

## Növényi extraktum hatásának vizsgálata talajlakó opportunistá humánpatogén baktériumok ellen

Tóth Csaba Tamás – Csubák Mária

Debreceni Egyetem Agrár- és Gazdálkodástudományok Centruma,  
Mezőgazdaság-, Élelmiszertudományi és Környezetgazdálkodási Kar  
Agrokémiai és Talajtani Intézet, Debrecen  
tcst@vipmail.hu

### ÖSSZEFOGLALÁS

Korábbi kísérleteink alapján több ízben is bebizonyosodott már az ürömlévelű parlagfűből nyert extraktum (*Ambrosia artemisiifolia*) antifungális és antibakteriális hatása. Dolgozatunkban a talajban is előforduló opportunistá humánpatogén *Staphylococcus nemzetség* két fajának különböző törzsein a *S. aureus* (110003, 25923) és a *S. saprophyticus* (110008) teszteltük a növényi hatóanyag biológiai aktivitását. A laboratóriumi eredmények alapján a parlagfűből készült extraktumunk bakteriosztatikusnak, illetve több esetben is baktericidnek bizonyult. Ezek alapján feltételezhetjük, hogy ez a mezőgazdasági és közegészségügyi vonatkozásban is rendkívül veszélyes gyomnövény tartalmaz biológiailag aktív komponenseket és alkalmas lehet antibakteriális készítmények előállítására.

**Kulcsszavak:** parlagfű, gyomnövény, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*

### SUMMARY

Our experiments have repeatedly shown that the extract of ragweed (*Ambrosia artemisiifolia*) is an antifungal and antibacterial component. In our paper we tested of the biological activity of the herbal substance against opportunistic human pathogenic bacteria strains (*Staphylococcus aureus* 110003 and 25923; *Staphylococcus saprophyticus* 110008). Our laboratory tests show that the extract is bacteriostatic and in several cases bactericid. We can assume that from the the agricultural and public health aspects can be extremely dangerous weed, contains biologically active components and it may be suitable for the prepare of antibacterial agents.

**Keywords:** ragweed, weed, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus*

### BEVEZETÉS

A *Staphylococcus* genus igen fontos nemzetség a *Micrococcaceae* baktériumcsaládban. A *Staphylococcus* egy Gram-pozitív, kemoorganotróf baktériumnemzetség. Mivel fakultatív anaerob fajok, jól szaporodnak mind aerob, mind anaerob körülmények között. A genus fajainak sejtjei gömbölyűek, 0,5–1,6 µm átmérőjűek, párban vagy jellemzően több síkban történő osztódás eredményeként szabálytalan csomókban (szőlő-fürtökben) fordulnak elő. Nevüket 1880-ban Ostgontól kapták a görög „stafilé” (szőlőfürt) szóból. Mozgásra nem képesek. Savtermelés mellett a szénhidrátokat széles spektrumban képesek hasznosítani, optimális szaporodási hőmérsékletük 35–40 °C (Gergely, 2003).

A tok nélküli törzsek agar táptalajon való szaporítása során megfigyelhető, hogy a kolóniák sima tapintásúak, domborúak, csillogók, kerek formájúak és

átlátszók. A telep öregedésével a kolóniák majdnem teljesen átlátszóak lesznek. A tokkal rendelkező törzseknél a telepek általában kisebbek, csillogó, nedves felülettel. A tárolás során a felület elnyálkásodhat, és a növekedés a táptalaj teljes vastagságára kiterjedhet. A telepek pigmentációja változó, a törzsek legtöbbször azonban kimutatható a kolóniák, illetve a sejtek kis mértékű festődése. A szürkétől a sárgás árnyalatú szürkésfehéren és sárgás narancson át a narancsig terjedhet. Mint potenciális kórokozót megtalálhatjuk melegvérű állatok és az emberek bőrén, faggyúmirigyekben, orrban, torokban, köpetben, székletben, anyatejben, élelmiszerekben, talajban és a környezetben is. A normál flóra állandó, vagy átmeneti tagja, típusos gennykeltő baktériumok. Kórházi, főleg szülészeti, csecsemő- és műtétet osztályokon gyakran okoz seb fertőzéseket (Czirók, 1999).

