

nia, wykonanie korekcji osi kończyny oraz kompresję lub dystrakcję międzyodłamową. Tak zwana ciska mechaniczna w szybkim czasie prowadzi do ustąpienia toczącego się procesu zapalnego, a brak ruchu między odłamami sprzyja obciążaniu kończyny, co z kolei stymuluje wzrost kostny w miejscu złamania (1, 2, 5).

Prawidłowa konstrukcja i dobra stabilizacja aparatem Ilizarowa wymaga zachowania wielu zasad, precyzyjnie omawianych na łamach piśmiennictwa (6).

Proponowana metoda leczenia wymaga dużej determinacji ze strony opiekunów zwierząt. W drugiej – trzeciej dobie po operacji zwierzę zwykle opuszcza lecznicę, a dalsze leczenie prowadzone jest ambulatoryjnie. Na właściciela psa spada obowiąz-

zek systematycznej toalety okolic wprowadzenia poprzecznych gwoździ oraz okresowego doprowadzania psa do badania kontrolnego. W przypadku korekcji osi kończyny lub stosowania dystrakcji albo kompresji, czynności związane z obsługą aparatu wykonuje opiekun pod nadzorem lekarza.

Piśmiennictwo

1. Cattaneo R., Catagni M., Johnson E.: Clin. Orthop. 280, 143, 1992.
2. Calhoun J., Li F., Ledbetter B., Gill A.: Clin. Orthop. 280, 15, 1992.
3. Ilizarov G., Ledyayev V.: Clin. Orthop. 280, 7, 1992.
4. Lewis D., Bloomberg M.: Waltham Focus 4, 9, 1994.
5. Marsh J., Prokuski L., Biermann S.: Clin. Orthop. 301, 139, 1994.
6. Tucker H., Kendra J., Kinnebrew T.: Clin. Orthop. 280, 125, 1992.

Adres autora: lek. wet. Piotr Zadura, Lecznica dla zwierząt s. c. ul. Kartuska 249, 80-125 Gdańsk

TADEUSZ MERESTA

Zastosowanie *B. subtilis* do oceny aktywności bakteriostatycznej ekstraktów propolisu

Zakład Higieny Weterynaryjnej, ul. Słowicza 2, 20-336 Lublin

Meresta T.

Application of *B. subtilis* for the determination of bacteriostatic activity of propolis extracts

Summary

Bacteriostatic activity expressed by MIC values of *S. aureus* 209P was compared with MIC values for *B. subtilis* 6633 on 26 propolis extracts. Extracts with different MIC values ranging from a 0.060 to 0.600 mg/ml basis were tested. The determined MIC values for both species of bacteria were found to be identical in 19 samples of propolis extracts. Small differences in MIC values were observed in 7 samples. The differences did not exceed 0.010 mg/ml in 3 and 0.020 mg/ml of medium in 4 samples. The results showed that for the determination of bacteriostatic activity of propolis extracts the application of *B. subtilis* 6633 yielded an identical value to *S. aureus* 209P.

Preparaty farmaceutyczne z surowców pochodzenia naturalnego są coraz powszechniej wykorzystywane w leczeniu chorób ludzi i zwierząt. Poznanie ich składu chemicznego i działania farmakologicznego jest warunkiem koniecznym do przeprowadzenia oceny tych substancji jako leków. Do takich preparatów należą również ekstrakty propolisu, które coraz częściej znajdują zastosowanie w wielu dziedzinach medycyny i weterynarii.

Ekstrakty propolisu odznaczają się właściwościami przeciwbakteryjnymi (3, 4, 8, 14) w stosunku do różnych mikroorganizmów. Jest faktem dowiedzio-

nym, że aktywność przeciwbakteryjna ekstraktów propolisu jest zróżnicowana (2, 5, 9, 12). Konieczna jest zatem każdorazowa ocena poszczególnych partii czy serii ekstraktu przeznaczonego do produkcji preparatów terapeutycznych. Ocena taka jest możliwa przy pomocy mikrobiologicznej metody ilościowej (2). W określeniu aktywności ekstraktów propolisu wielu autorów przyjęło jako kryterium oceny wartość najmniejszego stężenia hamującego (MIC) w stosunku do *S. aureus* 209P (1, 6, 8, 9, 10, 16, 17, 18). Do oceny aktywności stosowano też *B. subtilis* (11, 12, 13). Wyjaśniono również rolę nie-

Tab. 1. Wartości MIC ekstraktów propolisu w stosunku do *S. aureus* 209P i *B. subtilis* 6633

Nr próby	Wartości MIC w mg/ml podłoża		Nr próby	Wartości MIC w mg/ml podłoża	
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>		<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
489/1	0,060	0,060	496	0,200	0,200
489/3	0,070	0,070	511	0,220	0,230
489/2	0,080	0,080	540	0,240	0,230
489/5	0,090	0,090	516	0,280	0,280
557	0,100	0,100	535	0,300	0,280
504	0,110	0,110	532	0,320	0,340
508	0,120	0,120	513	0,340	0,340
474/4	0,130	0,130	485/6	0,360	0,360
474/1	0,140	0,140	517	0,380	0,380
464	0,150	0,150	510	0,400	0,380
548	0,160	0,160	485/3	0,460	0,480
474/3	0,170	0,170	485/4	0,520	0,520
526	0,180	0,180	485/1	0,600	0,600

których związków flawonoidowych zawartych w ekstraktach propolisu jako czynników warunkujących działanie bakteriostatyczne i bakteriobójcze w stosunku do *S. aureus* i *B. subtilis* (7, 11, 12, 15, 19, 20).

