

23. Mitchell P.: Adv. Enzym. 29, 33, 1968.
 24. Morowitz H. J.: Entropy for biologists. Academic Press, New York, 1970.
 25. Morris J. G.: A biologist's physical chemistry. Edward Arnold, London, 1972.
 26. Nicolson G. L.: Bioscience 28, 441, 1978.
 27. Pauly H.: Biophysik 10, 7, 1973.
 28. Prigogine E.: Science 201, 777, 1978.
 29. Przystański S.: Post. Biol. Kom. 2, 165 1975.
 30. Singer S. J.: A. Rev. Biochem. 43, 805, 1974.
 31. Sobiech K. A., Madej J. A., Fiszler Ł., Mazurkiewicz M.: Arch. Immun. Ther. 34, 35, 1986.
 32. Spring-Milles E., Elias T. J.: Science 183, 947, 1975.
 33. Warren L., Fuhrer J. P., Buck C. A.: Proc. natn. Acad. Sci. USA 69, 1338, 1972.
 34. Weibel E. R., Zahler P.: Helv. Med. Acta 6, 353, 1971.
 35. Yamamoto K., Terayama H.: Cancer Res. 33, 2257, 1973.

Adres autora: doc. dr hab. Janusz A. Madej, ul. Liskego 4/5, 50-345 Wrocław

ZDZISŁAW GLIŃSKI, JAN JAROSZ, TADEUSZ MERESTA
 Lublin

Przeciwdrobnoustrojowe działanie propolisu

Ostatnio w wielu krajach wzrosło zainteresowanie propolisem jako substancją o właściwościach leczniczych. Pojawiła się pewnego rodzaju moda wykorzystywania wyciągów propolisu jako naturalnego środka terapeutycznego w leczeniu chorób mało podatnych na znane preparaty farmakologiczne (60). Wykazano bowiem dużą przydatność preparatów zawierających ekstrakty kitu pszczelego w terapii ropnych zapaleń skóry o etiologii bakteryjnej i grzybiczej (17, 43, 45, 71), czyrarczycach (3, 29, 57), egzemach (42), owrzodzeniach troficznych podudzi i odleżynach (29), ropnych zapaleniach kości (53), leczeniu ran zakażonych połączeniach z ubytkami tkanek (28, 48). Propolis stosowano też z powodzeniem w stomatologii (14, 56), ginekologii (63, 64), pneumologii (24), a także w weterynarii — zwłaszcza w leczeniu trudno gojących się ran u psów i kotów (16, 17, 21), zapaleń wymion u krów na tle zakażenia bakteriami i drożdżakami (11).

Wartość preparatów o działaniu przeciwbakteryjnym zależy od ich właściwości bakteriostatycznych i bakteriobójczych. Również ważną rolę odgrywa ich trwałość, zwłaszcza w formach użytkowych, oraz poziom aktywności w płynach ustrojowych. Wyróżnia się dwa podstawowe mechanizmy ingerencji w układy żywej komórki, na których opiera się przeciwbakteryjna aktywność związków naturalnych; oddziaływanie na enzymy oraz oddziaływanie na struktury komórkowe. Obydwa mechanizmy są efektem swoistego połączenia substancji aktywnej z jej miejscem działania w komórce docelowej. Jednakże w przypadku substancji tak złożonej jak propolis, gdzie o aktywności przeciwdrobnoustrojowej decyduje nie tylko obecność pewnych ściśle określonych związków chemicznych, ale ich wzajemne proporcje i zaangażowanie w różnych reakcjach metabolicznych, trudno jednoznacznie ustalić mechanizm aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Dodatkową trudność w określeniu zależności między składem propolisu a jego aktywnością hamującą lub niszczącą drobnoustroje powoduje brak dokładnej analizy składu substancji warunkujących aktywność. Przy braku wyczerpujących danych o mechanizmie działania propolisu zarówno na poziomie komórkowym, jak i molekularnym, można jedynie do-

mniemywać, że mechanizm działania przeciwdrobnoustrojowego propolisu jest złożony, zaś efekt ostateczny, jakim jest działanie bakteriostatyczne, jest sumą działań cząstkowych poszczególnych składników. Istnieją sugestie, że ekstrakty propolisu wpływają raczej na błonę cytoplazmatyczną lub błonę komórkową komórki bakteryjnej (2, 7), a nie na metabolizm kwasów nukleinowych lub syntezę białka. W przypadku flawonoidów stanowiących jeden z najważniejszych aktywnych komponentów propolisu, mechanizm ich działania polega na zmianie przepuszczalności naturalnych błon organizmów żywych. Tę hipotezę potwierdzają obserwacje Meresty (35) wskazujące na brak zależności między fazą wzrostu bakterii a aktywnością ekstraktu propolisu wyrażoną wartością MIC (minimal inhibitory concentration) i MBC (minimal biocidal concentration). Jak się wydaje, w przypadku hamowania metabolizmu kwasów nukleinowych lub syntezy białka działanie bakteriostatyczne i bakteriobójcze winno zaznaczać się najszybciej w stosunku do młodych komórek, w których te procesy biochemiczne przebiegają najaktywniej.