A *Staphylococcus aureus* telepei tápagaron arany-sárgák, véres agaron (birkavér) szürkésárgák, és béta hemolitikus udvarral rendelkeznek (1. ábra). Exokoaagulázt termel, ami a fibrinogént fibrinné alakítja, ezáltal a vért megalvasztja (Balázs és Naár, 1996).

1. ábra: *Staphylococcus aureus* telepek véres agaron



Figure 1: *Staphylococcus aureus* colonies on blood agar

A *S. aureus* törzsek különböző toxinokat és enzimeket termelnek, melyek meghatározzák patogenitásának mértékét. A *S. aureus* szinte az összes emberi szervben okozhat gennyes folyamatokat helyi fertőzés vagy septicaemia útján kialakult másodlagos góccok formájában (Dobszai, 1982). Sporadikusan és intézeti járványokban fordulhat elő (Olofsson et al., 2011). Az epidemiológiai szempontból fontosabb betegedések a kórokozó behatolási kapujától függően a következők:

1. A bőr megbetegedései: folliculitis, carbunculus, panaritium, abscessus, furunculus, fonal- és műtési seb gennyedése, gennyedő decubitus, *Staphylococ-*

- cus scarlatoid, Ritter kór (toxikus epidermalis necrolysis - leforrázott bőr szindróma), impetigo, pemphigus neonatorum.
2. Légúti megbetegedések: mandulagyulladás, melléküreg-gyulladások, tüdőgyulladás és mellhártyagyulladás.
  3. Enterális megbetegedések: csecsemőkori enterocolitis staphylococcica járványosan is előforduló kórkép, az emésztőszervek gennyes megbetegedései, mint postoperatív fertőzések (peritonitis stb.) és ételmérgezés (Staphylococcus toxaemia).
  4. A húgy-ivarrendszer megbetegedései: a húgyszervek, az emlő, a méh *Staphylococcus* fertőzései lehetnek sporadikus vagy kórházi fertőzések következményei. A vetéléssel, szüléssel és a gyermekágygal összefüggő szövődmények (pl. febris puerperalis) rendszerint nosocomialis fertőzések.
  5. Érzékszervek megbetegedései: leggyakoribb az otitis media.
  6. A *Staphylococcus septicaemia*: rendszerint nem önálló kórkép, valamely lokális fertőzés generalizálódása következtében jön létre, és különböző szervekben hozhat létre gennyes gyulladásokat.
  7. Toxicus shock syndroma: a *Staphylococcus aureus* toxicus shock syndroma toxin-1-et termelő törzsei okozzák. Tünetek: magas láz, hányás, hasmenés, hypotensio, sock (Beers és Berkow, 1999).

A virulens típusok évekig fennmaradhatnak, gyakran akut, hányással jelentkező csoportos ételmérgezéseket okozhatnak. A tünetekért felelőssé tehető a termelt enterotoxin (bélrendszer működésére ható, lásd exotoxin). Élelmiszehigiéniai szempontból az ételmérgezésekben a beteg eredetű és az élelmiszerekből, a környezetből kimutatható *Staphylococcusok* jelentősége az enterotoxin termelőképességének vizsgálatával bizonyítható. A különböző kémiai és fizikai behatásokkal szemben ellenállóbb, mint a legtöbb spóra nélküli mikroba. Gennyben, váladékokban, fehérműn, táptalajokon hetekig életképes marad. A jód- és klórtartalmú fertőtlenítőszeres hamar elölik. Az etil-alkohol és az acetone nem pusztítja el. Mivel nem képeznek spórát, ezért száraz és nedves hővel is előlhetők a fehérje denaturáció miatt (Gergely, 2003).

