

На первый взгляд, это самые благополучные территории в плане риска заболеваемости. Однако, нельзя торопиться с выводами, т.к. низкие показатели заболеваемости могут указывать на плохое функционирование учреждений здравоохранения. Для составления окончательной оценки территорий, необходимо провести дополнительное исследование для показателей инвалидности и смертности в данных районах, т.к. данные показатели часто имеют обратную корреляцию с показателями заболеваемости.

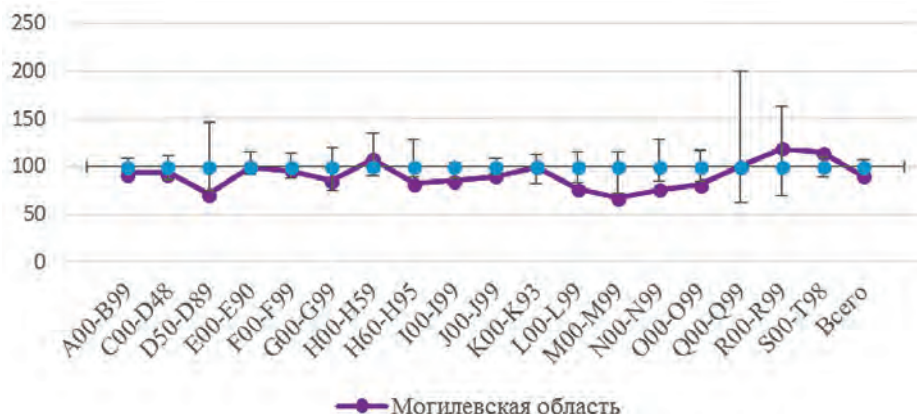


Рисунок 3 – Перцентиль – профили статистической нормы показателей заболеваемости Могилёвской области

По результатам анализа методом перцентиль-профилей, мы можем сделать вывод о том, что самый высокий риск развития различных классов заболеваний наблюдается в городе Минске. Этот регион попал в ранг высоких показателей сразу по 16 классам болезней из возможных 18. Скорее всего, это связано с большой плотностью населения и высококачественным диагностическим оборудованием. В областях Республики Беларусь наблюдалось меньше превышений границ нормы по различным классам болезней. На такое отличие областей от столицы может влиять тот факт, что в областях большую долю составляет сельское население. В сельской местности уровень здравоохранения значительно ниже, следовательно, и медицинская помощь и диагностика находятся на низком уровне, что ведёт к неполноте данных о состоянии здоровья населения и как следствие – низкому уровню заболеваемости в областях. Для получения более полной информации о состоянии здоровья населения областей, а также об уровне здравоохранения на этих территориях рекомендуется провести дополнительный анализ показателей смертности и инвалидности, а также анализ вредных факторов окружающей среды.

ЛИТЕРАТУРА

1. Социально-гигиенический мониторинг. Анализ медико-демографических и социально-экономических показателей на региональном уровне: метод. рекоменд., утв. Приказом рук. ФС Роспотребнадзора Г.Г. Онищенко № 341 от 20.09.2010 г. Сост. Н.В. Шестопапов [и др.]. – М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2010. – С. 1-53.
2. Новый способ анализа заболеваемости детей в регионах (на примере районов Омской области) / Ж.В. Гудинова [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2015. – Т.14, №1. – С.18-22.

ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТОВ ГРИБА *PHALLUS IMPUDICUS* STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF *PHALLUS IMPUDICUS* MUSHROOM EXTRACTS

А. Н. Лобатюк, Н. В. Иконникова
A. Lobatyuk, N. Ikonnikova

*Белорусский государственный университет, МГЭИ им. А. Д. Сахарова БГУ,
г. Минск, Республика Беларусь
7798608@mail.ru*

Belarusian State University, ISEI BSU, Minsk, Republic of Belarus

Широкое распространение патогенных микроорганизмов, обладающих множественной лекарственной устойчивостью и, как следствие, уменьшение числа эффективных антимикробных лекарственных средств, определяет актуальность исследования биологически активных соединений грибного происхождения с выраженной микробицидной активностью. Биоактивные комплексы лекарственных базидиальных грибов

представляют фармакологически ценную субстанцию, с определенными клиническими перспективами: обладают иммуностропными, противоопухолевыми, противоаллергическими, ранозаживляющими, ростостимулирующими, антимикотическими и др. свойствами, мягким таргетным воздействием на организм [1].