Racjonalne podstawy apiterapii przy użyciu wyciągów propolisu są możliwe w oparciu o wyjaśnienie składu chemicznego, właściwości biologicznych, a zwłaszcza siły przeciwbakteryjnej, zakresu zmienności związanej z pojawianiem się oporności, toksycznością i działaniem ubocznym, farmakokinetyki preparatów opartych na propolisie, wpływu czynników fizycznych i chemicznych na aktywność ekstraktów, a także wpływu płynów ustrojowych i wydzielin (np. mleko) na kształtowanie się wartości MIC i MBC.

Substancje warunkujące aktywność przeciwdrobnoustrojową kitu pszczelego

Propolis (kit pszczeli) jest mieszaniną substancji żywicznych i balsamicznych oraz związków biologicznie czynnych z dodatkiem wosku i mechanicznych domieszek, wytwarzaną przez pszczoły. Skład jakościowy i ilościowy propolisu zależy od rodzaju flory w danej okolicy i warunków klimatycznych. Dotychczas najbardziej dokładną charakterystykę chemicznego składu propolisu podali Szaflarska-Stojko

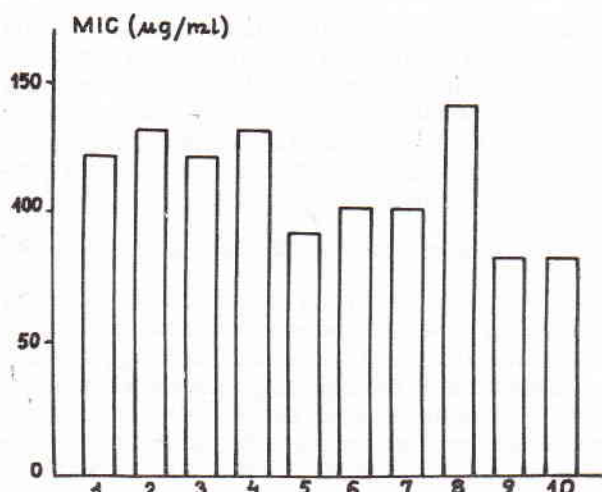
i Stojko (65). Według tych autorów propolis zawiera około 50% substancji żywicznych, 13% substancji lotnych, 10% wosku pszczelego, 9% wosków roślinnych i 8% substancji garbnikowych; inne liczne domieszki stanowią pozostałe 10% składu. Substancje warunkujące aktywność biologiczną, zwłaszcza aktywność przeciwbakteryjną propolisu, wzbudziły zainteresowanie wielu badaczy. W 1911 r. Küstenmacher (30) wykazał obecność w kicie pszczelim kwasu cynamonowego i alkoholu cynamyłowego, w tym samym roku Dietrich (10) stwierdził obecność waniliny, zaś Jaubert (22) wykazał w propolisie chryzynę. Jednakże dopiero badania Villanueva i wsp. (68, 69) opublikowane w 1964 r. umożliwiły wykrycie związków o działaniu przeciwbakteryjnym z grupy flawonoidów (primuletyna, chryzyna, tektochryzyna, akacetyna, galangina, moryna, robinetyna, mirycetyna, kwarcetyna, kemferol, izoramnetyna). Dalsze badania umożliwiły izolację pinocembryny i isalpiny oraz udokumentowały działanie przeciwbakteryjne pinocembryny w stosunku do *B. subtilis*. Stosując chromatografię kolumnową oraz chromatografię cienkowarstwową (57) wykazano ponadto w wyciągach kitu pszczelego 5-hydroksy-4,7-dwuoksyflawon, pinostrobinę, ester benzyłowy kwasu p-kumarowego oraz ester kwasu kofeinowego z alkoholem aromatycznym. W dalszych badaniach stwierdzono w propolisie kwasy tłuszczowe (20), sterydy, seskwiterpeny i pochodne fenolokwasów (32, 33, 34). Podjęto też próby wyjaśnienia roli flawonoidów jako czynników warunkujących działanie bakteriobójcze ekstraktów propolisu (38). Okazało się, że kemferol, kemferyd, kwercetyna i mirycetyna działają nie tylko bakteriostatycznie, ale i bakteriobójczo. Wartość MIC tych substancji w stosunku do *S. aureus* 209P wynosi 35—50 ug/ml, w stosunku do *B. subtilis* 1399 od 45 do 70 ug/ml; natomiast wartość MBC w stosunku do *S. aureus* wynosi 130 ug/ml dla kemferolu, 120 ug/ml dla kemferydu i mirycetyny i 280 ug/ml dla kwercetyny. W dalszych badaniach wykazano, że aktywnością przeciwdrobnoustrojową cechuje się też ramnetyna, moryna, robinetyna i naringenina.

Pomimo, że w ostatnich latach tak dużo badań poświęcono identyfikacji substancji, które są odpowiedzialne za aktywność przeciwdrobnoustrojową propolisu, ze względu na duże różnice nie tylko w ilościowym, ale i jakościowym składzie chemicznym, który zmienia się w zależności od źródła pochodzenia kitu i metod ekstrakcji, nadal istnieje konieczność dalszej identyfikacji składników aktywnych warunkujących działanie przeciwdrobnoustrojowe oraz doskonalenie metod oceny tej aktywności. Wiadomo, że nie zawsze występują ściśle korelacje między aktywnością oznaczoną *in vitro* i obserwowaną *in vivo* w stosunku do określonych drobnoustrojów. Z reguły w badaniach *in vitro* uzyskuje się dane ogólne o wrażliwości mikro-

organizmów na ekstrakty propolisu, które nie wystarczają jednak do podejmowania ostatecznych decyzji klinicznych. Jedynie obserwacje kliniczne ściśle określonych zakażeń ludzi i zwierząt, w których zastosowano wyciągi propolisu mogą stanowić podstawę do uznania propolisu jako substancji leczniczej.

