



«ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ТА КЛІНІЧНА ФІЗІОЛОГІЯ І БІОХІМІЯ»
«EXPERIMENTAL AND CLINICAL PHYSIOLOGY AND BIOCHEMISTRY»
Науково-практичний журнал/Scientific-practical journal

Експериментальна медицина / Experimental medicine
ECPB 2026, 2(106): 94–100. <https://doi.org/10.25040/ecpb2026.02.094>

УДК: 638.167:579.222:582.282.23

Сезонна протимікробна активність маточного молочка чотирьох підвидів *Apis mellifera* щодо грамнегативних бактерій та дріжджоподібних грибів *Candida albicans*

П. Й. ВОРОБЕЦЬ <https://orcid.org/0009-0009-5338-5083>

Інститут біології тварин НААН, Львів, Україна

E-mail: pvorobets86@gmail.com

Резюме. У роботі вперше проведено комплексний *in vitro* скринінг сезонної динаміки протимікробної активності маточного молочка бджолиного чотирьох підвидів *Apis mellifera* щодо грамнегативних бактерій та грибів *Candida albicans*. Отримані результати обґрунтовують необхідність урахування чинників сезонності та породного генезису бджіл для отримання стандартизованої апісіровини з прогнозованим протимікробним ефектом.

Мета роботи полягала у виявленні сезонних і міжпородних особливостей антимікробної дії маточного молочка бджолиного, отриманого в різний час упродовж травня-липня від чотирьох підвидів бджіл – карпатської бджоли, крайнської бджоли, італійської бджоли та української степової бджоли.

Матеріали та методи. Зразки маточного молочка бджолиного отримували протягом травня-липня від чотирьох підвидів *Apis mellifera*, утримуваних у стандартизованих та ізолюваних умовах пасіки. Протимікробну активність секрету оцінювали *in vitro* класичним методом дифузії в лунки агару за триразової повторності експерименту. Тестування проводили щодо штамів грамнегативних бактерій (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*) та грибів *C. albicans* із використанням норфлуксацину та флуконазолу як позитивного контролю.

Результати. Встановлено сезонну та міжпородну залежність протимікробної дії маточного молочка. Пік антибактеріального ефекту зафіксовано в липні для підвидів *A. m. ligustica* та *A. m. sossimai* (14,0–15,0 мм) із літньою стабільністю активності маточного молочка української степової бджоли проти *P. aeruginosa*. Протигрибкова дія мала автономний характер із досягненням стабільного максимуму щодо *C. albicans* у червні-липні для *A. m. carnica* (14,0 мм).

Висновки. Протимікробна активність маточного молочка чітко детермінована факторами сезонності та підвиду бджіл, що обґрунтовує використання літніх зразків локальних екотипів як природної основи для розробки топічних протимікробних засобів.

Ключові слова: *Apis mellifera*, маточне молочко бджолине, протимікробна активність, сезонність, грамнегативні бактерії, *Candida albicans*.

Seasonal antimicrobial activity of royal jelly from four subspecies of *Apis mellifera* against gram-negative bacteria and yeast-like fungi *Candida albicans*

P. Y. VOROBETS

Institute of Animal Biology of NAAS, Lviv, Ukraine

E-mail: pvorobets86@gmail.com

Abstract. This study presents the first comprehensive *in vitro* screening of the seasonal dynamics of antimicrobial activity exhibited by the royal jelly of four *Apis mellifera* subspecies against Gram-negative bacteria and *Candida albicans* fungi. The obtained results substantiate the necessity of considering seasonal factors and the genetic genesis of honeybee breeds to obtain standardized apiproductions with a predictable antimicrobial effect.

Objective. The aim of this work was to identify the seasonal and inter-breed features of the antimicrobial action of royal jelly collected at various intervals from May to July from four honeybee subspecies: the Carpathian bee (*A. m. carpatica*), the Carniolan bee (*A. m. carnica*), the Italian bee (*A. m. ligustica*), and the Ukrainian steppe bee (*A. m. sossimai*).