A *Staphylococcus saprophyticus* az emberi bőr normál flórájának is tagja, megtalálható a genitáliákon, a perianalis és periurethralis környéken. Felfokozott szexuális aktivitás esetén fiatal nőknél recidiváló akut cystitist okozhat. Hemagglutinin tapadási faktorával, vagy közvetlenül tapad az uroepithelialis sejtekhez. Erős uráz aktivitásuk helyi ammóniaképzéssel irritálja a húgyhólyag nyálkahártyáját, sőt még hemolizáló hatású exoproteint is termelhetnek, mely véres vizeletet okoz. Mi a *S. saprophyticus* 110008-as törzsével dolgoztunk (Tenke et al., 2002; Sobotová, 2011).

## ANYAG ÉS MÓDSZER

### A növényi hatóanyag kinyerése

Az ürömlévelű parlagfűvet kézzel, gyökerestül gyűjtöttük be a virágzás előtt. A súlyállandóságig történő szárítást és darálást követően a darálékból különböző alkoholokkal nyertük ki a hatóanyagot (Raynei, 2000). Így egy sötétzöld színű, enyhén olajos állagú, erős illatú extraktumot kaptunk. Illata leginkább a már ismert gyógynövény készítményekhez hasonló.

### Mikrobiológiai vizsgálatok

A talajból is izolálható baktériumainkat véres (birkavér) agaron tartottunk fenn. A *S. aureus* exokoagulázt termel, ami a fibrinogént fibrinné alakítja (Balázs és Naár, 1996). A *S. saprophyticus* nem termel koagulázt. A két faj elkülönítése tehát koaguláz próbával lehetséges (Czirók, 1999). Fiziológias sóoldatban 105 sejt/cm<sup>3</sup>-es baktérium szuszpenziót állítottunk be. A sejtszámolást Bürker-kamrával végeztük. A szuszpenzió 1 cm<sup>3</sup>-ét szélesztettük a táptalajok felszínére, vagy kevertük el a még meg nem dermedt táptalajjal lemezöntésnél. A vizsgálatok során a táptalajokhoz – 15 cm<sup>3</sup> véres agar táptalaj Petri-csészénként – az extraktumból készített 10%-os és 20%-os törzsoldatokból adagoltunk különböző mennyiségeket (2. ábra). Így Petri-csészénként a táptalaj 0 mg, 150 mg, 200 mg, 300 mg, 400 mg és 500 mg extraktumot tartalmazott, ily módon a „mérgezett agar” módszerrel vizsgáltuk a parlagfű hatóanyag gátló hatását a *Staphylococcus*-okra (Szabó et al., 2010).

A termosztálás 35 °C-on, sötétben történt. Miden esetben 5 párhuzamos leoltást készítettünk. Mivel ki akartuk zárni a parlagfű kivonat oldószerének gátló hatását, ezért a kivonószerezrel kontroll vizsgálatokat végeztünk.

2. ábra: *Staphylococcus aureus* telepek sötétzöld parlagfű-extraktummal kevert véres agaron

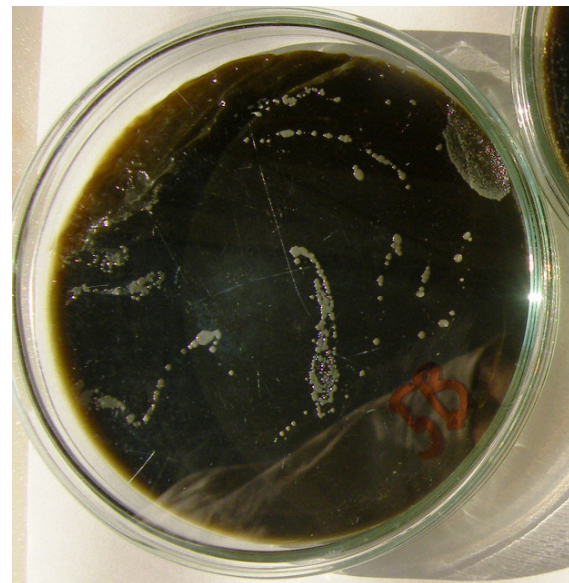


Figure 2: *Staphylococcus aureus* colonies on blood agar mixed with dark green ragweed extract

