

2. Clinical Impact of Pretreatment Human Immunodeficiency Virus Drug Resistance in People Initiating Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor-Containing Antiretroviral Therapy: A Systematic Review and Meta-analysis [Electronic resource] // The Journal of Infectious Diseases. Oxford Academic. – Mode of access: <https://academic.oup.com/jid/article/224/3/377/5986606?login=false>. – Date of access: 14.10.2024.

3. *Tf, L.* Web resources for HIV type 1 genotypic-resistance test interpretation / *L. Tf, S. Rw* // Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America. – 2006. – Vol. 42, № 11. – P. 1608–1618.

УДК 579.61:582.284:631.8

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

Учреждение образования
«Гомельский государственный медицинский университет»
г. Гомель, Республика Беларусь

БАКТЕРИЦИДНЫЕ СВОЙСТВА *GRIFOLA FRONDOSA* (DICKS.) GRAY В ОТНОШЕНИИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ГНОЙНЫХ ИНФЕКЦИЙ

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 в настоящее время. 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. frondosa* (Dicks.) Gray (штаммы 202, 207, 265, 301).

Материал и методы исследования

Объектами лабораторных исследований стали штаммы редкого вида ксилотрофных базидиомицетов из коллекции штаммов грибов ГНУ «Институт леса НАН Беларуси» (FIB): *G. frondosa* (Dicks.) Gray (штаммы 202, 207, 265, 301). Все коллекционные штаммы прошли видовую идентификацию с использованием молекулярно-генетических методов: секвенирования рибосомального оперона ядерной ДНК базидиальных грибов (типировка вида основывается на анализе нуклеотидной структуры ампликонов 18SRNA-ITS1-5,8SRNA-ITS2-28S региона рДНК) в лаборатории геномных исследований и биоинформатики ГНУ «Институт леса НАН Беларуси». Штаммы 202 и 207 получены в 1999 г. из США, штамм 265 – в 2009 г. из Российской Федерации, штамм 301 – в 2011 г. из грибоводческого хозяйства «Виола» Брестской области. Штамм 202 передан в 2000 г. на хранение в Коллекцию шляпочных грибов Института ботаники им. Н. Г. Холодного НАН Украины (IBK) [2].

Антибактериальные свойства спиртовых экстрактов из базидиом *G. frondosa* (Dicks.) Gray (штаммов 202, 207, 265, 301) изучены в лабораторных условиях кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии.

Для получения вторичных метаболитов из сухих плодовых тел базидиальных ксилотрофных грибов проводили экстракцию 70% этиловым спиртом. Применяли метод

мацерации с продолжительным периодом нагрева экстракционной смеси до температуры +35°C, предотвращающей разрушение энзимов. 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. Сухие спиртовые экстракты растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО), доводя раствор до 20 000 мкг/мл, используя метод пропорции при расчетах. Минимальные подавляющие концентрации (МПК) экстрактов определяли методом последовательных двукратных микроразведений в стерильных полистироловых круглодонных 96-луночных планшетах с V-образным дном (Starsedt, Германия) в трехкратной повторности.

В исследование включены суточные культуры 6 клинических изолятов, взятых из рабочей коллекции кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии УО «Гомельский государственный медицинский университет»: *Staphylococcus aureus* (БС-1, БС-9, БС-12, БС-19), *Enterococcus faecalis* 35758 и *Enterococcus faecium* 33 VAN-R, которые были выделены от пациентов с различными гнойно-воспалительными заболеваниями (остеомиелит, пневмония, инфекции мочевыделительной системы, эндокардит, раневые инфекции, сепсис) в лечебных учреждениях Республики Беларусь. Для контроля качества исследований в панель микроорганизмов для тестирования включены эталонные штаммы из Американской коллекции типовых культур (АТСС): *S. aureus* АТСС 29213, *E. faecalis* АТСС 51299. Заполненные планшеты закрывали крышкой, и, упаковав в герметичные пакеты из полиэтилена, с целью предупреждения высыхания помещали в термостат при температуре +35°C на 24 ч. По истечении времени инкубации нами были изучены антибактериальные свойства спиртовых экстрактов из плодовых тел *G. frondosa*, 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. frondosa*).

Для изучения бактерицидных свойств спиртовых экстрактов из плодовых тел *G. frondosa* использовали метод тестирования бактерицидности экстрактов МСВТ [3, 4].

Результаты исследования и их обсуждение

В таблице 1 отражены минимальные концентрации грибных спиртовых экстрактов, подавляющие рост тест-микроорганизмов.