Materials and Methods. Royal jelly samples were harvested between May and July from four *Apis mellifera* subspecies maintained under standardized and isolated apiary conditions. The antimicrobial activity of the secretion was evaluated *in vitro* using the classical agar well diffusion method in triplicate. Testing was performed against strains of Gram-negative bacteria (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) and *Candida albicans* fungi, utilizing norfloxacin and fluconazole as positive controls.

Results. Seasonal and inter-breed dependencies of the royal jelly's antimicrobial efficacy were established. The peak antibacterial effect was recorded in July for *A. m. ligustica* and *A. m. sossimai* subspecies (14.0–15.0 mm), demonstrating summer stability in the activity of Ukrainian steppe bee royal jelly against *P. aeruginosa*. The antifungal activity exhibited an autonomous character, reaching a stable maximum against *C. albicans* in June–July for *A. m. carnica* (14.0 mm).

Conclusions. The antimicrobial activity of royal jelly is clearly determined by seasonality factors and the honeybee subspecies, which justifies the utilization of summer samples of local ecotypes as a natural matrix for the development of topical antimicrobial agents.

Key words: *Apis mellifera*, royal jelly, antimicrobial activity, seasonality, Gram-negative bacteria, *Candida albicans*.

Стрімке поширення антибіотикорезистентності серед патогенних мікроорганізмів визнано однією з найбільших загроз для глобальної системи охорони здоров'я у XXI столітті [1]. Особливу небезпеку сьогодні становлять грамнегативні бактерії, зокрема *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, які через наявність складної зовнішньої ліпополісахаридної мембрани володіють природною стійкістю до багатьох класичних антибіотиків [2]. Паралельно з цим зазначається зростання частоти опортуністичних мікозів, викликаних дріжджоподібними грибами роду *Candida*, які швидко формують толерантність до азольних антимікотиків [3]. Тому особливо актуальним є пошук альтернативних протимікробних сполук природного походження, здатних долати захисні бар'єри резистентних штамів [4]. Маточне молочко бджолине (ММБ) – це секрет гіпофарингеальних і мандибулярних залоз бджіл-годувальниць з широким спектром біологічної дії, включно з імуномодулювальними, антиоксидантними та антибактеріальними властивостями [5, 6]. Проте біохімічний склад та, як наслідок,

біологічна активність ММБ не є константними. Вони суттєво залежать від генетичних особливостей бджіл, а також від сезонних змін екологічних факторів і динаміки цвітіння медоносних рослин [7]. У світовій науковій літературі доволі детально описано властивості ММБ італійської бджоли (*A. m. ligustica*) та європейської країнської бджоли (*A. m. carnica*), тоді як порівняльні дослідження з залученням локальних аборигенних підвидів цих комах, зокрема карпатської бджоли (*A. m. carpatica*) та української степової бджоли (*A. m. sossimai*), залишаються поодинокими. Обґрунтуванням мети цього дослідження є необхідність подолання дефіциту даних щодо сезонних і міжпородних коливань біологічної активності ММБ вітчизняних підвидів бджіл для створення у перспективі стандартизованої природної сировини з прогнозованим антимікробним ефектом.

Мета роботи: дослідити *in vitro* сезонну динаміку протимікробної активності ММБ, отриманого від чотирьох підвидів *Apis mellifera* (карпатської бджоли, країнської бджоли, італійської бджоли та української степової бджоли) протягом травня-липня, щодо опорних і клінічних штамів грам-негативних бактерій (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*) та дріжджоподібних грибів *Candida albicans* для визначення оптимальних генетико-екологічних параметрів отримання вискоефективної антимікробної сировини.