### EREDMÉNYEK, KÖVETKEZTETÉSEK

Kísérleti eredményeink szerint elmondható hogy a két faj törzsei különböző módon reagáltak a parlagfű kivonattal „mérgezett” agarra. Eltérő mértékű növekedést figyelhettünk meg akkor is, ha ugyanannyi parlagfű extraktumot tartalmazó táptalaj felületére szélesztettünk, vagy a baktérium-szuszenziót a kb. 40 °C-os (még folyékony) táptalajba kevertük (Szabó et al., 2010).

A *Staphylococcus aureus* 110003-as törzs esetén a szélesztésnél már a leoltást követő napon – a kontrollhoz viszonyítva gyengébben – megindult a telepek fejlődése 100 mg kivonat mellett. A lemezöntéses eljárásnál csak a leoltás után 2 nappal indult meg az intenzív növekedés, 150 mg mellett azonban 4 napnak kellett eltelnie az első telepek megjelenéséig. Érdekes, hogy a szélesztésnél 150 mg, 200 mg és 300 mg kivonat mellett nagyon hasonlóan viselkedtek a tenyészetek, és csak 400 mg és 500 mg esetén beszélhetünk erősebb gátlásról. A lemezöntéses eljárás esetében hatékonyabbnak bizonyult a gátlás, 400 mg és 500 mg-os dózis, már egy héten át képes volt gátolni a *S. aureus* növekedését (1. és 2. táblázat).

A *Staphylococcus saprophyticus* (110008) esetében lemezöntésnél először (a kontrollt leszámítva) egy hét múlva indultak fejlődésnek a telepek (3. táblázat). Ebben az esetben azonban – bár különböző telepszámmal –, de egyszerre indult meg a növekedés a 100 mg, 150 mg, 200 mg parlagfű extraktum mennyiség mellett. Vizsgálati periódusunk alatt nem tapasztaltunk fejlődést 300 mg, 400 mg és 500 mg dózisonál sem. A szélesztéses eljárás esetén az eredmények nehezebben értékelhetők, de a 400 mg és 500 mg parlagfű kivonat itt is

elég volt ahhoz, hogy megakadályozza a megfigyelésünk időtartama alatt a telepek kifejlődését (4. táblázat).

A 25923-as törzs érzékenyebben reagált a „mérgezésre”. Két napig gátolta a 100 mg-os, 3 napig a 150 mg-os adag. Körülbelül 1 hétig nem tapasztaltunk növekedést 400 mg-nál, és ami igen meglepő, az 500 mg több mint 2 héten át gátolta a *Staphylococcus aureus* telepek megjelenését (5. táblázat). Mivel a 110003-as törzs esetén is hatékonyabbnak bizonyult a lemezöntés, ezért a 25923-as törzssel nem csináltunk szélesztést. Bizonyára a légköri oxigénnel van összefüggésben a jelenlegben megfigyelhető különbség.

Ausztrál kutatók különböző ausztrál növények leveléből (*Eremophila alternifolia*, *Eremophila duttonii*, *Amyema quandong*, *Lepidosperma viscidum*) készült extraktumok gátló hatását már igazolták MRSA ellen (Palombo és Semple, 2002). Egy afrikai kutatócsoport, pedig methicillin és vancomycin rezisztens *Staphylococcus aureus*-okon (MRSA és VRSA) kísérletezett. Eredményeik szerint a *Nymphaea lotus* (Nymphaeaceae) leveléből készült kivonat gátolta ezeknek a sebekből izolált fajoknak a növekedését (Yah et al., 2010).