Результаты, представленные в таблице 1, свидетельствуют о том, что тест-микроорганизмы чувствительны к экстрактам из плодовых тел изучаемых штаммов *G. frondosa* (Dicks.) Gray (штаммы 202, 207, 265, 301). МПК для АТСС-штаммов стафилококка и энтерококка в зависимости от штамма *G. frondosa* варьируют от 625 до 5000, а для *E. faecium* 33 VAN-R значение МПК варьирует от 1250 до 2500 (рисунок 1).

Таблица 1 – Минимальные концентрации спиртовых экстрактов из базидиом *G. frondosa*, подавляющие рост тест-микроорганизмов (мкг/мл)

Тест-микро-организмы	Штаммы <i>G. frondosa</i>						
	202 ольха	202 осина	265 ольха	265 осина	301 ольха	301 осина	207 осина
<i>S. aureus</i> АТСС 29213	1250	1250	2500	5000	2500	1250	2500*
<i>E. faecalis</i> АТСС 51299	625*	625	1250	625*	625	625	625
<i>E. faecium</i> 33 VAN-R	1250	2500	2500	1250*	2500	1250	2500*
<i>E. faecalis</i> 35758	312*	625	625	625	625	1250*	625*
<i>S. aureus</i> БС-1	625*	1250	1250	625	1250	1250	2500

Окончание таблицы 1

Тест-микро-организмы	Штаммы <i>G. frondosa</i>						
	202 ольха	202 осина	265 ольха	265 осина	301 ольха	301 осина	207 осина
<i>S. aureus</i> БС-9	156*	2500	625	156*	625	312*	2500*
<i>S. aureus</i> БС-12	156*	2500	625	312*	625	312*	1250
<i>S. aureus</i> БС-19	2500	2500	625	312*	625	312*	2500*

* Данная концентрация грибного экстракта оказывает на тест-микроорганизмы бактериостатическое действие.