Otrzymywanie aktywnych wyciągów propolisu

Ze względu na brak rozpuszczalności kitu pszczelego w wodzie poszukiwano ekstrahentów, które umożliwiłyby uzyskanie wyciągów o dużej aktywności biologicznej. Kluczowe znaczenie w otrzymywaniu aktywnych ekstraktów propolisu, poza materiałem wyjściowym, ma rodzaj rozpuszczalników i warunki ekstrakcji, które umożliwiają otrzymanie postaci aktywnych związków chemicznych zawartych w surowym kicie. Ekstrakty winny cechować się przy tym stabilnością aktywności przeciwbakteryjnej w zalecanych warunkach przechowywania. Ze względu na złożony skład chemiczny propolisu (flawonoidy, hydroksykwasy, terpeny, garbniki, olejki eteryczne, żywice, balsamy, woski) zachodzi konieczność doboru ekstrahenta względnie kombinacji rozpuszczalników organicznych. Rozpuszczalniki, w skład których wchodzi alkohol metylowy, alkohol etylowy, eter etylowy, aceton i octan metylu umożliwiają ekstrakcję z surowego kitu pszczelego większości biologicznie aktywnych komponentów (62, 70), zwłaszcza flawonoidów. Hydroksykwasy są rozpuszczalne w metanolu, etanolu, eterze etylowym i chloroformie (49, 62), terpeny i olejki eteryczne w alkoholach i chloroformie, garbniki, żywice i balsamy w alkoholach. Związki flawonowe, których obecność w propolisie w głównej mierze decyduje o aktywności przeciwbakteryjnej są dobrze rozpuszczalne w niższych alkoholach, trudno rozpuszczalne w wodzie i praktycznie nierozpuszczalne w chloroformie, benzenie i innych rozpuszczalnikach hydrofobowych (70). Stąd też zarówno do badań laboratoryjnych, jak i w celach terapeutycznych są stosowane głównie ekstrakty etanolowe (16, 61), względnie wyciągi uzyskane przez ekstrakcję kitu mieszaninami rozpuszczalników, najczęściej metanolu, eteru i chloroformu, lub octanu etylowego w miejsce chloroformu (68, 69). Mieszaniny ekstrahentów, zwłaszcza kompozycja złożona z metanolu (etanolu) -eteru etylowego-acetonu-octanu etylowego (1:1:1:1, v/v) (35) daje z tego samego surowca wyciągi o najwyższej aktywności przeciwbakteryjnej dzięki zdolności uwalniania bądź większych ilości, bądź bardziej złożonych kompozycji substancji biologicznie czynnych o aktywności przeciwbakteryjnej zawartych w propolisie (ryc. 1). Przez odpowiedni dobór mieszanin rozpuszczalników pod względem jakościowym i proporcji ilościowych możliwe jest uzyskanie z tego samego surowca wyciągów najbardziej aktywnych.



Ryc. 1. Wartości MIC ($\mu\text{g/l}$) w stosunku do *S. aureus* 209P ekstraktów propolisu uzyskanych przy użyciu różnych rozpuszczalników. 1 — etanol; 2 — metanol; 3 — propanol; 4 — aceton; 5 — eter etylowy; 6 — octan etylowy; 7 — chlorek metylenu; 8 — chloroform; 9 — etanol—eter etylowy—aceton—octan etylowy; 10 — metanol—eter etylowy—aceton—octan etylowy (35)

W rutynowych metodach otrzymywania ekstraktów propolisu stosunek surowca do ekstrahenta wynosi zwykle 1:10 (4, 15, 17, 61). Prezentowany jest przy tym pogląd (60), że nawet niewielkie zmiany w stosunkach ilościowych kytu pszczelego do rozpuszczalnika, jakim jest etanol wpływają na aktywność przeciwbakteryjną ekstraktu. Wykazano jednak (35), że przy stosowaniu złożonych mieszanin rozpuszczalników do ekstrakcji kytu pszczelego, zwłaszcza mieszaniny etanol-eter etylowy-aceton-octan etylowy w 18°C przy czasie ekstrakcji wynoszącym 48 godzin, stosunki ilościowe materiału wyjściowego do mieszaniny rozpuszczalników w dość szerokich granicach nie wpływają na aktywność przeciwbakteryjną wyciągów.

Rozpuszczalniki stosowane do ekstrakcji kytu pszczelego są odparowywane z reguły w temperaturze pokojowej przy zmniejszonym ciśnieniu (60, 61) lub w 37°C (54). Odparowywanie rozpuszczalników użytych do ekstrakcji w zakresie 37—105°C nie wpływa ujemnie na aktywność bakteriostatyczną wyciągów. Może jednak zwiększać aktywność bakteriobójczą w stosunku do szczepu referencyjnego *S. aureus* 209P, wrażliwego na działanie kytu pszczelego.