Zastosowanie do oceny działania przeciwbakteryjnego ekstraktu propolisu wartości MIC w stosunku do *S. aureus* 209P jest zgodne z instrukcją Komitetu Ekspertów WHO. Jednakże ze względu na chorobotwórczość wymienionego drobnoustroju dla osób mających z nim kontakt podczas badań laboratoryjnych i wymagających szczególnej ostrożności, nasuwa się pytanie, czy nie można by było testować ekstraktów propolisu przy użyciu drobnoustroju nie chorobotwórczego.

Celem badań było określenie możliwości zastąpienia drobnoustroju patogenego, stosowanego w ocenie MIC dla ekstraktów propolisu, innym nie chorobotwórczym drobnoustrojem, dającym jednak takie same lub zbliżone wartości MIC. Do badań porównawczych ze *S. aureus* 209P zastosowano niepatogenny szczep *B. subtilis* 6633.

Materiał i metody

Do badań użyto 26 ekstraktów propolisu w roztworze alkoholu etylowego, o szerokim zakresie wartości MIC od 0,060 – 0,600 mg/ml podłoża w stosunku do *S. aureus* 209P. Wartość MIC ekstraktów w stosunku do *S. aureus* 209P i *B. subtilis* 6633, określono na podłożu stałym, metodą seryjnych rozcieńczeń (różnica rozcieńczenia $r = 0,010$ mg/ml podłoża), według metody podanej uprzednio (2). Podłoże posiewano 6-godzinna hodowlą bulionową *S. aureus* 209P i 18-godzinna hodowlą bulionową *B. subtilis* 6633 w ilości 0,05 ml hodowli rozcieńczonej 1:100, na płytkę Petriego o średnicy 8 cm.

Wyniki odczytywano po 20 godzinach inkubacji prób w temperaturze 37°C, dla obu gatunków bakterii. Otrzymane wyniki przedstawiono w tab. 1.

Wyniki i omówienie

Wyniki badań wykazały, że wartości MIC określone w stosunku do *S. aureus* 209P i *B. subtilis* 6633, były identyczne dla 19 prób ekstraktów propolisu. Niewielkie różnice MIC dla obu gatunków bakterii stwierdzono dla 7 prób ekstraktów propolisu, o wartościach powyżej

0,180 mg/ml podłoża. Różnice nie przekraczały 0,010 mg/ml dla 3 prób (526, 511, 540) oraz 0,020 mg/ml podłoża dla 4 prób (535, 532, 400, 460).

Uzyskane wyniki badań wskazują, że określanie aktywności bakteriostatycznej ekstraktów propolisu może być przeprowadzone przy pomocy niezjadliwego szczepu *B. subtilis* 6633, jako równoważnego w stosunku do *S. aureus* 209P.

Piśmiennictwo

- Chorażak T., Szaflarski J., Seferowicz E., Scheller S.: Przegl. lek. 12, 828, 1971.
- Gliński Z., Meresta T.: Medycyna Wet. 49, 27, 1993.
- Lindenfelser L. A.: Am. Bee J. 107, 90, 1967.
- Lindenfelser L. A.: Am. Bee J. 107, 130, 1967.
- Meresta L., Meresta T.: Pszczelarstwo 1, 2, 1984.
- Meresta L., Meresta T.: Bull. Vet. Inst., Puławy 26, 77, 1983.
- Meresta L., Meresta T.: Bull. Vet. Inst., Puławy 28, 61, 1985.
- Meresta L., Meresta T.: Medycyna Wet. 41, 489, 1985.
- Meresta T.: Czynniki wpływające na aktywność przeciwbakteryjną ekstraktów kitu pszczelego (propolisu). Praca dokt., AR Lublin, 1986.
- Meresta T., Meresta L.: Medycyna Wet. 44, 169, 1988.
- Pepeljnjak S., Jelsenjak I., Maysinger D.: Pharmazie 37, 864, 1982.
- Pepeljnjak S., Jelsenjak I., Maysinger D.: Pharmazie 40, 122, 1985.
- Rybak H., Konopacka Z., Muszyńska J.: V Międz. Symp. Apiterapii, Kraków 1985, s. 108.
- Scheller S., Rogala D., Stasiak E., Żurek H.: Pol. Arch. Wet. 11, 391, 1968.
- Schneidewind E. M., Kala H., Linzer B., Metzner J.: Pharmazie 30, 803, 1975.
- Starzyk J., Doleżał M.: V Między. Symp. Apiterapii, Kraków 1985, s. 116.
- Stojko A.: Doświadczalne i kliniczne badania nad stosowaniem ekstraktów propolisu. Praca habil., Inst. Wet., Puławy 1978.
- Stojko A., Furowicz A. J.: Medycyna Wet. 36, 110, 1980.
- Villanueva V. R., Bogdanovsky D., Barbier M., Gonnet M., Lavie P.: Ann. Inst. Pasteur 106, 292, 1964.
- Villanueva V. R., Barbier M., Gonnet M., Lavie P.: Ann. Inst. Pasteur 118, 84, 1970.

Adres autora: dr Tadeusz Meresta, ul. Husarska 1/11, 20-555 Lublin