The wide spread of pathogenic microorganisms with multiple drug resistance and, as a result, a decrease in the number of effective antimicrobial drugs determines the relevance of the study of biologically active compounds of fungal origin with pronounced microbicidal activity. Bioactive complexes of medicinal basidial fungi represent a pharmacologically valuable substance with certain clinical prospects: they have immunotropic, anti-tumor, anti-allergic, wound-healing, growth-stimulating, antimicrobial, etc. properties, soft targeted effect on the organ [1].

Ключевые слова: антимикробные свойства, культуры бактерий, экстракт.

Keywords: antimicrobial properties, bacterial cultures, extract.

<https://doi.org/10.46646/SAKH-2020-2-108-111>

Высшие базидиальные грибы являются продуцентами целого ряда биологически активных соединений, которые фармакологически активны и, по сравнению с продуктами химического синтеза, менее токсичны и более эффективны при применении в медицинской практике.

Базидиальные грибы большое место занимают в среде сырья для получения лечебных и диагностических препаратов с иммуностропной активностью. Они отличаются высоким уровнем исследованности химического состава.

Многие компоненты базидиальных грибов исследованы в направлении противоопухолевой, противопаразитарной и противомикробной активности. Многочисленные эмпирические наблюдения демонстрируют возможность реализации подтвержденных эффектов базидиальных грибов через иммунитет. Это означает необходимость систематизированного и направленного исследования иммуностропной активности компонентов как самих базидиальных грибов, так и продуцируемых ими веществ.

Во время роста грибов могут накапливаться различные первичные и вторичные метаболиты в виде внутриклеточных и внеклеточных продуктов, включая фенолы, поликетиды, терпеноиды, стероиды, небелковые аминокислоты, антибактериальные или противогрибковые белки и летучие жирные кислоты. Производство таких метаболитов, особенно вторичных метаболитов, связано с условиями обитания грибов и источниками питательных веществ, что приводит к большому разнообразию метаболитов. Различные виды грибов обычно имеют характерные метаболические профили, хотя они могут проявлять сходную антимикробную активность.

На антимикробные свойства грибов могут существенно влиять факторы окружающей среды или питания, поскольку такие факторы могут изменять метаболизм грибов, приводя к изменениям в продукции их вторичных метаболитов.

Антибактериальные свойства грибов также могут изменяться по мере созревания их плодовых тел. Показано, что экстрагируемые вещества незрелых плодовых тел (фенолы, флавоноиды, аскорбиновая кислота, β -каротин, ликопин) проявляют более высокую активность в отношении *B. cereus*, *S. aureus* и *P. aeruginosa*, чем таковые у зрелых плодовых тел. Выявлено существенное уменьшение содержания фенольных соединений, флавоноидов и аскорбиновой кислоты по мере созревания плодовых тел. Однако, данные по другим грибам, например, *Coprinus cinereus*, свидетельствует о противоположной тенденции [1].

Антимикробные соединения представлены низко- и высокомолекулярными веществами. К низкомолекулярным веществам относят в основном метаболиты, такие как терпены, стероиды, хинолины, но встречаются и первичные метаболиты, например, оксалиновая кислота; к высокомолекулярным - в основном пептиды и белки. Особый интерес представляют составы, эффективные против резистентных штаммов, например, устойчивого золотистого стафилококка, а также микроорганизмов, ответственных за кожные заболевания: *Pityrosporum ovale*, *Staphylococcus epidermidis*, *Propionibacterium acnes*.

Антибактериальными продуктами грибов могут быть их внутриклеточные и / или внеклеточные метаболиты. Экстракты из плодового тела и фильтрат мицелиальной культуры (бесклеточный) одного и того же вида грибов могут приводить к различным антибактериальным свойствам.

Антимикробная активность метаболитов штамма *Phallus impudicus* определена способностью выработки антибиотических веществ (грибных фитонцидов), которые в том числе инактивируют вирусы герпеса, гриппа и гепатита.

Многие фенольные соединения, особенно низкомолекулярные, были идентифицированы в различных грибах, и их антимикробные свойства были продемонстрированы. Доказана антибактериальная активность 2,4-дигидроксибензойной, протокатехиновой, ванильной и п-кумаровой кислот из различных лесных грибов. Фенольные антимикробные соединения могут сильно различаться по своей химической структуре, в том числе по молекулярно-функциональным группам. Тип фенольных компонентов и их соотношение в грибе определяют их антимикробную активность. Фенольные компоненты могут проявлять активность как против бактерий, так и против грибов.

Жирные кислоты и жирные спирты – это одна из групп вторичных метаболитов грибов, которые продемонстрировали антимикробную активность против бактерий и плесневых грибов. Жирные кислоты, показали сильную антимикробную активность против *S. aureus*, *E. coli*, *S. cerevisiae*, *C. albicans*, *Penicillium citrinum* и *A. niger*.