Ocena wrażliwości minimalnego stężenia hamującego (MIC) oraz stężenia bakteriobójczego (MBC)

Wartość preparatów przeciwdrobnoustrojowych zależy od zdolności hamowania wzrostu lub niszczenia mikroorganizmów. Dla preparatów o działaniu przeciwbakteryjnym obiektywnym kryterium oceny jest wartość MIC i MBC oraz indeks wyrażony stosunkiem MBC do MIC. Dotychczas w ocenie aktywności przeciwbakteryjnej propolisu jest stosowana rutynowo me-

toda mikrobiologiczna z użyciem różnych podłoży stałych i płynnych jako podłoży wzrostowych drobnoustroju testowego. We wszystkich tego rodzaju oznaczeniach cały szereg czynników wywiera istotny wpływ na wartość MIC i MBC. Kluczowe znaczenie ma dobór odpowiedniego szczepu bakteryjnego, faza, a zwłaszcza szybkość wzrostu drobnoustroju testowego, rodzaj i pH podłoża hodowlanego, gęstość hodowli (zależna od wyjściowego inokulum i szybkości wzrostu), stężenie substancji aktywnej(nych) w badanym wyciągu, a także częstość pojawiania się mutantów opornych na działanie przeciwbakteryjne propolisu. W oznaczeniu ilościowym aktywności przeciwbakteryjnej wyciągów propolisu stosuje się zwykle podłoże Muller Hinton, a jako szczep wzorcowy *S. aureus* 209P (Oxford).

Badanie dynamiki zakażeń bakteryjnych u ludzi i zwierząt oraz mechanizmów działania substancji o aktywności bakteriostatycznej i bakteriobójczej stanowią podstawę do określenia parametrów doboru fazy wzrostu drobnoustroju do oznaczania jego wrażliwości. Rozwój zakażeń przypada na fazę logarytmicznego wzrostu, w której rzadko pojawiają się mutanty, a synteza wszystkich składników komórki jest uporządkowana i odbywa się ze stałą szybkością. Dlatego też w oznaczeniach wartości MIC stosuje się drobnoustroje z fazy logarytmicznego wzrostu. Stosując *S. aureus* 209P jako szczep referencyjny, zarówno wiek inokulum, jak i faza wzrostu wpływają zasadniczo na wynik oznaczenia. Wykazano przy tym istnienie ścisłej zależności między wartością MIC a czasem inkubacji (35). Najmniejszą wartość MIC dla ekstraktów etanolowych uzyskano po 16 godz. kontaktu hodowli wzorcowego szczepu z wyciągiem propolisu. Odczyn podłoża stałego wg Jellaszewicza i wsp. (23) i podłoża płynnego wg Grove i Randall (19) bez dodatku glukozy i fosforanów w granicach 6,0—6,8 oraz faza wzrostu drobnoustroju testowego *S. aureus* 209P, podobnie jak wielkość inokulum nie wpływają na wyniki oznaczenia wartości MIC i MBC wyciągów propolisu. Uwzględniając fakt, że wartości MIC oznaczone na podłożu stałym i płynnym różnią się nieznacznie w podanych powyżej granicach pH, postuluje się oznaczanie aktywności przeciwbakteryjnej wyciągów propolisu na podłożach stałych metodą płytkową z użyciem jako szczepu referencyjnego *S. aureus* 209P. Określanie wartości MIC i MBC może stanowić podstawę do standaryzacji pod względem aktywności mikrobiologicznej wyciągów kytu pszczelego. Stosując metodę płytkową można przy tym łatwo wykryć ewentualne zanieczyszczenia testowanych szczepów innymi drobnoustrojami, a także wykazać pojawianie się spontanicznie powstających mutantów opornych na działanie wyciągów kytu pszczelego.

Wyciągi propolisu pochodzące z różnych regionów geograficznych różnią się siłą działania przeciwbakteryjnego, co wiąże się ze zróżnico-

waniem flory regionu i warunków klimatycznych (36, 55). Różnice w aktywności dotyczą też próbek kitu pochodzących z różnych rodzin nawet w tej samej pasiece (39). Niemniej jednak badania Meresty (35) wykazały, że zarówno w przypadku wyciągów etanolowych propolisu o wartościach MIC do 180 ug/ml, a także o wartościach 330 ug/ml i powyżej, występuje dość ścisła zależność między wartością minimalnego stężenia hamującego i wartością minimalnego stężenia bójczonego. Indeks działania bakteriobójczego w stosunku do *S. aureus* 209P, wyrażony ilorazem MBC do MIC dla 592 etanolowych ekstraktów propolisu pochodzących z terenu Polski z pasiek usytuowanych na obszarze 15 województw wynosi około 2. Wskazuje on na stosunkowo silne działanie bakteriobójcze propolisu niezależnie od miejsca pozyskiwania kitu pszczelego oraz na ścisłą zależność między obydwoma wartościami, które charakteryzują aktywność przeciwbakteryjną ekstraktów. Istnienie różnic w wartościach MIC dla wyciągów etanolowych propolisu pochodzących z różnych obszarów geograficznych i zebranych w różnych latach (55, 60) wskazuje na konieczność uwzględniania przy standaryzacji wyciągów propolisu nie tylko składu chemicznego, aktywności terapeutycznej, działania nieszkodliwego na organizm, także aktywności przeciwbakteryjnej wyrażonej wartością MIC i MBC.