Матеріали та методи. ММБ отримували від чотирьох підвидів бджіл – карпатської (*Apis mellifera carpatica*), карніки (*Apis mellifera carnica*), італійської (*Apis mellifera ligustica*) та степової (*Apis mellifera sossimai*). Щоб забезпечити рівні умови для всіх підвидів бджіл, було сформовано 4 групи однакових за силою бджолосімей, а для їх утримання та розвитку комах були забезпечені достатньою кількістю медових і пергових рамок. Добр бджолиних сімей для досліджень здійснювали методом аналогів за силою, кількістю розплоду та кормів. Піддослідні бджолині колонії були розміщені у віддаленій частині основної пасіки, льотками, розташованими в різні боки, щоб унеможливити так звані нальоти інших бджіл та для їх блукання. Фізіологічний розвиток бджіл-годувальниць також був однаковий. ММБ отримували впродовж трьох місяців (травень-липень). Відбір ММБ здійснювали, дотримуючись усіх правил септики та асептики. Отримані проби ММБ заморожували та зберігали при температурі 20 °С. Досліджувані зразки (ММБ) перевіряли на антимікробну активність методом дифузії в лунки агару [8]. Антимікробну дію вивчали щодо еталонних штамів *Klebsiella pneumoniae* (№ 43), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) та *Candida albicans* (ATCC 885–653). Культури засівали на чашки Петрі зі середовищем Мюллера-Хілтона та середовищем Сабуро для грибків. Для кожного тестового штаму готували бактеріальну суспензію 0,5 McFarland, та 1,0 для грибків, як для вивчення чутливості до антибіотиків [9]. Після цього, стерильним наконечником в асептичних умовах, пробивали отвір діаметром 6 мм і в лунку вносили об'єм (30 мкл) досліджуваного засобу. Чашки з агаром інкубували у відповідних умовах, залежно від досліджуваного мікроорганізму. Для кожної лунки вимірювали зону затримки росту. Як позитивний контроль використовували норфлуксацин (для бактерій) і флуконазол (для грибків). Усі тестування повторювали тричі.

Статистичний аналіз одержаних результатів досліджень проводили за використання принципів варіаційної статистики та пакета прикладних програм Microsoft Excel і Statistica з урахуванням t-критерію достовірності Стьюдента. [10].

Результати дослідження та їх обговорення. У ході проведеного *in vitro* скринінгу було встановлено, що бджолине маточне молочко всіх досліджених підвидів *Apis mellifera* виявляє помірну та виражену протимікробну активність щодо грамнегативних бактерій та дріжджоподібних грибів *Candida albicans*. При цьому зафіксовано чітку залежність діаметра зон затримки росту тест-штамів як від генетичних особливостей продуцентів

(підвиду бджіл), так і від сезонного фактора (місяця отримання продукту) (табл.).

Таблиця

Показники зон затримки росту (мм) грамнегативних бактерій *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* та грибів *Candida albicans* за дії ММБ чотирьох підвидів *Apis mellifera* (*in vitro*)

Досліджувані зразки ММБ	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 (Mm ± SE)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> № 43 (Mm ± SE)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853 (Mm ± SE)	<i>Candida albicans</i> ATCC 885–653 (Mm ± SE)
<i>Apis mellifera carpatica</i> (травень)	12 ± 0,6	9 ± 0,3	13 ± 0,3	10 ± 0,3
<i>Apis mellifera carpatica</i> (червень)	11,8 ± 0,3	9 ± 0,3	13,4 ± 0,6	11 ± 0,3
<i>Apis mellifera carpatica</i> (липень)	11 ± 0,3	14 ± 0,3**	13,4 ± 0,3	9 ± 0,3
<i>Apis mellifera carnica</i> (травень)	11 ± 0,6	11 ± 0,3	13,5 ± 0,7	10 ± 0,3
<i>Apis mellifera carnica</i> (червень)	11 ± 0,3	8 ± 0,3*	10 ± 0,7*	14 ± 0,6*
<i>Apis mellifera carnica</i> (липень)	13 ± 0,3	8 ± 0,3*	15 ± 0,3	14 ± 0,3**
<i>Apis mellifera ligustica</i> (травень)	9 ± 0,3	8 ± 0,3	11 ± 0,3	9 ± 0,3
<i>Apis mellifera ligustica</i> (червень)	9,7 ± 0,7	8 ± 0,3	8 ± 0,3*	8 ± 0,3
<i>Apis mellifera ligustica</i> (липень)	15 ± 0,3*	11 ± 0,3*	14 ± 0,6*	12 ± 0,3**
<i>Apis mellifera sossimai</i> (травень)	12 ± 0,3	9 ± 0,3	14 ± 0,6	12 ± 0,3
<i>Apis mellifera sossimai</i> (червень)	12 ± 0,3	11 ± 0,7*	15 ± 0,3	8 ± 0,3*
<i>Apis mellifera sossimai</i> (липень)	14 ± 0,3*	14 ± 0,3**	15 ± 0,3	11 ± 0,3
Контроль / Норфлуксацин	18	19	18	–
Контроль для грибків / Флуконазол	–	–	–	20

Примітка: Достовірність змін показників розраховано стосовно травневих значень відповідно підвидів бджіл: * – ($p < 0,05$); ** – ($p < 0,01$).

