasan®, miramistin]. *Visnyk morfologii*, 22(2), 236-239. [in Ukrainian].
- [19] Knysh, O. V., Kolpak, S. A., Pohorila, M. S., & Babych, Ye. M. (2020). Adhezyvni vlastyvoli bakterii za vplyvu bezklytynnykh ekstraktiv *Bifidobacterium bifidum* 1 ta *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 [Adhesive properties of bacteria under the influence of bifidobacterium bifidum 1 and lactobacillus reuteri DSM 17938 cell-free extracts]. *Aktualni problemy suchasnoyi medytsyny*, 20(2), 129-134. [in Ukrainian]. <https://doi.org/10.31718/2077-1096.20.2.129>
- [20] Acquaviva, R., D'Angeli, F., Malfa, G. A., Ronsisvalle, S., Garozzo, A., Stivala, A., Ragusa, S., Nicolosi, D., Salmeri, M., & Genovese, C. (2021). Antibacterial and anti-biofilm activities of walnut pellicle extract (*Juglans regia* L.) against coagulase-negative staphylococci. *Natural product research*, 35(12), 2076-2081. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1650352>
- [21] National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 3806, Juglone. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Juglone>
- [22] Sieniawska, E., Swatko-Ossor, M., Sawicki, R., Skalicka-Woźniak, K., & Ginalska, G. (2017). Natural Terpenes Influence the Activity of Antibiotics against Isolated Mycobacterium tuberculosis. *Medical principles and practice*, 26(2), 108-112. <https://doi.org/10.1159/000454680>
- [23] Cushnie, T. P., & Lamb, A. J. (2011). Recent advances in understanding the antibacterial properties of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 38(2), 99-107. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2011.02.014>
- [24] Xie, Y., Yang, W., Tang, F., Chen, X., & Ren, L. (2015). Antibacterial activities of flavonoids: structure-activity relationship and mechanism. *Current medicinal chemistry*, 22(1), 132-149. <https://doi.org/10.2174/0929867321666140916113443>