Spektrum działania przeciwdrobnoustrojowego

Wykorzystanie wyciągów propolisu w terapii schorzeń o etiologii drobnoustrojowej wymaga określenia wrażliwości *in vitro* czynnika etiologicznego schorzenia. Pomimo, że tego typu badania prowadzono wrywkowo i nie zawsze na reprezentatywnej liczbie szczepów, to jednak w wielu przypadkach stanowią one dostateczną podstawę do oceny wrażliwości niektórych drobnoustrojów na wyciągi kitu pszczelego. Wykazano działanie związków zawartych w propolisie na *B. subtilis*, *Staph. aureus*, *E. coli*, *Candida albicans* (40, 41). Rozległe i wyczerpujące badania nad aktywnością ekstraktów propolisu w stosunku do różnych mikroorganizmów prowadziło wielu autorów: Mordowcew i Rukawisznikowa (42) na dermatofity, Mentzner i Schneidewind (41) na *C. albicans*, Popeljniak i wsp. (46) na *Aspergillus* i biosyntezę ochratoksyny A, Beheimer i wsp. (1), Cizmark i Trupl (5, 6) oraz Popescu i wsp. (47) na grzyby wywołujące schorzenia skóry. Badano również działanie przeciwpierwotniacze propolisu wobec *Trichomonas vaginalis* i *Toxoplasma gondii* (58, 59), na niektóre wirusy, a zwłaszcza na wirusa grypy i ospy krów (12, 13) oraz na wirusa żółtaczki zakaźnej człowieka (8). Scheller i wsp. (51) wykazali, że większość bakterii gram dodatnich i prątki gruźlicy są wrażliwe na ekstrakty propolisu, podczas gdy pałeczki gram ujemne i beztlenowce są z reguły odporne. Ba-

dania Józwicka (25) potwierdziły wcześniejsze obserwacje, że flawonoidy zawarte w propolisie hamują wzrost saprofitycznych prątków kwasoopornych oraz, że istnieje zależność między stężeniem flawonoidów a wielkością stref zahamowania wzrostu *Mycobacterium sp.* 279. Kit hamował też wzrost prątka gruźlicy typu ludzkiego H₃₇Rv (26). Badania Vechet (67) potwierdziły obserwacje Schellera i wykazały ponadto wrażliwość na wyciągi propolisu niektórych drożdżaków z rodzaju *Saccharomyces* i pleśni z rodzaju *Aspergillus*. Ocena wrażliwości drobnoustrojów wywołujących zapalenia gruczołu mlekowego u bydła wykazała, że wartość MIC dla 35 szczepów *S. aureus* wynosiła 90—120 ug/ml, dla 34 szczepów *Str. agalactiae* 50—70 ug/ml, zaś wartości MBC wynosiły odpowiednio 140—170 i 60—80 ug/ml (37).

Wrażliwość szczepów *B. larvae*, sprawcy zgnilca złośliwego czerwia pszczoły miodnej, o której donosi m.in. Lindenfelster (31) wymaga potwierdzenia na reprezentatywnym materiale w ściśle określonych warunkach doświadczalnych. Interesujące jest również spektrum działania propolisu na inne drobnoustroje patogenne dla czerwia i pszczoł oraz dla owadów tworzących entomofaunę pasieki.

Jakkolwiek nagromadzone dane wskazują na szerokie spektrum działania przeciwdrobnoustrojowego propolisu, obejmujące szeroki zakres mikroorganizmów (wirusy, bakterie, grzyby, pleśnie, pierwotniaki), to jednak częsty brak danych co do metodyki otrzymywania wyciągów propolisu, sposobów określania aktywności, a zwłaszcza brak dla wielu mikroorganizmów wartości MIC i MBC, nasuwa niekiedy wątpliwości co do wiarygodności prezentowanych wyników oznaczeń. Niemniej jednak ekstrakty propolisu z całą pewnością hamują wzrost i niszczą szerokie spektrum bakterii gram dodatnich, niektóre pałeczki gram ujemne, saprofityczne prątki kwasooporne, niektóre drożdżaki i pleśnie.

Aktywność propolisu w nośnikach i płynach ustrojowych

Wyciągi propolisu, zwłaszcza ekstrakty etanolowe, są stosowane bezpośrednio, względnie w różnorodnych nośnikach w celu zwiększenia penetracji składników czynnych wyciągu do tkanki oraz likwidacji drażniącego działania rozpuszczalników. Zarówno 80% glikol propylenowy — 1, 2, 80% glikole polietylenowe 200, 300, 400 i 600, 80% gliceryna i 80% sulfotlenek dwumetylu (DMSO) (35) nawet po 30 dobowym kontakcie z etanolowymi wyciągami propolisu w temperaturze pokojowej nie wpływają ujemnie zarówno na ich aktywność bakteriostatyczną, jak i na aktywność bakteriobójczą. Brak ujemnego wpływu DMSO stwarza możliwość jego wykorzystania do zwiększenia penetracji czynnych składników propolisu do głębiej położonych tkanek. Roztwory propolisu w glikolach

polietylenowych, które są obojętne dla tkanek i mają postać płynną w temperaturze pokojowej i temperaturze ciała mogą być wykorzystywane jako nośniki przy sporządzaniu nowych form preparatu.

