

## СЕКЦИЯ

### Инфекционные болезни. Эпидемиология. Микробиология. Туберкулез

показатель заболеваемости туберкулезом женского населения в Республике Беларусь снизился в 3,7 раза, имел стабильную тенденцию к снижению, которая отмечалась во всех областях и г. Минске. Показатель заболеваемости туберкулезом мужского населения в Республике Беларусь за указанный выше период снизился в 4,2 раза, имел также стабильную тенденцию к снижению, которая отмечалась во всех областях. Самые высокие темпы снижения показателя заболеваемости туберкулезом мужского населения отмечались в г. Минске. Они в 4 раза превосходили аналогичный показатель по республике. Полученные нами результаты исследования могут быть использованы в практике противотуберкулезных учреждений для планирования и проведения скрининга на туберкулез в областях и г. Минске.

#### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Global tuberculosis report 2022. Geneva: World Health Organization; 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. [Электронный ресурс]. - 2022. – Режим доступа: <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports/global-tuberculosis-report-2022>. - Дата доступа : 21.09.2023.

2. Global Health Estimates 2020: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2019. Geneva, World Health Organization; 2020. [Электронный ресурс]. - 2020. – Режим доступа: <https://www.who.int/data/gho/data/themes/mortality-and-global-health-estimates/ghe-leading-causes-of-death>. - Дата доступа: 21.09.2023.

УДК 579.61:582.284:631.8

*Е. И. Дегтярёва, Т. А. Петровская, О. В. Зинкевич, А. В. Дегтярёва*

*Учреждение образования*

*«Гомельский государственный медицинский университет»*

*г. Гомель, Республика Беларусь*

### АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА СПИРТОВЫХ ЭКСТРАКТОВ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ *GANODERMA LINGZHI*

#### **Введение**

Базидиальные ксилотрофные грибы содержат ряд биологически активных веществ с потенциальным лечебным действием. 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. Устойчивость к антибиотикам часто может появляться спонтанно вследствие произвольных мутаций и из-за неправильного применения антибиотиков, что актуально сейчас. Лечение заболеваний, вызванных микроорганизмами, устойчивых ко многим антибиотикам, становится все более затрудненным.

#### **Цель**

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

#### **Материалы и методы исследования**

Исследования по получению плодовых тел *G. lingzhi* проведены в лабораторных условиях сектора пищевых и лекарственных ресурсов леса Государственного науч-

## СЕКЦИЯ

### Инфекционные болезни. Эпидемиология. Микробиология. Туберкулез

ного 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 303, 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 303, 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 (IBK) [2].

Таблица 1 – Происхождение коллекционных штаммов *Ganoderma spp.*

Вид	№ штамма	Год поступления в коллекцию	Источник поступления в коллекцию
<i>G. lingzhi</i>	303	2011	Брестская обл., Берёзовский р-н, г. Белоозёрск, грибоводческое хозяйство «Виола», выделен из посевного мицелия
<i>G. lingzhi</i>	333	2004	Киев, Институт ботаники им. Н.Г. Холодного, чистая культура штамма IBK-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°C, 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°C 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).

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

## СЕКЦИЯ

### Инфекционные болезни. Эпидемиология. Микробиология. Туберкулез

исследуемых микроорганизмов в 12 ряду лунок (при отсутствии в лунках спиртовых экстрактов из плодовых тел *G. lingzhi*).

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

Метод тестирования бактерицидных свойств 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 (рисунок 1).

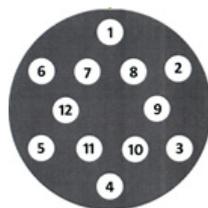


Рисунок 1 – Шаблон для нанесения содержимого лунок планшета на плотную питательную среду

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°C. 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.