Розглянемо спочатку отримані результати стосовно антибактеріальної активності ММБ щодо грамнегативних мікроорганізмів. Аналіз чутливості *Escherichia coli* ATCC 25922 дав змогу виявити виражену висхідну динаміку активності ММБ від травня до липня. У травні та червні показники пригнічення росту *E. coli* за дії ММБ від більшості підвидів бджіл були в межах помірних значень ($9,0 \pm 0,3$ – $12,0 \pm 0,3$ мм). Проте у липневих зразках ММБ спостерігали достовірне зростання антибактеріального потенціалу. Абсолютним лідером у цей період виявився підвид *A. m. ligustica*, зразки ММБ якого сформували зону затримки росту $15,0 \pm 0,3$ мм, що наблизилося до показників синтетичного антибіотика норфлуксацину ($18,0$ мм). Високу активність у липні також продемонстрував підвид *A. m. sossimai* ($14,0 \pm 0,3$ мм).

Щодо дії ММБ на інший штам бактерій, а саме: *Klebsiella pneumoniae* № 43, спостерігався подібний сезонний тренд. Травневі та червневі зраз-

ки ММБ проявляли мінімальний інгібувальний ефект ($8,0 \pm 0,3 - 11,0 \pm 0,7$ мм). Водночас липнєве ММБ, отримане від підвидів *A. m. carpatica* та *A. m. sossimai*, продемонструвало ідентичний максимальний результат із зонами затримки росту на рівні $14,0 \pm 0,3$ мм, суттєво випередивши підвид *A. m. carnica* ($8,0 \pm 0,3$ мм).

Варто зазначити, що найвищу стабільність антибактеріальної дії до грамнегативної мікрофлори було зафіксовано стосовно штаму *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. Протягом усього досліджуваного сезону зони затримки росту стабільно перевищували 10 мм для більшості зразків, за винятком червнєвого ММБ *A. m. ligustica* ($8,0 \pm 0,3$ мм). Найменш чутливим до сезонних коливань виявилося ММБ *A. m. sossimai*: його травнєві ($14,0 \pm 0,6$ мм), червнєві ($15,0 \pm 0,3$ мм) та липнєві ($15,0 \pm 0,3$ мм) зразки забезпечили стійке та потужне пригнічення синьогнійної палички, що є зіставним із дією еталонного норфлуксацину ($18,0$ мм). У липні аналогічний високий результат ($15,0 \pm 0,3$ мм) також показали зразки ММБ від *A. m. carnica*.

Отримані нами результати щодо помірної протимікробної дії ММБ стосовно грамнегативних бактерій повністю узгоджуються із фундаментальними положеннями світової апідології [11]. У міжнародній науковій літературі чітко зафіксовано, що складна архітектура клітинної стінки грамнегативних патогенів (зокрема наявність зовнішньої ліпополісахаридної мембрани у *E. coli* та *K. pneumoniae*) суттєво обмежує дифузію гідрофільних молекул [2, 12]. Проте здатність липнєвих зразків ММБ *A. m. ligustica* та *A. m. sossimai* формувати виражені зони затримки росту ($14,0-15,0$ мм) свідчить про високу концентрацію у літньому секреті бджіл дикарбонових жирних кислот, насамперед 10-гідрокси-2-деканової кислоти (10-HDA) [7]. Виявлений нами феномен сезонного зростання антибактеріального потенціалу ММБ у липні можна пояснити екологічними факторами та якістю кормової бази бджіл-годувальниць. Сучасні дослідження підтверджують, що ліпідний і пептидний профіль ММБ прямо залежить від різноманітності та хімічного складу свіжого пилку (перги) [13]. Липнєвий період максимального цвітіння ентомофільних культур (соняшника, гречки, різнотрав'я) збагачує раціон бджіл специфічними фітостеролами та амінокислотами, що стимулює гіпофарингеальні залози до інтенсивнішого синтезу антимікробних компонентів – пептиду роялізину та білків родини MRJPs [6].