Wiązanie leków z białkami krwi, tkanek i wydzielin ma zasadnicze znaczenie dla dalszych ich losów w ustroju, a w przypadku preparatów o działaniu przeciwdrobnoustrojowym decyduje o ich stężeniu w miejscu działania. Kluczową rolę w tych procesach odgrywa mechanizm i charakter wiązania substancji aktywnych z białkami, zwłaszcza krwi, a w przypadku gruczołu mlekowego z białkami mleka (18, 27). Lek związany z białkami nie przenika do tkanek, jest farmakologicznie nieaktywny i często tylko niewielki odsetek chemioterapeutyku jako wolna frakcja osiąga miejsce działania. Jakkolwiek obniżający wpływ białek surowicy krwi człowieka, krów, świń i białka mleka krowiego na aktywność przeciwbakteryjną propolisu jest udowodniony, to jednak problem charakteru połączeń aktywnych składników z białkami i ich odwracalności jest otwarty i wymaga badań farmakokinetycznych. Można przypuszczać, że podobnie jak w przypadku antybiotyków i sulfonamidów, albuminy krwi są zaangażowane w wiązaniu aktywnych składników wyciągów propolisu. Nie można przy tym wykluczyć udziału w tym procesie globulin, zwłaszcza frakcji alfa i beta. Fakt około dziesięciokrotnego obniżenia aktywności bakteriobójczej wyciągów etanolowych propolisu w mleku krowim musi być brany pod uwagę przed przystąpieniem do leczenia schorzeń gruczołu mlekowego (35).

Warunki przechowywania a aktywność wyciągów propolisu

Aktywność wielu substancji o działaniu przeciwbakteryjnym zależy od warunków i sposobu ich przechowywania, zwłaszcza od temperatury, dostępu tlenu i promieni słonecznych. Jakkolwiek dane co do czasu utrzymywania się niezmięnionej aktywności kitu pszczelego i jego wyciągów w określonych temperaturach podawane przez różnych autorów różnią się, to jednak wskazują one na dość dużą stabilność aktywności przeciwbakteryjnej ekstraktów w zakresie temperatur 4–18°C. W tych temperaturach wyciągi etanolowe nie traciły aktywności w stosunku do *S. aureus* 209P przez 18 miesięcy (65). Wykazano też (35) brak zmian zarówno w aktywności bakteriostatycznej, jak i bakteriobójczej wyciągów etanolowych propolisu przechowywanych w 18°C w naczyniach z przezroczystego szkła przy umiarkowanym dostępie światła nawet przez okres 45 miesięcy.

Ponieważ nadal brak wyczerpujących badań nad wpływem promieni słonecznych na aktywność wyciągów propolisu zaleca się powszechne przechowywanie kitu pszczelego jako surowca oraz jego wyciągów w hermetycznie zamk-

niętych naczyniach z ciemnego szkła w pomieszczeniach pozbawionych dostępu światła (65). Niemniej jednak Rybak i wsp. (50) podają, że propolis w postaci grudek i 5% roztworu etanolowego w 0 i 20°C bez dostępu i przy umiarkowanym dostępie światła utrzymuje aktywność na wyjściowym poziomie przez okres 6 miesięcy. Również Meresta (35) nie przypisuje światłu słonecznemu silnego działania inaktywującego.

Dalszych badań wymaga określenie wpływu liofilizacji zarówno na aktywność przeciwdrobnoustrojową propolisu, jak i na własności hydrofobowe wyciągów. Obserwacje Nastase i wsp. (44) oraz Tichonow i Salo (66) o utracie właściwości hydrofobowych ekstraktów kitu pszczelego po liofilizacji nie zostały potwierdzone. Być może autorzy ci stosowali odmienne metody ekstrakcji, bądź środki powierzchniowo czynne.

Aktywność przeciwdrobnoustrojowa propolisu stanowi tylko jedną składową jego złożonego i wielokierunkowego działania biologicznego na organizmy żywe. Substancje składowe odpowiedzialne za inne aktywności kitu pszczelego, mechanizmy działania farmakologicznego i farmakokinetyka były przedstawiane (1, 11, 53), względnie wymagają dalszych rozległych i kompleksowych badań i opracowań. Obserwowany postęp w apiterapii, który inicjuje podejmowanie badań podstawowych, winien przyczynić się do ostatecznego wyjaśnienia mechanizmu(ów) działania przeciwdrobnoustrojowego kitu pszczelego na poziomie subkomórkowym i molekularnym, a także do opracowania metod standaryzacji ekstraktów propolisu uwzględniających nie tylko jego aktywność przeciwbakteryjną.

