

Ультразвуковое исследование брюшной полости выявило гепатоспленомегалию в 66,6% случаев, изолированное увеличение селезенки – в 13,3% случаев, изолированное увеличение печени – в 6,6% случаев. В первой возрастной группе в 89,4% случаев встречалась гепатоспленомегалия и 5,2% – гепатомегалия. Во второй возрастной группе у 37,5% было увеличение печени и селезенки, у такого же количества (37,5%) увеличение только селезенки, у 12,5% только печени. В третьей возрастной группе у 33,3% была спленомегалия, и у 33,3% гепатоспленомегалия.

Подтверждение диагноза осуществлялось с помощью ИФА (определение IgM к цитомегаловирусу, IgM к капсидному антигену ВЭБ) и ПЦР диагностики. Иммуноферментный анализ подтвердил ИМ вызванный ВЭБ у 63,3% пациентов, ПЦР – у 10%, у 10% пациентов выявлены IgM к ЦМВ, у 3,3% – одновременно определили IgM к ЦМВ и IgM к капсидному антигену ВЭБ.

Выводы

Проведенное исследование выявило, что более подвержены развитию инфекционного мононуклеоза пациенты дошкольного возраста (от трех до семи лет). В данной возрастной группе статистически чаще наблюдались признаки «типичного» ИМ: гепатоспленомегалия, синдром цитолиза, повышение температуры. В тоже время, реактивные лимфоциты чаще встречались во второй и третьей возрастной группах.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Инфекционный мононуклеоз у детей: клинико-лабораторная характеристика в зависимости от этиологии и фазы инфекционного процесса / О. И Демина [и др.] // Инфекционные болезни. – 2020. – Т. 18, № 3. – С. 62–72.
2. Клиническая значимость вирусологических методов верификации этиологии инфекционного мононуклеоза / О. И Демина [и др.] // Детские инфекции. – 2020. – Т. 19, № 2. – С. 29–37.
3. Мартынова, Г. П. Клинические особенности инфекционного мононуклеоза у детей в зависимости от этиологического фактора / Г. П. Мартынова, Л. А. Иккес, Я. А. Богвилене // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2019. – № 4. – С. 70–73.

УДК 579.61:582.284:631.8

А. В. Дегтярёва, А. Д. Аноничева

Научный руководитель: к.б.н., доцент Е. И. Дегтярёва

Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»

г. Гомель, Республика Беларусь

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИМИКРОБНЫХ СВОЙСТВ РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ GANODERMA LINGZHI

Введение

В результате многочисленных исследований, было показано, что высшие базидиомицеты могут стать источниками для получения лекарственных препаратов, обладающих новыми механизмами противомикробного действия [1]. В последние годы среди возбудителей бактериальных инфекций, очень часто встречаются бактерии с множественной антибиотикорезистентностью. Лечение заболеваний, вызванных микроорганизмами, устойчивых ко многим антибиотикам, становится все более затрудненным.

Цель

Изучить и сравнить антимикробные свойства спиртовых экстрактов, полученных из плодовых тел *G. lingzhi* S.H. Wu, Y. Cao & Y.C. Dai (штаммы 244, 266, 303, 304, 331, 333).

Материалы и методы исследования

Исследования по получению плодовых тел *G. lingzhi* проведены в лабораторных условиях сектора пищевых и лекарственных ресурсов леса Государственного научного учреждения «Институт леса Национальной академии наук Беларуси». Антибактериальные свойства спиртовых экстрактов, полученных из плодовых тел *G. lingzhi* S. H. Wu, Y. Cao & Y. C. Dai (штаммы 244, 266, 303, 304, 331, 333) изучены в лабораторных условиях кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии Учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет».

Объектами лабораторных исследований стали штаммы редких видов ксилотрофных базидиомицетов – перспективных объектов биотехнологии из коллекции штаммов грибов ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»: *G. lingzhi* S. H. Wu, Y. Cao & Y. C. Dai (штаммы 244, 266, 303, 304, 331, 333). До молекулярно-генетической идентификации, проведенной в 2015 году в лаборатории геномных исследований и биоинформатики Института леса, считалось, что все штаммы относятся к *G. lucidum*. Основная часть чистых культур *Ganoderma spp.* поступила в ГНУ «Институт леса НАН Беларуси» в 2004 г. из Коллекции шляпочных грибов Института ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины (ІВК) [2].