1. táblázat

*Staphylococcus aureus* (110003) telepek számának alakulása az eltérő kísérleti körülmények mellett – lemezöntéses módszernél

Parlagfű kivonat (mg/15 cm <sup>3</sup> táptalaj)(1)	Átlagos telepszám (db) a leoltástól eltelt napok függvényében(2)						
	1	2	4	7	9	11	16
0	2	*	*	*	*	*	*
100	0	*	*	*	*	*	*
150	0	0	74	77	*	*	*
200	0	0	67	*	*	*	*
300	0	0	54	50	*	*	*
400	0	0	0	23	91	120	*
500	0	0	0	2	11	33	*

\*Megszámlálhatatlan mennyiségű telep(3)

Table 1: Number of *Staphylococcus aureus* (110003) colonies in the different experimental conditions on poured agar plates Ragweed extract (mg 15 cm<sup>-3</sup> medium)(1), Average number of colonies (db) grown in the past day, depending on the days of inoculation(2), \*Uncountable amounts of colonies(3)

2. táblázat

*Staphylococcus aureus* (110003) telepek számának alakulása az eltérő kísérleti körülmények mellett – szélesztéses módszernél

Parlagfű kivonat (mg/15 cm <sup>3</sup> táptalaj)(1)	Átlagos telepszám (db) a leoltástól eltelt napok függvényében(2)					
	1	3	6	8	10	15
0	*	*	*	*	*	*
100	16	*	*	*	*	*
150	0	*	*	*	*	*
200	0	*	*	*	*	*
300	0	*	*	*	*	*
400	0	27	227	*	*	*
500	0	73	122	165	156	171

\*Megszámlálhatatlan mennyiségű telep(3)

Table 2: Number of *Staphylococcus aureus* (110003) colonies in the different experimental conditions with spread plate technique Ragweed extract (mg 15 cm<sup>-3</sup> medium)(1), Average number of colonies (db) grown in the past day, depending on the days of inoculation(2), \*Uncountable amounts of colonies(3)

3. táblázat

*Staphylococcus saprophyticus* (110008) telepek számának alakulása az eltérő kísérleti körülmények mellett – lemezöntéses módszernél

Parlagfű kivonat (mg/15 cm <sup>3</sup> táptalaj)(1)	Átlagos telepszám (db) a leoltástól eltelt napok függvényében(2)						
	1	2	4	7	9	11	16
0	0	1	18	48	57	66	*
100	0	0	0	1	2	4	5
150	0	0	0	5	12	*	*
200	0	0	0	151	*	*	*
300	0	0	0	0	0	0	0
400	0	0	0	0	0	0	0
500	0	0	0	0	0	0	0

\*Megszámlálhatatlan mennyiségű telep(3)

Table 3: Number of *Staphylococcus saprophyticus* (110008) colonies in the different experimental conditions on poured agar plates Ragweed extract (mg 15 cm<sup>-3</sup> medium)(1), Avarage number of colonies (db) grown in the past day, depending on the days of inoculation(2), \*Uncountable amounts of colonies(3)

4. táblázat

*Staphylococcus saprophyticus* (110008) telepek számának alakulása az eltérő kísérleti körülmények mellett – szélesztéses módszernél

Parlagfű kivonat (mg/15 cm <sup>3</sup> táptalaj)(1)	Átlagos telepszám (db) a leoltástól eltelt napok függvényében(2)					
	1	3	6	8	10	15
0	2	5	14	25	27	27
100	0	0	4	4	5	5
150	0	0	0	1	1	1
200	0	0	104	148	153	*
300	0	0	0	1	1	1
400	0	0	0	0	0	0
500	0	0	0	0	0	0

\*Megszámlálhatatlan mennyiségű telep(3)

Table 4: Number of *Staphylococcus saprophyticus* (110008) colonies in the different experimental conditions with spread plate technique Ragweed extract (mg 15 cm<sup>-3</sup> medium)(1), Avarage number of colonies (db) grown in the past day, depending on the days of inoculation(2), \*Uncountable amounts of colonies(3)

5. táblázat

*Staphylococcus aureus* (25923) telepek számának alakulása az eltérő kísérleti körülmények mellett – lemezöntéses módszernél