Piśmiennictwo

1. Beheimer H., Braun W., Friedrich E., Kala H., Metzner I., Schneidewind E., Schveiberger R., Woźniak K. D.: Derm. Nachr. 159, 443, 1973.
2. Bentrak A., Russwan S., Szent-Gyorgyi A.: Nature, Lond. 138, 793, 1936.
3. Chačaturov A. A., Gudkov A. I.: Vest. Dermatol. Venerol. 43, 63, 1969.
4. Chorążak T., Szafarski J., Seferowicz E., Scheller S.: Prz. Lek. 23, 828, 1971.
5. Cizmark I., Trupl I.: Pharmazie 30, 406, 1975.
6. Cizmark I., Trupl I.: Pharmazie 31, 55, 1976.
7. Cojocaru A. F., Ruzieva R. H., Topaly E. E., Topaly V. P.: Studies Biophys. 72, 15, 1976.
8. Crisan I., Mutiu A., Sah-Nazarov N.: IInd Apimondia Int. Symp. Apitherapy, Bucharest 16, 1976.
9. Curylo J.: Pszczelarstwo 10, 6, 1963.
10. Dietrich K.: Pharm. Zentralhalle Dtl. 52, 1019, 1911.
11. Dutko P.: Badania nad czynnikami etiologicznymi, leczeniem i zwalczaniem zapalenia gruczołu mlekowego krów. Praca dokt. AR Lublin, 1987.
12. Filipic B., Likar M.: Interferon Sci. Mem. As. 3, 7, 1976.
13. Filipic B., Likar M.: Interferon Sci. Mem. As. 3, 13, 1976.
14. Furwicz A., Hewicz L., Stojko A., Szafarska-Stojko E., Zalewski W.: Prz. stomat. 29, 133, 1964.
15. Furwicz A., Hewicz L., Zahaczewska M., Zalewski W.: Zycie Wet. 39, 332, 1964.
16. Furwicz A., Hewicz L., Stojko A., Szafarska-Stojko E.: Zycie Wet. 40, 172, 1965.
17. Gabrys A., Winiowska E., Zahaczewska M.: Medycyna Wet. 29, 530, 1973.
18. Goldstein A., Aronow L., Kalman S. M.: Principles of drug action. The basis of pharmacology. Harper Row, NY, Ewanston, London 1969.
19. Grove D. C., Randall W. A.: Assay methods of antibiotics. Medical Encyclopedia, NY, 1965.
20. Heinen W., Linskens H. F.: Post. Acta Biol. A 12, 65, 1971/2.
21. Hewicz L., Stojko A., Zalewski W.: Zycie Wet. 48, 362, 1973.
22. Jaubert G. D.: C.R. hebdom. Séanc. Acad. Sci., Paryż 184, 1134, 1927.

23. Jeliaszewicz J., Cybulska J., Jawlger J., Zak C.: Ziarenkowce Gram-dodatnie, biologia, rozpoznawanie, różnicowanie. PZH, Warszawa 1969.
24. Jucu V., Gigoiu T., Babi R.: *IInd Apimondia Int. Symp. Apitherapy*, Bucharest 27, 1976.
25. Jozwiak Z.: *Mat. V Symp. Apiterapii*, Kraków-Kamianna, 71, 1986.
26. Jozwiak Z., Baraniecko-Woszycka A.: *Annls Univ. Mariae Curie-Skłodowska Sect. C* 31, 143, 1976.
27. Keen P. M.: *Biochem Pharmacol.* 15, 447, 1966.
28. Kravczuk P. A., Kravczuk G. P.: *Zurnal Usz-Nos-Gorl. Bol.* 37, 87, 1977.
29. Kubacka S.: Zastosowanie propolisu w leczeniu ubytków tkanek i długotrwałych procesów ropnych. Praca dokt., Śląska AM, Katowice 1975.
30. Küstenmacher M.: *Berl. Dtl. Chem. Ges.* 21, 65, 1911.
31. Lindenfelster L. A.: *J. Invertebr. Path.* 12, 129, 1968.
32. Maciejewicz W., Daniewski M., Mielniczuk Z.: *Acta Pol. pharm.* 4, 277, 1982.
33. Maciejewicz W., Scheller S., Daniewski M.: *Acta Pol. pharm.* 5, 251, 1983.
34. Maciejewicz W., Daniewski M., Mielniczuk Z.: *Chemia Anal.* 29, 421, 1984.
35. Meresta T.: Badania nad czynnikami wpływającymi na aktywność przeciwbakteryjną ekstraktów kitu pszczelego (propolisu). Praca dokt. AR Lublin, 1986.
36. Meresta L., Meresta T.: *Pszczelarstwo* 8, 5, 1983.
37. Meresta L., Meresta T.: *Medycyna Wet.* 41, 489, 1985.
38. Meresta L., Meresta T.: *Bull. Inst. Wet. Puławy* 28, 1, 1985.
39. Meresta T., Meresta L.: *Pszczelarstwo* 3, 4, 1986.
40. Metzner J., Behemeier H., Schneidewind E. M., Schwabberger R.: *Pharmazie* 30, 799, 1975.
41. Metzner J., Schneidewind E. M.: *Mykosen* 21, 257, 1978.
42. Mordovcev B. N., Rukavišnikova B. M.: *Vest. Derm. Venerol.* 47, 69, 1973.
43. Muresan E., Gaboreanu M., Baba A. I.: *IInd Apimondia Int. Symp. Apitherapy*, Bucharest 35, 1976.
44. Nastase B., Oita N., Palos E.: *IInd Apimondia Int. Symp. Apitherapy*, Bucharest 36, 1976.
45. Pahomov S. P.: *IInd Apimondia Int. Symp. Apitherapy*, Bucharest 38, 1976.
46. Popeljniak S., Jalseniak I., Maysinger D.: *Pharmazie* 37, 439, 1982.
47. Popescu A., Brailleanu C., Ghtorghiu A.: *Dermato-Venerologia* 12, 57, 1967.
48. Popovici C.: *Rev. Chir.* 21, 309, 1976.
49. Roiski S.: *Chemia środków leczniczych. PZWL, Warszawa* 1964.
50. Rybak H., Konopacka Z., Muszyńska J.: *Pszczelarstwo* 6, 3, 1984.
51. Scheller S., Rogala D., Stasiak E., Zurek H.: *Pol. Arch. wet.* 11, 391, 1968.
52. Scheller S., Seferowicz E.: *Bull. Int. Congress Apimondia Moskva* 29, 1971.
53. Scheller S., Stojko A., Szwarnowiecka I., Tustanowski J., Obuszko Z.: *Arzneimittelforsch.* 27, 2138, 1977.
54. Scheller S., Stojko A., Szwarnowiecka I., Obuszko Z.: *Nowości Wet.* 8, 73, 1978.
55. Scheller S.: *Pszczelarstwo* 8, 5, 1980.
56. Schmidt H.: *Stomatol. DDR* 30, 491, 1980.
57. Schneidewind E. M., Kala H., Linzer B., Metzner J.: *Pharmazie* 30, 803, 1975.
58. Starzyk J., Scheller S., Starzyk-Kozińska I., Drozdowicz D.: *Biul. XVIII Zjazdu PTM, Lublin* 300, 1975.
59. Starzyk J., Scheller S., Moskwa M.: *Biul. XVIII Zjazdu PTM, Lublin* 301, 1975.
60. Stojko A.: Doświadczenia i kliniczne badania nad stosowaniem propolisu. Praca hab., I. Wet., Puławy 1978.
61. Stojko A., Furowicz A. J.: *Medycyna Wet.* 36, 110, 1980.
62. Strzelecka J., Kamińska J., Kowalski J., Walewska E.: *Chemiczne metody badań roślinnych surowców leczniczych. PZWL, Warszawa* 1978.
63. Suchy H., Scheller S.: *Ist Int. Symp. Propolis, Bratislava* 75, 1973.
64. Suchy H., Zawadzki J., Scheller S., Posz A.: *Prz. lek.* 35, 646, 1974.
65. Szaflarska-Stojko E., Stojko A.: *Pszczelarstwo* 7, 4, 1984.
66. Tichonov A. I., Salo D. P.: *Farmak. Zurn.* 40, 6, 1976.
67. Večet H.: *Včelarstvi* 26, 226, 1973.
68. Villanueva V. R., Bogdanovsky D., Barbier M., Gonnet M., Lavie P.: *Annls Inst. Pasteur, Paryż* 106, 292, 1964.
69. Villanueva V. R., Barbier M., Gonnet M., Lavie P.: *Annls Inst. Pasteur, Paryż* 118, 84, 1970.
70. Wilska-Jeszke J.: *Wiad. chem.* 6, 289, 1959.
71. Zambor M., Martanova H., Matel I.: *Ceskosl. Dermatol.* 52, 243, 1977.