Таблица 1 – Происхождение коллекционных штаммов *Ganoderma spp.* [2]

Вид	№ штамма	Год поступления в коллекцию	Источник поступления в коллекцию
<i>G. lingzhi</i>	244	2006	Гомельский район, п. Корневка, выделен из плодового тела
<i>G. lingzhi</i>	266	2009	Воронеж, посевной мицелий «Sylvan»
<i>G. lingzhi</i>	303	2011	Брестская обл., Берёзовский р-н, г. Белоозёрск, грибоводческое хозяйство «Виола», выделен из посевного мицелия
<i>G. lingzhi</i>	304	2011	Брестская обл., Берёзовский р-н, г. Белоозёрск, грибоводческое хозяйство «Виола», выделен из посевного мицелия
<i>G. lingzhi</i>	331	2004	Киев, Институт ботаники им. Н.Г. Холодного, чистая культура штамма ІВК-922 (Чехия Прага, Институт микробиологии)
<i>G. lingzhi</i>	333	2004	Киев, Институт ботаники им. Н.Г. Холодного, чистая культура штамма ІВК-1722 (Германия, Weser-Champignon)

Для получения вторичных метаболитов использовались сухие плодовые тела *G. lingzhi*, выращенные на дубовых питательных субстратах. Экстракцию проводили этиловым спиртом 96%. Применяли метод мацерации с продолжительным периодом нагрева экстракционной смеси до температуры +35 °С, предотвращающей разрушение энзимов. Спиртовые экстракты отделяли от плодовых тел грибов и фильтровали через бактериальные фильтры. С целью снижения физико-химического воздействия спирта на тестируемые микроорганизмы в дальнейшем, отфильтрованные экстракты вносили во взвешенные пробирки и помещали в термостат с температурой +35 °С до полного выпаривания растворителя. Грибные экстракты растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО), доводя раствор до 20000 мкг/мл. Для работы нами были использованы стерильные серологические 96-луночные планшеты с V-образным дном. На одном планшете в рядах А–Н определялась минимальная подавляющая концентрация одновременно для 8 штаммов микроорганизмов. Для тестирования были использованы суточные культуры 6 клинических изолятов *Staphylococcus aureus*: БС-1, БС-9, БС-12, БС-19; *Enterococcus faecalis* 35758, *E. faecium* 33 VAN-R. В панель микроорганизмов для тестирования включены эталонные штаммы из Американской коллекции типовых культур (АТСС) *S. aureus* АТСС 29213, *E. faecalis* АТСС 51299 (таблица 2).

Таблица 2 – Штаммы бактерий, использованные как тест-микроорганизмы

Ряд планшеты серологической 96-луночной с V-образным дном	Тест-микроорганизмы
A	<i>S. aureus</i> ATCC 29213
B	<i>E. faecalis</i> ATCC 51299
C	<i>E. faecium</i> 33 VAN-R
D	<i>E. faecalis</i> 35758
E	<i>S. aureus</i> БС-1
F	<i>S. aureus</i> БС-9
G	<i>S. aureus</i> БС-12
H	<i>S. aureus</i> БС-19

Заполненные планшеты закрывали крышкой, и поместив в герметичные пакеты из полиэтилена, с целью предупреждения высыхания, помещали в термостат при температуре +35 °С на 24 и 48 часов. По истечении времени инкубации нами были изучены антибактериальные свойства спиртовых экстрактов из плодовых тел *G. lingzhi*, используя турбидиметрический метод, учитывая задержку (угнетение) роста популяции тест-культур (по величине мутности среды) с помощью камеры визуального считывания (зеркало + увеличитель) Thermo V4007. Учет проводили только при наличии роста исследуемых микроорганизмов в 12 ряду лунок (при отсутствии в лунках спиртовых экстрактов из плодовых тел *G. lingzhi*).

Для изучения бактерицидных свойств спиртовых экстрактов из плодовых тел *G. lingzhi* 10 мкл содержимого из каждой лунки планшета после инкубации (A1-A12) переносили на сектор плотной питательной среды, поместив под чашку Петри шаблон для нанесения. Для каждой лунки использовали индивидуальные наконечники. Чашки подсушивали в термостате в течение 20 минут и маркировали, обозначив точку совмещения с шаблоном. Для каждого ряда планшета использовали отдельную чашу Петри. Чашки выдержать на столе 20 минут до полного впитывания капель в питательную среду, после чего можно перевернуть чашки Петри и инкубировать в термостате 24 ч, при 35 °С. Пользуясь шаблоном оценивали микробиологическую эффективность спиртовых экстрактов из плодовых тел *G. lingzhi*. Положительный результат (бактерицидный эффект) определялся отсутствием микробного роста в определенном секторе либо при наличии роста в нем не более 1 колонии микроорганизмов [3].

Результаты исследования и их обсуждение

В ходе проведенного исследования были изучены антимикробные свойства спиртовых экстрактов, полученных из плодовых тел базидиальных грибов *G. lingzhi*, культивированных на дубовых субстратных блоках. В таблице 3 отражены минимальные концентрации грибных спиртовых экстрактов, подавляющие рост тест-микроорганизмов.

