

Литература

1. Красильников, А.П. Справочник по антисептике. – Мн., 1995. – С. 25-29.
2. Качан, Р.В. Антисептика рук / Р.В. Качан, О.А. Андреева, А.П. Строкань // Вісник Київського національного університету технологій та дизайну. – 2014. – № 1, Т. 75. – С. 25-29.
3. Мельникова Г.Н. Кожные антисептики для обеззараживания рук медицинского персонала в целях оптимизации профилактики внутрибольничных инфекций в медицинских учреждениях / Г.Н. Мельникова, Л.И. Анисимова.// Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2012. – № 1. – С. 51-59.

ЛИШАЙНИКИ КАК ПЕРСПЕКТИВНЫЙ ИСТОЧНИК СОЕДИНЕНИЙ С АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Тапальский Д.В.¹, Косенкова К.М.¹,
Петренёв Д.Р.¹, Храмченкова О.М.²

¹Гомельский государственный медицинский университет, Беларусь
Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии

²Гомельский государственный университет им. Ф. Скорины, Беларусь

Актуальность. Стремительное распространение множественной устойчивости к антибиотикам среди возбудителей бактериальных инфекций требует поиска соединений с новыми механизмами противомикробного действия. Лишайники и их многочисленные вторичные метаболиты рассматриваются в качестве перспективных источников таких соединений [3]. Работы по исследованию антибактериальной активности лишайников интенсивно проводятся в последнее десятилетие в ряде европейских стран [2, 4]. Среди огромного видового разнообразия лишайников только относительно небольшое их количество (не более 70-100 видов) было скринировано на присутствие антимикробных свойств, при этом более чем у половины исследованных видов такие свойства удавалось выявить.

Цель. Изучение спектра и выраженности антибактериальных и противогрибковых свойств у видов лишайников, широко представленных в лишенофлоре Беларуси.

Материалы и методы исследования. В исследование включены 5 наиболее распространенных на территории Беларуси видов лишайников с хорошо описанным составом вторичных метаболитов: *Hypogymnia physodes* (L.) Nyl., *Xanthoria parietina* (L.) Th. Fr., *Evernia prunastri* (L.) Ach., *Ramalina pollinaria* (Westr.) Ach., *Cladonia arbuscula* (Wallr.) Flot.

Слоевища лишайников отбирали на типичных для каждого вида субстратах. Массу лишайников отделяли от субстрата и сушили до воздушно-сухого состояния. Для извлечения вторичных метаболитов высушенную массу лишайников измельчали при помощи лабораторной мельницы. Извлечение вторичных метаболитов проводили ацетоном в аппарате Сокслета на протяжении 6 часов при температурах, не превышающих температуру кипения растворителя. После фильтрации растворитель испаряли при комнатной температуре.

В панель микроорганизмов для тестирования включены 13 эталонных штаммов из Американской коллекции типовых культур (АТСС), из них 5 штаммов грамположительных бактерий (*Enterococcus faecalis* АТСС 29212, *Enterococcus casseliflavus* АТСС 700327, *Staphylococcus aureus* АТСС 25923, *S. aureus* АТСС 6538, *S. saprophyticus* АТСС ВАА-750), 4 штамма грамотрицательных бактерий (*Enterobacter hormaechei* АТСС 700323, *Escherichia coli* АТСС 25922, *Pseudomonas aeruginosa* АТСС 27853, *Stenotrophomonas maltophilia* АТСС 17666) и 4 штамма грибов рода *Candida* (*C. albicans* АТСС 10231, *C. albicans* АТСС 14053, *C. albicans* АТСС 90029, *C. parapsilosis* АТСС 22019). Дополнительно в исследование включены 6 клинических изолятов грамотрицательных неферментирующих бактерий с множественной устойчивостью к антибиотикам (*P. aeruginosa* G-150, *S. maltophilia* 20014-163, *S. maltophilia* 20014-279, *S. maltophilia* 20014-283, *S. maltophilia* 2014-785, *S. maltophilia* 2014-1262).

Минимальные подавляющие концентрации (МПК) экстрактов определяли методом микроразведений в стерильных полистироловых плоскодонных 96-луночных планшетах (Sarstedt, Германия). Сухие ацетоновые экстракты растворяли в диметилсульфоксиде (DMSO), концентрация экстракта в DMSO 20 мг/мл. Далее из раствора в DMSO готовили двукратные серийные разведения экстрактов в бульоне Мюллера-Хинтона (BD, США) и в бульоне Сабуро (HiMedia, Индия) в диапазоне концентраций от 500 до 4 мкг/мл. Для улучшения визуализации в бульоны предварительно был внесен метаболический индикатор – трифенилтетразолия хлорид в концентрации 200 мкг/мл. Из суточных культур тестируемых микроорганизмов, выращенных на ГРМ-агаре (бактерии) или агаре Сабуро (грибы), в стерильном изотоническом растворе хлорида натрия готовили бактериальные суспензии с оптической плотностью 0,5 МакФарланд ($1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл). По 1,5 мкл полученной суспензии вносили в лунки планшета, содержащие по 150 мкл серийных разведений экстрактов лишайников. Последнюю лунку, содержащую 150 мкл питательной среды и 1,5 мкл микробной суспензии, использовали в качестве контроля роста.