Извлечение активных соединений и определение их антимикробных свойств в настоящее время является общепринятой практикой. Классическая экстракция растворителем по-прежнему является наиболее широко

используемым методом извлечения активных соединений из природных источников, хотя признание получают и другие технологии, такие как сверхкритическая и микроволновая экстракция. Растворитель, используемый для экстракции, определяет конкретные компоненты, но он также может влиять на качество, количество и безопасность извлекаемых продуктов.

Экстракты грибного происхождения с химической точки зрения представляют собой сложные системы, содержащие различные биологически активные вещества: полисахариды, белки и их комплексы, фенольные соединения, тритерпеноиды, стероиды, алкалоиды, нуклеотиды, витамины, ганодеровые кислоты, лектины, протеазы и др. Полифункциональность действия экстрактов, т.е. их разнообразные биологические активности, можно объяснить их многокомпонентным составом. Вероятно, что, помимо известных и описанных в литературе компонентов, базидиомицеты содержат ряд неидентифицированных веществ, обладающих, возможно, строго специфическими, но разнонаправленными механизмами действия. Выделение из экстрактов и изучение такого рода веществ открывает широкие возможности для получения новых лекарственных препаратов. С другой стороны, полифункциональность экстрактов может объясняться их конформационным и структурным сродством к рецепторам клеток. В этом случае выяснение механизма действия конкретных веществ, выделенных из экстрактов, на биологические системы представляет большой теоретический и практический интерес для клеточной и молекулярной биологии [3].

Вода и метанол (или этанол) являются наиболее часто используемыми растворителями для извлечения грибных антимикробных компонентов. Вода является обычной средой для биохимических реакций и обладает сильной полярностью, способствующей извлечению активных ингредиентов из биологических материалов. Воду можно использовать для извлечения водорастворимых низкомолекулярных фенольных соединений и некоторых других соединений с сильной полярностью, таких как сахараиды и полисахаридсвязывающие белки. Есть данные, что водные экстракты некоторых грибов проявляют антибактериальную активность благодаря соединениям с фенольными характеристиками. Одним из основных факторов, влияющих на извлечение водой, является температура. Хотя более высокая температура может повысить эффективность экстракции, она также может привести к деградации чувствительных к температуре антимикробных препаратов.

Показано, что антимикробные свойства метанольных экстрактов проявляют прямую зависимость от содержания фенола. Это подтверждается рядом исследований, где высокая антимикробная активность положительно связана с долей фенольных и/или флавоноидных соединений в метанольных экстрактах [1].

Температура также может влиять на эффективность экстракции метанола (или этанола) и влияет на выход всех фенольных соединений. Экстрагирование образцов этанолом при комнатной температуре приводило к более высокому общему содержанию фенолов и флавоноидов и более сильной антибактериальной активности, чем экстрагирование тех же образцов кипящим этанолом.

Целью работы явилось исследование антимикробных свойств 40% спиртовых экстрактов В-1 и В-2 гриба Веселка обыкновенная (*Phallus impudicus*) в модельных условиях.

Объектом исследования явились этанольные экстракты гриба Веселка обыкновенная (*Phallus impudicus*), полученные и хранящиеся в коллекции лаборатории экспериментальной иммунологии и микробиологии (табл. 1). Остаточное содержание этанола в спиртовом экстракте гриба *Phallus impudicus* – 0,008%.

Таблица 1 – Перечень субстанций, используемых в исследовании

Условное обозначение	Исследуемые субстанции
BC-1	40% этанольный экстракт <i>Phallus impudicus</i> 2017 г.
BC-2	40% этанольный экстракт <i>Phallus impudicus</i> 2018 г.

Определение антибактериальной активности проводили на основе модифицированной методики по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам диско-диффузионным методом.

Диффузионные методы основаны на диффузии антибактериальных препаратов из носителя в плотную питательную среду и подавлении роста исследуемой культуры в той зоне, где концентрация препарата превосходит его минимальную подавляющую концентрацию.

Минимальная подавляющая концентрация — наименьшая концентрация антибиотического препарата, которая подавляет видимый рост исследуемого микроорганизма *in vitro* (в бульонных или на агаровых питательных средах) в стандартных условиях постановки опыта.

В качестве тест-микроорганизмов использовали культуры бактерий: *Proteus mirabilis* ATCC 25933, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 35657, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 1014, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica*, *Bacillus mycoides*, *Sarcina lutea*.

