

**АНТИМИКРОБНЫЙ ЭФФЕКТ ЭКСТРАКТОВ ГРИБА *STEREUM HIRSUTUM*  
К НЕКОТОРЫМ МИКРООРГАНИЗМАМ, СПОСОБНЫМ ПРЕОДОЛЕВАТЬ  
ГИСТОГЕМАТИЧЕСКИЕ БАРЬЕРЫ**

**О.Н. Жук, Д.А. Слиж, Ю.В. Шумская, М.А. Заруба, В.И. Дунай**

*Полесский государственный университет, Пинск*

Представления о патогенезе многих заболеваний претерпели значительные изменения. В последние годы получены однозначные доказательства роли кишечной микробиоты в развитии таких заболеваний, как атеросклероз, ожирение, аллергические, аутоиммунные и многие другие. В результате развития стрессовой реакции организма на внешние и внутренние раздражители активируется ось микробиота–кишечник–мозг. При этом нарушается проницаемость кишечника, что, в свою очередь, вызывает воспалительную реакцию за счет транслокации – перемещения бактерий через стенку кишечника. Универсальным ответом на повреждение тканей является нейровоспаление, возникающее при преодолении инфекционными агентами гематоэнцефалического барьера (ГЭБ) [1].

Исходя из этих данных, резонно расширить сферу применения антибиотиков как «нестандартных» препаратов для лечения такого рода расстройств, что, с учетом способности микробов приобретать устойчивость к антибиотикам и противомикробным препаратам, создает необходимость поиска новых субстанций с антибиотической активностью. Перспективным объектом биотехнологии рассматривается гриб *Stereum hirsutum*. Это обычный обитатель древесины ослабленных деревьев и разрушитель свежего валежа лиственных пород. В плодовых телах *S. hirsutum* найдены антиоксидантные, антимикробные и антираковые соединения. В случае обнаружения способности данного гриба в условиях глубоинной культуры синтезировать в достаточном количестве вещества, обладающие биологической активностью сопоставимой с таковой у природного гриба, появится блестящая перспектива получать синтезируемые им субстанции в промышленных объемах [2].

Цель работы – оценить антибиотическую активность культуральной жидкости и экстрактов гриба *Stereum hirsutum* и сравнить результаты с действием антибиотиков, используемых при лечении инфекционных заболеваний человека.

**Материалы и методы.** Исследования антибиотических свойств культуральной жидкости и экстрактов гриба *Stereum hirsutum* выполнены на базах УО ”Полесский государственный университет“ и ГУ ”Пинский зональный центр гигиены и эпидемиологии“.

В качестве объекта исследования использовали гриб *Stereum hirsutum* (стереум жестковолосистый).

В данном исследовании использовали четыре грамположительных микроорганизма: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Listeria monocytogenes*, *Corynebacterium diphtheriae*, которые способны преодолевать гистогематический и гематоэнцефалический барьеры [3].

Глубинное культивирование *S. hirsutum* проводили в течение 14 суток по ранее описанной методике [4]. По окончании культивирования отбирали культуральную жидкость и мицелий, из которого получали экстракты. Мицелий использовали сырой и в виде высушенного в сушильном шкафу при температуре 35 °С до сухого остатка, который перед экстракцией измельчили в порошок.

Изучали следующие экстракты мицелия гриба: водный – 1 г гриба + 15 мл дистиллированной воды; и спиртовой – 1 г гриба + 15 мл этилового спирта (70%).

Фильтрацию экстракта проводили через 2 слоя фильтровальной бумаги, а концентрирование экстракта в 10 раз – с помощью роторного испарителя.

Культивирование *Str. pneumoniae*, *L. monocytogenes* и *C. diphtheria* проводили на кровяном агаре, а *S. aureus* на желточно-солевом агаре. Для приготовления инокулята использовался метод прямого суспендирования в стерильном изотоническом растворе колоний чистых 24-часовых культур бактерий, выросших на плотных неселективных питательных средах.