Adres autora: prof. dr habil. Zdzisław Gliński, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

ANDRZEJ WANDURSKI
Szamocin

Niektóre aspekty stosowania Tiamowetu u świń

Jednym z nowszych krajowych leków weterynaryjnych jest Tiamowet produkowany przez Biowet w Gorzowie Wlkp. Substancją czynną jest w nim tiamulina (Dynamutilin) — półsyntetyczny antybiotyk będący pochodną pleuromulinu (1). Tiamulina działa skutecznie przeciw mykoplazmom i wielu patogennym bakteriom. U świń jest zalecana do leczenia dyzenterii (3, 4, 5, 6) i enzootycznego odoskrzelowego zapalenia płuc (2, 4). Celem niniejszej pracy jest przedstawienie własnych doświadczeń wpływających ze stosowania Tiamowetu u świń w dużym obiekcie produkcyjnym.

Opis przypadku

Późną jesienią 1984 r. w sektorze tuczu fermy przemysłowej „S” wystąpiło masowo enzootyczne odoskrzelowe zapalenie płuc, które w poprzednich latach nie stanowiło problemu w tym obiekcie. Choroba rozpoczęła się w jednym z budynków w kilka dni po przeniesieniu z warchlakarni 1200 trzymiesięcznych warchlaków o masie ciała 25—30 kg. Choroba opanowywała kolejno wszystkie 12 budynków tuczu, ale najciężej przebiegała u młodych tuczników o masie ciała do 50 kg. U chorych świń obserwowano brak apetytu, napadowy kaszel i podwyższenie ciepłoty wewnętrznej, a w licz-

nych przypadkach duszność o różnym nasileniu i niewydolność układu krążenia. U sekcjonowanych zwierząt stwierdzano zmiany charakterystyczne dla eozp. Z materiału wysyłanego do badań bakteriologicznych w ZHW w Poznaniu wyizolowano pałeczkę *Pasteurella*. Parenteralnie podawano świnom z wyraźnymi objawami klinicznymi lub nie wykazującymi łaknienia Biotyl 200, a później inne dostępne antybiotyki. Dziennie leczono indywidualnie po kilkadziesiąt świń, w drugim miesiącu ta liczba spadła do kilkunastu. W budynkach świeżo zasiedlonych stosowano leczenie bakteriostatykami podawanymi przez centralę paszową w półpłynnej paszy przez okres 5 dni. Ogółem masowemu leczeniu poddano w ciągu 2 miesięcy około 6000 tuczników, z tego ok. 3600 leczono Tiamowetem, a po 1200 świń Lautecinem i Trimerazinem.

Omówienie wyników

W tab. 1 zestawiono wyniki stosowania Tiamowetu, Lautecinu i Trimerazinu. Po dwóch dniach stosowania Tiamowetu w dawce 1—1,2 na świnie dziennie poprawiał się apetyt i zmniejszała się liczba padnięć, natomiast kaszel w niewielkim nasileniu utrzymywał się aż do odstawienia zwierząt do skupu, co następowało po 3—4 miesiącach. Podobne efekty