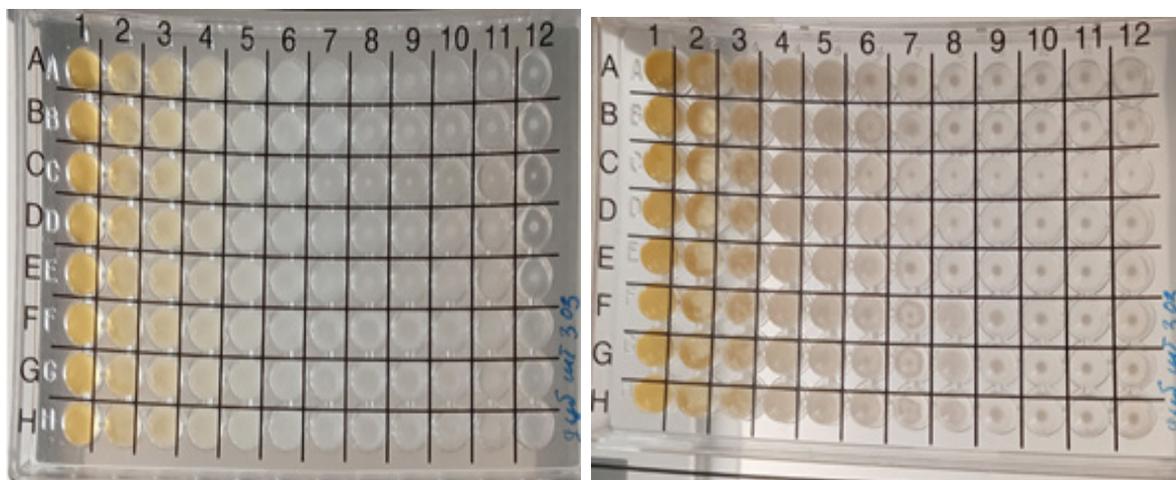
## СЕКЦИЯ

### Инфекционные болезни. Эпидемиология. Микробиология. Туберкулез

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

Тест-микроорганизмы	<i>G. lingzhi</i> штамм 303	<i>G. lingzhi</i> штамм 333
<i>S. aureus</i> ATCC 29213	625	1250
<i>E. faecalis</i> ATCC 51299	310	625
<i>E. faecium</i> 33 VAN-R	1250	1250
<i>E. faecalis</i> 35758	310	2500
<i>S. aureus</i> BC-1	1250	2500
<i>S. aureus</i> BC-9	1250	1250
<i>S. aureus</i> BC-12	1250	1250
<i>S. aureus</i> BC-19	2500	2500

Результаты, представленные в таблице 3 свидетельствуют о том, что антимикробная активность спиртовых экстрактов из базидиом *G. lingzhi*, культивируемых на дубовых субстратных блоках выше у штамма 303. Однако надо отметить, что грибные экстракты обоих штаммов эффективны в отношении *E. faecalis* VAN-R – МПК 1250. Спиртовые грибные экстракты штамма 303 лучше всего подавляют рост *E. faecalis* ATCC 51299, *E. faecalis* 35758, *S. aureus* ATCC 29213. Необходимо заметить, что лучше оценивать результат антимикробной активности грибных экстрактов на вторые сутки инкубации планшетов в термостате, так как на первые сутки результат не очень точный. Для определения МПК экстракта необходимо протестировать содержимое каждой лунки планшета, используя модифицированный метод тестирования бактерицидности экстрактов (рисунки 2, 3).

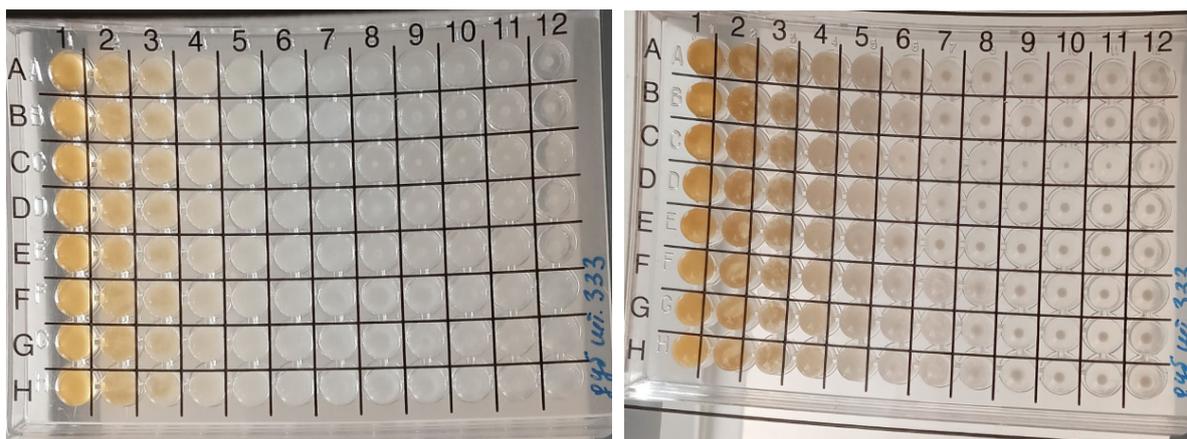


первый день инкубации

второй день инкубации



Рисунок 2 – МПК спиртовых экстрактов *G. lingzhi* штамм 303



первый день инкубации

второй день инкубации



Рисунок 3 – МПК спиртовых экстрактов *G. lingzhi* штамм 333

### Заключение

Установлено, что спиртовые экстракты из плодовых тел *G. lingzhi*, культивированных на дубовых субстратных блоках обладают антимикробными свойствами в отношении 6 клинических изолятов *Staphylococcus aureus*: БС-1, БС-9, БС-12, БС-19; *Enterococcus faecalis* 35758, *E. faecium* 33 VAN-R, *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 51299.

### 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.