Таблица 3 – Минимальные концентрации грибных спиртовых экстрактов, подавляющие рост тест-микроорганизмов

Тест-микроорганизмы	<i>G. lingzhi</i> штамм 244	<i>G. lingzhi</i> штамм 266	<i>G. lingzhi</i> штамм 303	<i>G. lingzhi</i> штамм 304	<i>G. lingzhi</i> штамм 331	<i>G. lingzhi</i> штамм 333
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	625*	2500	625*	625	2500	2500
<i>E. faecalis</i> ATCC 51299	2500	625*	625	625	625*	625*
<i>E. faecium</i> 33 VAN-R	2500	2500	2500	2500	2500	2500
<i>E. faecalis</i> 35758	2500	2500	625	310	5000	5000

Окончание таблицы 3

Тест-микроорганизмы	<i>G. lingzhi</i> штамм 244	<i>G. lingzhi</i> штамм 266	<i>G. lingzhi</i> штамм 303	<i>G. lingzhi</i> штамм 304	<i>G. lingzhi</i> штамм 331	<i>G. lingzhi</i> штамм 333
<i>S. aureus</i> БС-1	5000	625	2500	2500	2500	5000
<i>S. aureus</i> БС-9	5000	5000*	2500	625*	2500*	2500
<i>S. aureus</i> БС-12	5000	5000	2500	2500	5000	2500
<i>S. aureus</i> БС-19	5000	5000	5000	5000	5000	2500*

Примечание: * – данная концентрация грибного экстракта оказывает на тест-микроорганизмы бактериостатическое действие.

Результаты, представленные в таблице 3 свидетельствуют о том, что спиртовые экстракты из базидиом всех исследуемых штаммов *G. lingzhi*, культивированных на дубовых субстратных блоках обладают бактерицидным действием в отношении АТСС-штаммов стафилококка и энтерококка, а также *E. faecium* 33 ванкомицин резистентного. Значения МПК для АТСС-штаммов стафилококка и энтерококка в зависимости от штамма *G. lingzhi* варьируют от 625 до 2500, однако для *E. faecium* 33 VAN-R значение МПК не зависит от штамма ксилотрофного гриба и составляет 2500. Надо отметить, что грибные экстракты из плодовых тел различных штаммов имеют различную эффективность в отношении *S. aureus* БС-1, 9, 12, 19, лучше всего себя показал штамм 304. Спиртовые экстракты исследуемых штаммов грибов не обладают бактерицидными свойствами в отношении *S. aureus* БС-19. Если сравнить бактерицидные свойства спиртовых экстрактов штаммов *G. Lingzhi*, то штамм 244 лучше всего себя показал в отношении *S. aureus* АТСС 29213 (МПК-625*), штамм 266 – *S. aureus* БС-1, *E. faecalis* АТСС 51299 (МПК-625, МПК-625*), штамм 303 – *E. faecalis* АТСС 51299, *S. aureus* АТСС 29213 (МПК-625, МПК-625*), штамм 304 – *E. faecalis* 35758, *S. aureus* АТСС 29213, *E. faecalis* АТСС 51299, *S. aureus* БС-9 (МПК-310, МПК-625, МПК-625, МПК-625*), штамм 331 – *E. faecalis* АТСС 51299 (МПК-625*), штамм 333 – *E. faecalis* АТСС 51299 (МПК-625*). Необходимо заметить, что лучше оценивать результат антимикробной активности грибных экстрактов на вторые сутки инкубации планшетов в термостате, т.к. на первые сутки результат не очень точный. Для определения МПК экстракта необходимо протестировать содержимое каждой лунки планшета, используя модифицированный метод тестирования бактерицидности экстрактов.

Выводы

Установлено, что спиртовые экстракты из плодовых тел *G. lingzhi*, культивированных на дубовых субстратных блоках обладают антимикробными свойствами в отношении *E. faecium* 33 VAN-R, *S. aureus* АТСС 29213, *E. faecalis* АТСС 51299. Спиртовые экстракты этих грибов не обладают бактерицидными свойствами в отношении *S. aureus* БС-19. В ходе экспериментальных исследований по изучению бактерицидных свойств базидиальных грибов *G. lingzhi* из коллекции штаммов грибов Института леса НАН Беларуси в отношении грамположительных микроорганизмов, был отобран наиболее перспективный штамм – им является *G. lingzhi* штамм 304.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дегтярёва, Е. И. Антимикробные и фунгицидные свойства ксилотрофных базидиомицетов, культивированных на растительных субстратах с добавлением микроудобрений / Е. И. Дегтярёва, С. А. Коваленко // Экологический Вестник Северного Кавказа. – 2021. – Т. 17, № 2. – С. 28–37.
2. Коваленко, С. А. Штаммовое разнообразие *Ganoderma lingzhi* и *G. lucidum* в коллекционном фонде Института леса НАН Беларуси / С. А. Коваленко, О. М. Назарова, В. М. Лубянова // Проблемы лесоведения и лесоводства : сб. науч. тр. Ин-та леса НАН Беларуси. – Вып. 82. – Гомель : Ин-т леса НАН Беларуси, 2022. – С. 215–227.
3. Дегтярёва, Е. И. Бактерицидные свойства янтаря и янтарной кислоты в отношении золотистого стафилококка / Е. И. Дегтярёва [и др.] // Вестник «НовГУ». – 2022. – № 2 (127). – С. 69–75.