Для изучения влияния антибиотиков, культуральной жидкости и экстрактов гриба *Stereum hirsutum* на выбранные микроорганизмы использовали диско-диффузионный метод (ДДМ). Контролем определения чувствительности микроорганизмов к метаболитам *S. hirsutum* служили индикаторные стандартизированные диски (НИЦФ, Санкт-Петербург), пропитанные антибиотиками – азитромицин (15 мкг), ампициллин/сульбактам (15 мкг), гентамицин (10 мкг), линезолид (30 мкг), меропенем (10 мкг) и цефуроксим (30 мкг) [5]. Для исследования биологической активности гриба готовили диски аналогичных размеров из фильтровальной бумаги и пропитывали их исследуемыми образцами *S. hirsutum*. Инкубацию проводили при 37 °С, в течение 24 часов. Результаты учитывали как среднюю площадь зоны полного подавления роста микроорганизмов, определяемую невооруженным глазом при расположении чашек Петри на расстоянии примерно 30 см от глаз на фоне белой бумаги.

Все опыты выполнены в трех повторах. Полученные результаты обрабатывали статистически с применением однофакторного дисперсионного анализа с помощью пакета анализа данных MS Excel.

**Результаты.** В течение 24-часовой инкубации *S. aureus*, *Str. pneumoniae*, *L. monocytogenes* и *C. diphtheriae* сформировали равномерный сплошной слой. Зоны подавления роста, образуемые вокруг дисков с антибиотиками, имели вид четко выраженной окружности с ровными краями. Площадь этих зон зависела от класса антибиотика и вида микроорганизмов. В таблице представлены данные, полученные в результате всех проведенных нами исследований, об ингибирующем действии антибиотиков, наиболее эффективно подавляющих рост исследуемых микроорганизмов, и данные о наиболее эффективном ингибирующем действии культуральной жидкости и экстрактов гриба.

Показано, что все изучаемые антибиотики в той или иной мере подавляли рост *S. aureus*, *Str. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, но не *C. diphtheria*, который оказался резистентным к азитромицину, ампициллину/сульбактаму, гентамицину и меропенему.

Рост всех исследованных микроорганизмов подавлял цефуроксим: площадь зон подавления составила от 314,00±13,25 мм<sup>2</sup> до 1017,36±11,25 мм<sup>2</sup>, а также линезолид, при применении которого площадь зон подавления была от 314,00±9,48 мм<sup>2</sup> до 2640,74±48,36 мм<sup>2</sup>.

Культуральная жидкость гриба ингибирует рост микроорганизмов – площадь зоны подавления их роста составила от 314,00±18,48 мм<sup>2</sup> (для *L. monocytogenes*) до 803,84±23,66 мм<sup>2</sup> (для *S. aureus*).

Водный фильтрат и концентрированный фильтрат высушенного мицелия ингибируют рост всех исследуемых микроорганизмов. Кроме того, данные фильтрованные экстракты эффективнее, чем культуральная жидкость, они также ингибируют рост *C. diphtheriae*: зона подавления роста водным фильтратом составила 530,66±48,63 мм<sup>2</sup>, а водным концентрированным фильтратом – 803,84±47,92 мм<sup>2</sup>. Последний показал наилучшие результаты антимикробной активности: по отношению к *S. aureus* площадь зоны подавления роста составила – 1661,06±24,54 мм<sup>2</sup>, к *Str. pneumoniae* – 1017,36±47,51 мм<sup>2</sup>, к *L. monocytogenes* – 803,84±40,12 мм<sup>2</sup>, к *C. diphtheriae* – 803,84±47,92 мм<sup>2</sup>, что сравнимо с действием стандартных образцов исследуемых антибиотиков.

Спиртовые экстракты сырого мицелия, фильтрат высушенного мицелия и концентрированный фильтрат высушенного мицелия также ингибируют рост всех исследуемых микроорганизмов, но в меньшей мере, чем водный концентрированный фильтрат высушенного мицелия.

Таблица – Зона подавления роста микроорганизмов антибиотиками и метаболитами гриба *Stereum hirsutum*