Метод заключается в нанесении на поверхность мясопептонного агара или среды Мюллера-Хинтона бактериальной суспензии в концентрации 10⁶, 10⁷ или 10⁸ КОЕ/мл, для обеспечения сплошного бактериального роста. Суспензию распределяли равномерно по поверхности (покачиванием или с использованием шпателя Дригальского), избыток суспензии удаляли, поверхность среды подсушивали в течение 15 минут в открытом виде в стерильном ламинаре.

На поверхность агара после инокуляции бактериальной взвеси наносили (на целлюлозные диски диаметром 5 мм или без них) исследуемые субстанции в объеме 10 мкл. Контролем являлся раствор этанола 0,016% и 0,008%.

После инкубации чашек Петри в течение 3 и 5 суток при температуре +37°C, измеряли диаметр зоны отсутствия бактериального роста или оценивали снижение интенсивности бактериального роста в месте нанесения препаратов.

Зоны отсутствия (подавления) роста бактерий измеряли в мм, также оценивали частоту положительных результатов (наличие микробицидного эффекта – снижение плотности роста бактерий в месте нанесения капли не менее чем в 10 раз).

В результате апробации методики отмечено наличие микробицидного эффекта грибных субстанций в виде снижения интенсивности бактериального роста в месте нанесения экстрактов. Полученные результаты документировали фотографированием. Оценивали визуально частоту положительных результатов (табл. 2).

Таблица 2 – Интенсивность бактериального роста в месте нанесения экстрактов (микробицидный эффект)

Культуры тест-микрорганизмов	Экстракты гриба <i>Phallus impudicus</i>	
	BC1	BC2
	микробицидный эффект	
<i>P. mirabilis</i> ATCC 25933	±	±
<i>St. aureus</i> ATCC 25923	±	±
<i>E. coli</i> ATCC 25922	±	±
<i>K. pneumonia</i> ATCC 35657	±	±
<i>Ps. Aeruginosa</i> ATCC 1014	±	+
<i>B. cereus</i>	±	+
<i>Y. enterocolitica</i>	±	±
<i>B. mycoides</i>	±	±
<i>S. lutea</i>	±	+

Примечание: ± - Снижение плотности роста бактерий в месте нанесения капли экстракта; + - Снижение плотности роста бактерий не менее чем в 5 раз по сравнению с контролем.

В качестве контроля использовали нанесение на газонную культуру тест-микрорганизмов капель с физиологическим раствором и раствора с содержанием этанола 0,008%.

В результате выявлено, что субстанция BC2, представляющая собой 40% спиртовой экстракт гриба *Phallus impudicus* с остаточным содержанием этанола 0,008%, проявила наибольшую антимикробную активность в отношении культур условно-патогенных микроорганизмов *Ps. aeruginosa* ATCC 1014, *B. cereus*, *S. lutea*. Экстракт гриба BC1 (изготовлен в 2017 г.) проявил невысокую степень антимикробной активности, что может быть обусловлено снижением биологической активности экстрагируемых соединений в процессе длительного хранения, что специфично для экстрактов на растительной и грибной основе [2].

Полученные данные согласуются с результатами предыдущих работ зарубежных и отечественных исследователей [3]. Так, базидиомицеты рода *Ganoderma* (*G. lucidum*, *G. applanatum*, *G. oregonense*) проявляют высокую активность в отношении видов *Staphylococcus* и *Streptococcus*, а также *Bacillus pneumonia*. Для спиртовых экстрактов гриба *Dendropolyporus umbellatus* показана высокая антимикробная активность *in vitro* в отношении культур *Staphylococcus aureus* и *Escherichia coli*. Показано, что виды грибов рода *Trametes* продуцируют соединение с антибиотической активностью – кориолин, который ингибирует рост грамположительных бактерий. В экспериментальных моделях *in vivo* для полисахаридов *Schizophyllum commune* – шизофилланов, установлено высокое антимикробное действие в отношении ряда патогенных культур *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia* [3].

ЛИТЕРАТУРА

1. Shen, H. S. Antimicrobials from Mushrooms for Assuring Food Safety/H.S.Shen [et al.]// Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. – 2017. – Т.16. – №2. – Р. 316–329.
2. Alves, M. J. A review on antifungal activity of mushroom (basidiomycetes) extracts and isolated compounds/M.J Alves [et. al.]// Current Topics in Medicinal Chemistry. – 2013. – Р. 13-21.
3. Герасименя, В. П. Экстракты базидиальных грибов и их полифункциональная медико-биологическая активность. / В.П. Герасименя, К.З. Гумаргалиева, С.В. Захаров, Т.И. Милевич, А.В. Трезвова, под ред. В.П. Герасимени, В.Ю. Полякова. – М.: Институт химической физики имени Н.Н. Семенова РАН, ООО «Инбиофарм», 2014. – 128 с.