Планшеты инкубировали в шейкере-термостате 18 ч – 35°C (бактерии) или 48 ч – 28°C (грибы) с постоянным низкоамплитудным встряхиванием 90 об/мин. Учет МПК проводили по отсутствию видимого роста микроорганизмов, сравнивая опытные и контрольные лунки, а также лунки с неинокулированной питательной средой. Для определения минимальных бактерицидных концентраций (МБК) выполняли высев 10 мкл содержимого каждой лунки на сектор плотной питательной среды (ГРМ-агар для бактерий или агар Сабуро для грибов). После 24-часовой инкубации оценивали рост микроорганизмов, минимальную концентрацию, предотвращающую микробный рост, указывали как МБК.

Результаты. Выход ацетоновых экстрактов (в пересчете на сухую массу) составил для *H. physodes* – 11,8%, *X. parietina* – 9,2%, *E. prunastri* – 12,2%, *R. pollinaria* – 9,9%, *C. arbuscula* – 13,7%.

Отмечена выраженная антибактериальная активность экстрактов *H. physodes* и *C. arbuscula* в отношении стафилококков и энтерококков (МПК 31-62 мкг/мл), экстракт *R. pollinaria* был активен против них в концентрациях 125-250 мкг/мл. Антимикробная активность в отношении штаммов энтеробактерий и *P. aeruginosa* отсутствовала в тестируемом диапазоне концентраций у всех экстрактов. Выявлена активность экстрактов *E. prunastri*, *H. physodes* и *C. arbuscula* (МПК 250-500 мкг/мл) в отношении всех штаммов *S. maltophilia*. Экстракт *X. parietina* не был активен в отношении всех тестируемых микроорганизмов. Противогрибковая активность (МПК 500 мкг/мл для всех штаммов *Candida*) выявлена только для экстракта *E. prunastri*.

МБК для большинства экстрактов с выявленной антимикробной активностью были равны МПК или отличались от нее не более чем на 1 разведение, что свидетельствует о преимущественно бактерицидном действии комплекса содержащихся в экстрактах вторичных метаболитов лишайников на микробную клетку.

Выводы. Противомикробная активность экстрактов лишайников проявлялась главным образом в отношении грамположительных бактерий, что согласуется с результатами ранее проведенных исследований. Показан преимущественно бактерицидный характер антимикробного действия. Антибактериальная активность была выражена сильнее, чем противогрибковый эффект, что может быть обусловлено значительными отличиями в строении клеточной стенки бактерий и грибов, а также различной ее проницаемостью для антибактериальных компонентов экстрактов. Заслуживает особого внимания выявленная антимикробная активность экстрактов *E. prunastri*, *H. physodes* и *C. arbuscula* в отношении *S. maltophilia* – грамотрицательной нефер-

ментирующей бактерии с природной устойчивостью к большинству антибиотиков. В связи с множественной лекарственной устойчивостью клинических штаммов *S. maltophilia* возможности выбора химиотерапевтических препаратов для лечения инфекций, вызванных этим микроорганизмом, крайне ограничена [1]. В этой связи лишайники можно рассматривать как возможный источник получения антимикробных соединений с антистенотрофомонадной активностью.

Направлением дальнейших исследований может стать выделение, очистка и изучение спектра антибактериальной активности отдельных вторичных метаболитов, входящих в состав *H. physodes* и *C. arbuscula*.

Литература

1. Chang Y.T., Lin C.Y., Chen Y.H., Hsueh P.R. Update on infections caused by *Stenotrophomonas maltophilia* with particular attention to resistance mechanisms and therapeutic options. *Front. Microbiol.* 2015, 6: 893.
2. Rankovic B., Misic M., Sukdolak S. Antimicrobial activity of extracts of the lichens *Cladonia furcata*, *Parmelia caperata*, *Parmelia pertusa*, *Hypogymnia physodes* and *Umbilicaria polyphylla* // *Br. J. Biomed. Sci.* 2007, 64(4): 143-148.
3. Srivastava P., Upreti D.K., Dhole T.N. et al. Antimicrobial property of extracts of Indian lichen against human pathogenic bacteria. *Interdiscip. Perspect. Infect. Dis.* 2013, 2013: 709348.
4. Studzinska-Sroka E., Holderna-Kedzia E., Galanty A. et al. In vitro antimicrobial activity of extracts and compounds isolated from *Cladonia uncialis*. *Nat. Prod. Res.* 2015; 29(24): 2302-2307.

БЫСТРАЯ ДИАГНОСТИКА АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ПАТОГЕНОВ БЕЗ УСТАНОВЛЕНИЯ ИХ ВИДОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

Таранда Н.И., Касперович В.В.

Гродненский государственный аграрный университет
Кафедра микробиологии и эпизоотологии

Актуальность. Часто встречаясь во время работы с необходимостью установления возбудителей маститов у коров того или иного хозяйства с целью определения их устойчивости к антибиотикам или комплексным шприцевым препаратам, приходится значительную часть времени тратить на установление вида возбудителя заболевания [1, 2]. Первым путем может быть установление наличия в молоке больных коров наиболее многочисленных микроорганизмов, которые не относятся к представителям нормальной микрофлоры молока и