Образец	Зона подавления роста микроорганизмов, мм <sup>2</sup>			
	Штаммы микроорганизмов			
	<i>S. aureus</i>	<i>Str. pneumoniae</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>C. diphtheriae</i>
Азитромицин, 15 мкг	379,94±10,36	452,16±13,36	2461,76±82,96	не выявлена
Ампициллин/Сульбактам, 15 мкг	1962,50±26,58	2826,00±108,38	2640,74±94,32	не выявлена
Гентамицин, 10 мкг	2122,64±20,13	2122,64±86,39	1962,50±100,57	не выявлена
<b>Линезолид, 30 мкг</b>	<b>314,00±9,48</b>	<b>1384,74±55,34</b>	<b>2640,74±48,36</b>	<b>907,46±28,36</b>
Меропенем, 10 мкг	4298,66±86,26	3846,50±115,32	3419,46±84,19	не выявлена
<b>Цефуроксим, 30 мкг</b>	<b>1017,36±44,21</b>	<b>379,94±22,36</b>	<b>314,00±13,25</b>	<b>379,94±26,35</b>
Культуральная жидкость	803,84±23,66	200,96±20,78	314,00±18,48	не выявлена
Водный экстракт сырого мицелия	200,96±10,47	113,04±15,48	200,96±20,41	не выявлена
Водный фильтрат высушенного мицелия	1017,36±11,25	803,84±27,53	803,84±34,92	530,66±48,63
<b>Водный концентрированный фильтрат высушенного мицелия</b>	<b>1661,06±24,54</b>	<b>1017,36±47,51</b>	<b>803,84±40,12</b>	<b>803,84±47,92</b>
Спиртовой экстракт сырого мицелия	200,96±15,21	78,50±10,84	78,50±14,27	50,24±9,65
Спиртовой фильтрат высушенного мицелия	530,66±17,65	615,44±29,42	314,00±21,73	314,00±26,39
Спиртовой концентрированный фильтрат из высушенного мицелия	907,46±48,34	803,84±36,95	530,66±36,82	452,16±61,75

Таким образом, исследованные широко применяемые для лечения инфекционных заболеваний антибиотики по отношению к различным микроорганизмам обладают избирательной активностью, иногда нулевой, как, например, азитромицин, ампициллин/сульбактам, гентамицин и меропенем по отношению к *C. diphtheria*. Степень влияния конкретного антибиотика также зависит от видовой чувствительности микроорганизмов. Так, меропенем и линезолид подавляют рост *S. aureus*, *Str. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, но он не действуют на *C. diphtheria*.

Выращенный в глубинной культуре гриб *S. hirsutum* синтезирует метаболиты, сходные по антибиотическому действию с метаболитами природного гриба. Вытяжки гриба *S. hirsutum* как водные, так и спиртовые способны подавлять рост всех исследуемых микроорганизмов не менее эффективно, чем антибиотик, при этом наиболее действенными оказались водные экстракты. Тот факт, что вторичные метаболиты *S. hirsutum* с антибиотической активностью лучше извлекаются на воду, может иметь практическое значение. Данный аспект требует дополнительных исследований.

*Работа выполнена при финансовой поддержке Государственной программы научных исследований Республики Беларусь «Химические процессы, реагенты и технологии, биорегуляторы и биоорхимия» на 2021-2025 годы (подпрограмма «Химические основы процессов жизнедеятельности» (Биорхимия), задание 2.3.3.4).*

### Список использованных источников

1. Епишина И.В. Роль микробиоты человека в развитии нейродегенеративных заболеваний / И.В. Епишина, Е.В. Буданова // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2022. – Том 122, No 10. – С. 57-65.
2. Yurchenko, E.O. An assessmen to genetic variationin *Stereum hirsutum* (Basidiomycota) basedon RAPD markers / E.O. Yurchenko, M.G. Sinyavskaya // Baltic Forestry. – 2010. – Vol. 16, No 2. – P. 172-179
3. Солдаткин, П.К. Бактериальные менингиты и менингоэнцефалиты: учеб. пособие / П.К. Солдаткин, Т.В. Заболотских. – Благовещенск, 2016. – С. 37
4. Жук, О.Н. Особенности антимикробной активности природных тел, экстракта и культуральной жидкости глубинной культуры гриба *St. hirsutum* / О. Н. Жук, Д. А. Грущевская // Биотехнология: достижения и перспективы развития : сборник материалов IV международной научно-практической конференции, Пинск, Республика Беларусь, 20-22 ноября 2019 г. / Министерство образования Республики Беларусь, Полесский государственный университет. – Пинск : ПолесГУ, 2019. – С. 6-10.
5. Европейский комитет по определению чувствительности к антимикробным препаратам [Электронный ресурс] / Руководство по учету результатов. Определение чувствительности к антимикробным препаратам. Диска-диффузионный метод EUCAST. – Москва, 2017. – Режим доступа: <http://www.antibiotic.ru/iacmac/ru/docs/eucast/eucast-disk-diffusion-reading-guide-5.0-rus.pdf>. – Дата доступа: 15.10.2023.