Parlagfű kivonat (mg/15 cm <sup>3</sup> táptalaj)(1)	Átlagos telepszám (db) a leoltástól eltelt napok függvényében(2)						
	1	2	3	4	6	9	15
0	*	*	*	*	*	*	*
100	0	13	146	*	*	*	*
150	0	0	184	*	*	*	*
200	0	0	0	57	*	*	*
300	0	0	0	0	*	*	*
400	0	0	0	0	45	102	*
500	0	0	0	0	0	0	37

\*Megszámlálhatatlan mennyiségű telep(3)

Table 4: Number of *Staphylococcus aureus* (25923) colonies in the different experimental conditions on poured agar plates Ragweed extract (mg 15 cm<sup>-3</sup> medium)(1), Avarage number of colonies (db) grown in the past day, depending on the days of inoculation(2), \*Uncountable amounts of colonies(3)

Összegzésként elmondható, hogy a parlagfűből készült extraktumunk bakteriosztatikusnak, illetve több esetben is baktericidnek bizonyult. A nagyszámú, 1\*10<sup>5</sup> darab baktériumsejtből, sok esetben ennek csak egy töredéke fejlődött ki. Kísérleteink igazolták, hogy

a parlagfűből nyert extraktum hatékonyan gátolja a talajlakó opportunistá humánpatogén baktériumok szaporodását. Azzal a feltételezéssel élhetünk, hogy a parlagfű, mint mezőgazdasági és közegészségügyi vonatkozásban is rendkívül veszedelmes gyomnövény

felhasználható természetes eredetű, antibakteriális készítmények hatóanyagaként. Így a parlagfűvet már nem csak haszontalan gyomnövényként kezelhetjük, hanem

úgy is tekinthetünk rá, mint egy biológiailag aktív komponenseket tartalmazó potenciális gyógynövényre.

#### IRODALOM

- Balázs S.–Naár Z. (1996): Mikrobiológiai alapok. Bessenyei György Könyvkiadó. Nyíregyháza.
- Beers-Berkow (szerk.) (1999): MSD orvosi kézikönyv: diagnózis és terápia. Melania Kiadó. Budapest.
- Czirók É. (1999): Klinikai és járványügyi bakteriológia. Melánia Kft. Budapest.
- Dobszai L. (szerk.) (1982): A beteg gyermek I. Medicina Könyvkiadó. Budapest.
- Gergely L. (szerk.) (2003): Orvosi mikrobiológia. Alliter Kiadói és Oktatásfejlesztő Alapítvány. Budapest.
- Olofsson, M.–Lindgren, P.–Östgren, C.–Midlöv, P.–Mölstad, S. (2011): Colonization with *Staphylococcus aureus* in Swedish nursing homes: A cross-sectional study.
- Palombo, E.A.–Semple, S.J. (2002): Antibacterial activity of Australian plant extracts against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin-resistant enterococci (VRE). *Journal of basic microbiology*.
- Raynei, D.E. (2000): Extraction. [In: Cooke, M.–Poole, C.F. (eds.) *Encyclopedia of Separation Science*.] Academic Press.
- Sobotová, D. (2011): Urinary tract infections and chronic renal failure. *Vnitr Lek*. 2011. Jul.–Aug. Czech. 57. 7–8: 626–30.
- Szabó A.–Keresztúri P.–Szigeti Zs.–Peles F.Á. (2010): Mikrobiológiai praktikum. Debreceni Egyetem AMTC. Debrecen.
- Tenke P.–Szalka A.–Mészner Zs.–Romics I. (2002): Húgyúti bakteriális infekciók. *Diagnosztikus és Terápiás Irányelv. Magyar Urológia*. 14: 3.
- Yah, C.S.–Akinjogunla, J.O.–Eghafona, N.O.–Fo, O. (2010): Antibacterial activity of *Nymphaea lotus* (Nymphaeaceae) leave extract against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) from clinical samples. *Electronic Journal of Environmental Agricultural and Food Chemistry*.