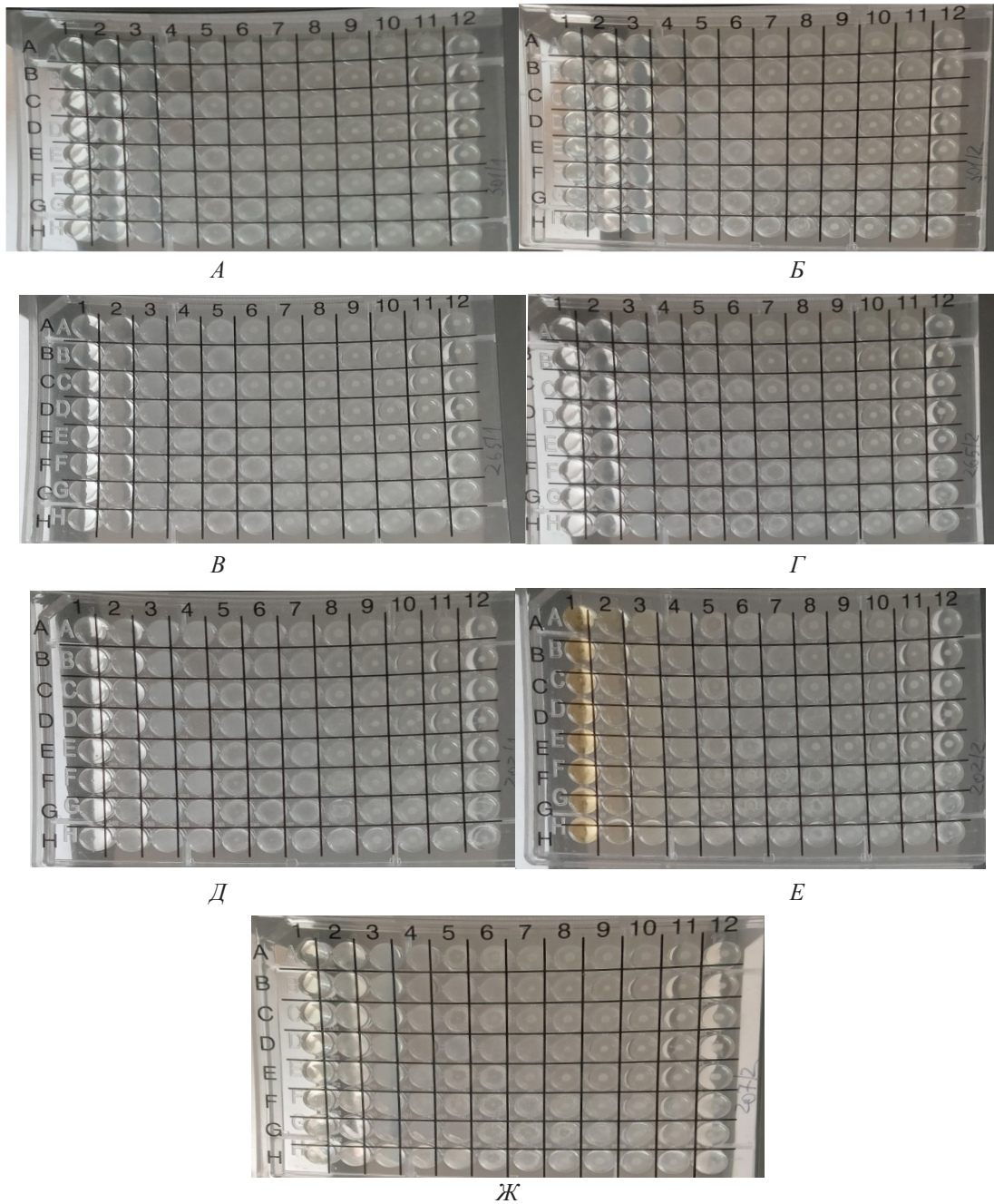


Рисунок 1 – Пластины, заполненные спиртовыми экстрактами из плодовых тел *G. frondosa* с тест-микроорганизмами: А – штамм 301, культивированный на ольховых опилках; Б – штамм, 301 культивированный на осиновой стружке; В – штамм 265, культивированный на ольховых опилках; Г – штамм 265, культивированный на осиновой стружке; Д – штамм 202, культивированный на ольховых опилках; Е – штамм 202, культивированный на осиновой стружке; Ж – штамм 207, культивированный на осиновой стружке

Надо отметить, что спиртовые экстракты из плодовых тел различных штаммов имеют различную эффективность в отношении клинических изолятов *S. aureus* БС-1, 9, 12, 19. Лучше всего себя показали штаммы 265 и 301. Более эффективными оказались экстракты из базидиом культивированных на осиновых субстратах. Если сравнить бактерицидные свойства спиртовых экстрактов штаммов *G. frondosa*, то штамм 202 лучше всего себя показал в отношении *E. faecalis* 35758, *E. faecalis* ATCC 51299 (МПК-625); при этом необходимо заметить, что экстракты из плодовых тел, полученных на субстратных блоках с добавлением ольховых опилок, обладали большими антимикробными свойствами. Штамм 265 лучше себя показал в отношении *E. faecalis* 35758 и клинических изолятов *S. aureus* (МПК-625, МПК-156*), штамм 301 – в отношении *E. faecalis* ATCC 51299, *S. aureus* БС-9,12,19 (МПК-625, МПК-312*), штамм 207 – в отношении *E. faecalis* ATCC 51299 (МПК-625). Нами выявлена эффективность спиртовых экстрактов штаммов *G. frondosa* в отношении *E. faecium* 33 VAN-R.

Ввиду большой распространенности гнойно-септических инфекций можно рассматривать базидиальные грибы *G. frondosa* в качестве альтернативного противомикробного препарата для местной терапии стафилококковых и энтерококковых инфекций.

Выводы

Исследования выявили значительный полиморфизм коллекционных штаммов *G. frondosa* в отношении 6 клинических изолятов *S. aureus* (БС-1, БС-9, БС-12, БС-19), *E. faecalis* 35758, *E. faecium* 33 VAN-R, *S. aureus* ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 51299. В отношении грамположительных микроорганизмов были отобраны наиболее перспективные штаммы *G. frondosa* – FIB-265; FIB-301. Бактерицидность спиртовых экстрактов из базидиом *G. frondosa* по отношению к тест-микроорганизмам штаммоспецифична. Штамм 202 лучше всего себя показал в отношении *E. faecalis* 35758, *E. faecalis* ATCC 51299, штамм 265 – *E. faecalis* 35758 и клинических изолятов *S. aureus*, штамм 301 – *E. faecalis* ATCC 51299, *S. aureus* БС-9,12,19, штамм 207 – *E. faecalis* ATCC 51299. Таким образом, только с учетом предварительного поэтапного определения чувствительности возбудителя к экстрактам из различных штаммов *G. frondosa* можно рассматривать их как вполне возможную альтернативу антибиотикам для терапии гнойно-воспалительных заболеваний, вызванных антибиотикорезистентными микроорганизмами.

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. Бактерицидные свойства янтаря и янтарной кислоты в отношении золотистого стафилококка / Е. И. Дегтярёва [и др.] // Вестник НовГУ. – 2022. – № 2 (127). – С. 69–75.
4. Бактерицидные свойства *Ganoderma lucidum* в отношении стафилококковой инфекции / Е. И. Дегтярёва [и др.] // Проблемы лесоведения и лесоводства : сб. науч. тр. Ин-та леса НАН Беларуси. – Вып. 83. – Гомель : Ин-т леса НАН Беларуси, 2023. – С. 316–328.