На особливу увагу заслуговує висока і стабільна активність ММБ української степової бджоли (*A. m. sossimai*) проти *Pseudomonas aeruginosa* протягом усього сезону ($14,0-15,0$ мм), що досягає значень норфлуксацину. Стійкий ефект ММБ *A. m. sossimai* вказує на унікальну генетично детерміновану стабільність антимікробного складу секрету цього аборигенного підвиду бджіл, адаптованого до умов помірно-континентального клімату. Отже, отримані нами дані відкривають перспективи використання літніх зразків ММБ вітчизняних підвидів як основи для розробки альтернативних антибактеріальних засобів проти проблемних грамнегативних інфекцій.

Тепер розглянемо фунгістатичний потенціал ММБ чотирьох підвидів *Apis mellifera* ММБ щодо *Candida albicans*. Протигрибкова активність досліджуваних зразків ММБ щодо дріжджоподібних грибів *Candida albicans* ATCC 885–653 продемонструвала специфіку, яка кардинально відрізнялася від динаміки, характерної для бактеріальних патогенів. Для більшості підвидів пік фунгістатичної дії змістився на початок або середину літа, не демонструючи лінійного зростання до липня. Найвищу та найстабільнішу протигрибкову ефективність було виявлено у ММБ *A. m. Carnica*. ММБ цих бджіл, отримане у червні та липні, спричиняло максимальні зони затримки росту кандид – $14,0 \pm 0,6$ мм та $14,0 \pm 0,3$ мм відповідно, утримуючи лідерство в цій групі. ММБ *A. m. sossimai* показало найвищу активність у травні ($12,0 \pm 0,3$ мм) з подальшим незначним коливанням у межах $8,0-11,0$ мм. Натомість у зразках ММБ *A. m. carpatica* зафіксовано

протилежну тенденцію: плавне зниження фунгістатичних властивостей від травня-червня (10,0–11,0 мм) до липневого мінімуму ($9,0 \pm 0,3$ мм). Загалом, природні біокомплекси маточного молочка виявили помірну антимікотичну дію, прогнозовано поступаючись високоспецифічному хіміопрепарату флуконазолу (20,0 мм).

Відсутність синхронності між сезонною динамікою антибактеріальної та фунгістатичної активності ММБ підтверджує гіпотезу про те, що протигрибковий ефект маточного молочка регулюється іншим спектром і співвідношенням біоактивних молекул [7]. Згідно з відомими даними, провідну роль у пригніченні дріжджоподібних грибів відіграє вільна фракція 10-HDA, тоді як антибактеріальна дія значною мірою підсилюється термолабільними пептидами (роялізином, апідаецинами) та специфічними білками сімейства MRJP [6]. Стабільно високий антимікотичний потенціал ММБ *A. m. carnica* у червні та липні (14,0 мм) свідчить про генетично обумовлену здатність цього підвиду бджіл підтримувати високу концентрацію ненасичених жирних кислот у секреті залоз навіть за умов інтенсивного літнього взятку. Плавне зниження активності ММБ *A. m. carpatica* до липня ($9,0 \pm 0,3$ мм) може бути наслідком явища «біологічного розведення» жирнокислотного профілю білковими компонентами, що часто спостерігається у високопродуктивних ліній бджіл на піку масового збору нектару [7]. Отже, хоча фунгістатичний ефект ММБ очікувано поступається еталонному флуконазолу (20,0 мм), виявлена здатність червневих і липневих зразків ММБ *A. m. carnica* стійко пригнічувати ріст патогена вказує на перспективність використання цього бджолиного секрету в комплексній терапії мікозів.

