

УДК 615.33:[582.284:615.451.16]

Е.И. Дегтярёва, доц., канд. биол. наук
(УО «ГомГМУ», г. Гомель);

С.А. Коваленко, доц., зав. сектором, канд. с.-х. наук
(ГНУ «Институт леса НАН Беларуси», г. Гомель);

Т.А. Петровская, зав. кафедрой, канд. мед. наук
(УО «ГомГМУ», г. Гомель);

А.С. Велюгина, мл. науч. сотр., асп.
(ГНУ «Институт леса НАН Беларуси», г. Гомель);

А. В. Дегтярёва, студ.
(УО «ГомГМУ», г. Гомель)

КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ АНТИБИОТИКОВ С ЭКСТРАКТАМИ ИЗ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ РАЗЛИЧНЫХ ШТАММОВ *INONOTUS OBLIQUUS* (FR.) PILÁT

MRSA (метициллин-резистентный *S. aureus*) и VRE (ванкомицин-резистентные *Enterococcus*) – ключевые патогены в стационарах, ограничивающие терапевтические опции. Оба рода часто образуют биоплёнки на имплантатах и ранах, что снижает эффективность антибиотиков и требует новых антимикробных стратегий. Ввиду широкого распространения антибиотикорезистентности, поиск новых активных соединений остаётся приоритетом глобальной программы борьбы с устойчивыми штаммами. Макромицеты синтезируют терпеноиды, фенолы, пептиды, полисахариды и др., многие из которых обладают антимикробной активностью. Природные соединения могут действовать через нетрадиционные мишени (нарушение мембран, ингибирование кворум-сенсинга, анти-био пленочные эффекты), что снижает перекрёстную резистентность с существующими антибиотиками. Кроме антимикробной активности экстракты обладают иммуномодулирующими и ранозаживляющими свойствами, которые могут быть эффективными при инфекциях кожи и мягких тканей, где *S. aureus* и *Enterococcus* часто вовлечены. Также экстракты и их фракции могут послужить стартовыми молекулами для разработки новых препаратов или адъювантов (снижающих дозы антибиотиков). А комбинации экстрактов с антибиотиками могут восстанавливать чувствительность или предотвращать формирование биоплёнок. Исследование экстрактов макромицетов против *S. aureus* и *Enterococcus* перспективное направление для поиска новых антимикробных средств и адъювантов, особенно в условиях роста резистентности и проблем с биоплёнками. При этом успех требует строгого скрининга на клинических изолятах, стандартизованных методов извлечения, последующего химического анализа и доклинической валидации. Перспективным объектом для

разработки на его основе лекарственных препаратов является гриб *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilát. Экстракты гриба *I. obliquus* содержат высокомолекулярный пигментный или так называемый полифенольный комплекс, имеющий сложный химический состав, значительную часть в котором занимают разнообразные фенольные соединения. Соединения полифенольного комплекса гриба *I. obliquus* обладают следующими биологически активными свойствами: антибактериальными, противоопухолевыми, противовоспалительными, антиоксидантными; эффективно подавляют перекисное окисление полиненасыщенных жирных кислот, предотвращают одноцепочные разрывы ДНК, повреждения биомембран, окисление SH групп белков и глутатиона [1].

Целью настоящей работы являлось изучение фармакологического взаимодействия экстракта из базидиом *I. obliquus* FIB – 535 с антибиотиками разных групп диско-диффузионным методом.

Объектом наших исследований являлись плодовые тела *Inonotus obliquus* (Fr.) Pilát FIB – 535 – трутовик скошенный, или чага (штамм прошёл видовую идентификацию в лаборатории геномных исследований и биоинформатики ГНУ «Институт леса НАН Беларуси»). Антибактериальные свойства спиртовых экстрактов из базидиом изучены в лабораторных условиях кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии УО «ГомГМУ».

Для получения вторичных метаболитов из сухих плодовых тел базидиальных ксилотрофных грибов проводили экстракцию 70% этиловым спиртом. 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. Для тест-культур микроорганизмов, выполнено определение чувствительности к антибиотикам разных групп диско-диффузионным методом на Мюллер-Хинтон агаре (МХА) и МХА с добавлением 2000 мг/л экстрактов из базидиом *I. obliquus* FIB-535. Бактериальный инокулюм готовили из суточных культур, выращенных на плотной питательной среде. Полученными суспензиями инокулировали чашки МХА без антибиотиков и чашки МХА, содержащие 2000 мг/л экстракта из базидиом *I. obliquus* FIB-535. Для определения чувствительности стафилококков использовали стандартные диски для определения чувствительности к антимикробным препаратам: нитрофурантоин (100 мкг), линезолид (30 мкг), тобрамицин (10 мкг), клиндамицин (2 мкг), левофлоксацин (5 мкг). Для определения чувствительности энтерококков - ванкомицин (5 мкг), линезолид (30 мкг), левофлоксацин (5 мкг), нитрофурантоин (100 мкг), ампициллин (10 мкг), имипенем (10 мкг). Аппликацию проводили автоматическим диспенсером. Чашки

инкубировали при температуре 35°C в течение 18 ч. После окончания инкубации измеряли диаметры зон задержки роста с помощью металлической линейки с точностью до 1 мм. Сравнивали диаметры зон подавления роста вокруг дисков с антибиотиками на чашке с МХА и МХА с 2000 мг/л экстрактов из базидиом *I. obliquus*. При увеличении диаметра зоны подавления роста в присутствии экстракта на 5 мм и более эффект комбинированного воздействия антибиотиков и экстракта считали синергидным [2, 3].