Висновки. Протимікробна активність ММБ чітко детермінована факторами сезонності та підвиду бджіл, причому для грамнегативних бактерій (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*) пік ефективності припадає на липень, тоді як для грибів *Candida albicans* максимальний ефект ММБ фіксується вже у червні. Лідерами за силою антибактеріальної дії у липні виявилися ММБ *A. m. ligustica* та *A. m. sossimai* (зони затримки 14,0–15,0 мм), а за стабільністю антисиньогнійного ефекту протягом усього сезону – українська степова бджола *A. m. sossimai* (14,0–15,0 мм), що наближається до показників норфлораксацину. Найвищий і найстабільніший фунгістатичний потенціал щодо *C. albicans* продемонструвало ММБ *A. m. carnica*, отримане у червні та липні (14,0 мм).

Отримані результати обґрунтовують перспективність використання літніх зразків ММБ локальних підвидів як природних біоактивних агентів для створення топічних засобів проти грамнегативних патогенів і мікозів.

ПОСИЛАННЯ

1. World Health Organization (WHO). Antimicrobial resistance: global report on surveillance. Geneva: World Health Organization; 2024. Antimicrobial resistance: global report on surveillance
2. Breijyeh Z, Jubeh B, Karaman R. Resistance of Gram-negative bacteria to current antibacterial agents and approaches to resolve it. *Molecules*. 2020 Mar 11;25(6):1340. doi: 10.3390/molecules25061340
3. Nobile CJ, Johnson AD. *Candida albicans* Biofilms and Human Disease. *Annu Rev Microbiol*. 2015;69:71–92. doi: 10.1146/annurev-micro-091014-104330
4. Pasupuleti VR, Sammugam L, Ramesh N, Gan SH. Honey, propolis, and royal jelly: a comprehensive review of their biological actions and health benefits. *Oxid Med Cell Longev*. 2017;2017:1259510. doi: 10.1155/2017/1259510
5. Ramadan MF, Al-Ghamdi A. Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review. *J Funct Foods*. 2012 Jan;4(1):39–52. doi: 10.1016/j.jff.2011.12.007
6. Fratini F, Cilia G, Mancini S, Felicioli A. Royal jelly: An ancient remedy with remarkable antibacterial properties. *Microbiol Res*. 2016 Nov;192:130–141. doi: 10.1016/j.micres.2016.06.007
7. Collazo N, Carpena M, Nuñez-Estevéz B, Otero P, Simal-Gandara J, Prieto MA. Health Promoting Properties of Bee Royal Jelly: Food of the Queens. *Nutrients*. 2021 Feb 7;13(2):543. doi: 10.3390/nu13020543
8. Balouiri M, Sadiki M, Ibsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *J Pharm Anal*. 2016 Apr;6(2):71–79. doi: 10.1016/j.jpha.2015.11.005

9. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Disk diffusion methodology and quality control. Växjö: EUCAST; 2026. Available from: eucast.org

10. *Petrovska IR, Salyha YT, Vudmaska IV*. Statistical Methods in Biological Research: educational and methodological manual. Kyiv: Agrarian Science; 2022. 172 p. ISBN 978-966-540-551-1. (in Ukrainian).

11. *Ulubayram N, Cinar AY*. Microencapsulated and fresh royal jelly: monitoring 10-HDA content, antibacterial and antifungal activity at different storage periods. *Braz Arch Biol Technol*. 2023;62:e232220203. doi: 10.1590/1678-4324-2023220203

12. *Fratini F, Cilia G, Mancini S, Felicioli A*. Royal jelly: An ancient remedy with remarkable antibacterial properties. *Microbiol Res*. 2016 Nov;192:130–141. doi: 10.1016/j.micres.2016.06.007

13. *Čeksterytė V, Bliznikas S, et al*. The composition of fatty acids in bee pollen, royal jelly, buckthorn oil and their mixtures with pollen preserved for storage. *Foods*. 2023 Aug 23;12(17):3164. doi: 10.3390/foods12173164

Стаття надійшла до редколегії 25.08.2026

Стаття прийнята до друку після рецензування 23.09.2026

Стаття оприлюднена 28.09.2026