На агаре Мюллер-Хинтон зоны подавления роста вокруг дисков с нитрофурантоином колебались от 10 до 40 мм, для линезолида их диаметр составлял от 30 до 50 мм, для тобрамицина – от 6 до 24 мм, для клиндамицина – от 6 до 38 мм, для левофлоксацина – от 13 до 40 мм в зависимости от тест-микроорганизма. Экстракт FIB-535 в комбинации с тобрамицином показал значимый эффект в отношении клинических штаммов стафилококков. Данный эффект можно назвать синергидным т.к. зона отсутствия роста БС-1 увеличилась на 16 мм, БС-9 на 5 мм, БС-12 на 6 мм, БС-19 на 6 мм. При добавлении к МХА экстракта штамма FIB-535 вокруг дисков с нитрофурантоином наблюдалось увеличение зоны подавления роста *S.aureus* БС 9 на 6 мм, БС-12 на 9 мм, БС-19 на 9 мм. Для клинического изолята *S.aureus* БС-1 было выявлено незначительное увеличение диаметра зоны подавления роста только на 1 мм. При добавлении к МХА экстракта из базидиом FIB-535 вокруг дисков с линезолидом наблюдалось увеличение зоны подавления роста *S.aureus* БС-1, 19 на 8 и 10 мм соответственно, для других штаммов золотистого стафилококка диаметр зоны подавления роста не увеличился по сравнению с МХА без добавления грибного экстракта – эффект нейтральный. Для клиндамицина с экстрактом FIB-535 в отношении *S.aureus* ATCC 29213 регистрировалось увеличение диаметра зоны подавления роста на 2 мм, *S.aureus* БС-1 диаметр зон подавления роста не изменился по сравнению с контролем, эта комбинация оказалась неэффективна, для *S.aureus* БС-9 наблюдалось увеличение зоны подавления роста на 4 мм, для *S.aureus* БС-12 и 19 наблюдалось увеличение зоны подавления роста на 6 мм. Левофлоксацин проявил антимикробный эффект с грибным экстрактом со всеми клиническими штаммами *S.aureus* зоны подавления роста колебались от 2 до 4 мм. При добавлении к МХА раствора экстракта *I. obliquus* FIB-535 вокруг дисков с нитрофурантоином наблюдалось увеличение зоны подавления роста *E. faecalis* ATCC 51299 до 14 мм, *E. faecium* VAN-R на 5 мм, для *E. faecalis* 35758 диаметр зоны подавления роста увеличился на 5 мм по сравнению с МХА без добавления грибного экстракта, что может рассматриваться как синергидный эффект. При

добавлении к МХА раствора грибного экстракта вокруг дисков с линезолидом не наблюдалось увеличение зоны подавления роста *E. faecalis* ATCC 51299, *E. faecalis* 35758. Для ванкомицина синергидный эффект с экстрактом FIB-535 отмечен для *E. faecium* VAN-R (увеличение диаметра зоны подавления роста на 17 мм) и *E. faecalis* 35758 (увеличение диаметра зоны подавления роста на 5 мм), для *E. faecalis* ATCC 51299 не наблюдалось увеличение зоны подавления роста. Очевидно, что экстракт из базидиоидом *I. obliquus* FIB-535 восстанавливает антибактериальную активность ванкомицина. С имипенемом, ампицилином, ванкомицином, линезолидом увеличение диаметров зон подавления роста *E. faecalis* ATCC 51299 не наблюдалось в присутствии грибного экстракта.

Таким образом, можно заключить, что в отношении *S. aureus* наилучшей комбинацией антибиотика с экстрактами из плодовых тел штамма *I. obliquus* FIB-535 обладающей синергидным действием является тобромицин + экстракт, нитрофурантоин + экстракт. Для *E. faecium* VAN-R синергидную активность проявил экстракт в комбинации с ванкомицином (17 мм), левофлоксацином (22 мм), нитрофурантоином (5 мм), ампициллином (34 мм), имипенемом (24 мм). Для *E. faecalis* 35758 синергидную активность проявил экстракт в комбинации с ванкомицином (5 мм), левофлоксацином (5 мм), нитрофурантоином (8 мм), ампициллином (25 мм), имипенемом (10 мм). Для *E. faecalis* ATCC 51299 синергидную активность проявил экстракт в комбинации с левофлоксацином (10 мм), нитрофурантоином (14 мм).

Необходимо отметить, что проведенный эксперимент является ориентировочным, поскольку не позволяет количественно охарактеризовать типы фармакодинамических взаимодействий.

ЛИТЕРАТУРА

1. Фундаментальные основы микологии и создание лекарственных препаратов из мицелиальных грибов / Е. П. Феофилова [и др.]. – М.: Национальная академия микологии, 2013. – 152 с.
2. Дегтярёва Е. И. Антимикробные и фунгицидные свойства ксилотрофных базидиомицетов, культивируемых на растительных субстратах с добавлением микроудобрений / Е. И. Дегтярёва, С. А. Коваленко // Экологический Вестник Северного Кавказа. – 2021. – Т. 17, № 2. – С. 28–37.
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.