



Учреждение образования  
“Гомельский государственный областной лицей”

# АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ В ОТНОШЕНИИ АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ И ЭКСТРЕМАЛЬНО-АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВЫХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ



Тапальский Федор Дмитриевич

Научные руководители: Бисева Светлана Николаевна,  
Тапальский Дмитрий Викторович

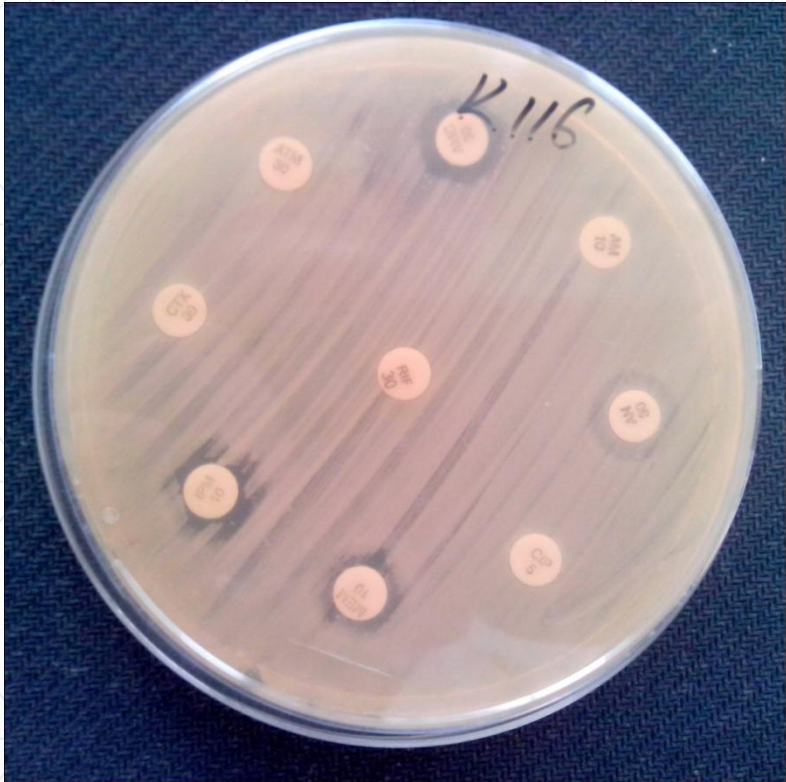
## «ПОСТАНТИБИОТИЧЕСКАЯ ЭРА»

Открытие антибиотиков в середине XX века привело к значительному повышению качества услуг системы здравоохранения и способствовало общему улучшению состояния здоровья населения Земли.

Из-за стремительного распространения антибиотикорезистентности в настоящее время мир оказался на пороге появления бактериальных инфекций, для лечения которых не существует ни одного эффективного препарата.



- Во всем мире отмечается увеличение устойчивости патогенных для человека грамотрицательных бактерий к большинству антибактериальных препаратов с формированием экстремальной антибиотикорезистентности\*.



Антибиотикочувствительность госпитального изолята *Klebsiella pneumoniae* K-116 (г. Гомель) – продуцента металло-бета-лактамазы NDM

- Важная проблема здравоохранения последнего десятилетия - формирование экстремальной антибиоткорезистентности среди энтеробактерий, связанное с продукцией металло- $\beta$ -лактамазы NDM-1.

\*Экстремально-антибиоткорезистентные микроорганизмы (XDR, extensively drug-resistant) – микроорганизмы, нечувствительные к препаратам всех за исключением 1-2 классов антибиотиков

Панрезистентные микроорганизмы (PDR, pandrug-resistant) – микроорганизмы, нечувствительные ко всем антибиотикам всех классов

Clin Microbiol Infect. 2012 18(3):268-81



- В традиционной медицине на протяжении тысячелетий используются антибактериальные свойства различных растений
- В мире интенсивно изучается возможность применения фитотерапии для лечения инфекций, вызванных экстремально-антибиотикорезистентными бактериями.
- **Требуются экспериментальные данные об антибактериальной активности растений, произрастающих на территории Беларуси.**



# Цель исследования

Дать количественную оценку антибактериальной активности доступных в Беларуси официнальных лекарственных растений в отношении грамотрицательных бактерий, экстремально-устойчивых к антибиотикам





# МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ



Лекарственные растения, включенные в исследование

## Лекарственные растения, включенные в исследование

№ п/п	Видовое название (русск.)	Видовое название (лат.)	Часть растения	Производитель
1	Багульник болотный	<i>Ledum palustre</i>	побеги	ООО «Падис'с», Беларусь
2	Береза белая	<i>Betula alba</i>	почки	ООО «НПК Биотест», Беларусь
3	Брусника обыкновенная	<i>Vaccinium vitis-idaea</i>	листья	ЗАО «БелАсептика», Беларусь
4	Дуб обыкновенный	<i>Quercus robur</i>	кора	ООО «НПК Биотест», Беларусь
5	Душица обыкновенная	<i>Origanum vulgare</i>	трава	ООО «Калина», Беларусь
6	Зверобой продырявленный	<i>Hypericum perforatum</i>	трава	ООО «НПК Биотест», Беларусь
7	Календула лекарственная	<i>Calendula officinalis</i>	цветки	ООО «Калина», Беларусь
8	Можжевельник обыкновенный	<i>Juniperus communis</i>	плоды	ООО «НПК Биотест», Беларусь
9	Мята перечная	<i>Mentha piperita</i>	листья	ООО «НПК Биотест», Беларусь
10	Подорожник большой	<i>Plantago major</i>	листья	ООО «НПК Биотест», Беларусь
11	Ромашка аптечная	<i>Chamomilla recutita</i>	цветки	ООО «НПК Биотест», Беларусь
12	Толокнянка обыкновенная	<i>Arctostaphylos uva-ursi</i>	листья	ООО «НПК Биотест», Беларусь
13	Тысячелистник обыкновенный	<i>Achillea millefolium</i>	трава	ООО «Падис'с», Беларусь
14	Хвощ полевой	<i>Equisetum arvense</i>	трава	ООО «НПК Биотест», Беларусь
15	Чабрец (тимьян ползучий)	<i>Thymus serpyllum</i>	трава	ООО «НПК Биотест», Беларусь
16	Шалфей лекарственный	<i>Salvia officinalis</i>	листья	ООО «НПК Биотест», Беларусь
17	Эвкалипт прутовидный	<i>Eucalyptus viminalis</i>	листья	ООО «Алтайфарм», Россия



Настои готовили путем 10-минутного кипячения на водяной бане сухого измельченного растительного сырья и дистиллированной воды в соотношении 1:10



охлаждали при температуре 24°C в течение 45 минут



процеживали через марлевый и бумажный фильтры



выполняли стерилизующую фильтрацию с помощью фильтров Filtropur S 0,45 (Sarstedt, Германия)



Настои из официальных лекарственных растений



## Экстремально-антибиотикорезистентные и антибиотикочувствительные микроорганизмы, отобранные для тестирования антибактериальной активности настоев из лекарственного сырья

Микроорганизм	Лаб. номер, место выделения	Фенотип антибиотикорезистентности *	Карбапенемаза
<b>Pseudomonas aeruginosa</b>	P-033 (г. Гомель)	FEP CAZ IMP MEM ATM CIP AN	MBL VIM
<b>P.aeruginosa</b>	P-147 (г. Гомель)	FEP CAZ IMP MEM ATM CIP AN	MBL VIM
<b>P.aeruginosa</b>	P-100 (г. Витебск)	0	нет
<b>Acinetobacter baumannii</b>	A-058 (г. Гомель)	SAM FEP CAZ IMP MEM CIP AN D	OXA-40
<b>A.baumannii</b>	A-105 (г. Могилев)	SAM FEP CAZ IMP MEM CIP AN D	OXA-40
<b>A.baumannii</b>	A-081 (г. Гомель)	0	нет
<b>Klebsiella pneumoniae</b>	K-70 (г. Минск)	AM AMC ATM CTX IMP MEM CIP AN	MBL NDM-1
<b>K.pneumoniae</b>	K-08 (г. Могилев)	AM AMC ATM CTX IMP MEM CIP AN	OXA-48
<b>K.pneumoniae</b>	K-074 (г. Минск)	0	нет
<b>Eescherichia coli</b>	ATCC 25922	0	нет

\* AM – ампициллин, AMC - амоксициллин/клавуланат, ATM – азтреонам, CTX – цефотаксим, SAM - ампициллин/сульбактам, FEP – цефепим, CAZ – цефтазидим, IMP – имипенем, MEM – меропенем, CIP – ципрофлоксацин, AN – амикацин, D – доксициклин; «0» - чувствительность ко всем тестируемым антибактериальным препаратам.

# Определение минимальных подавляющих концентраций (МПК) настоев из растительного сырья методом микроразведений

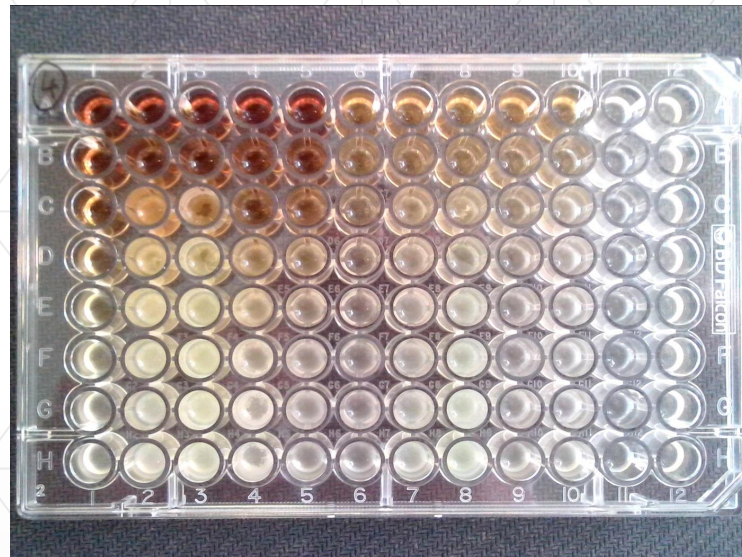
готовили двукратные серийные разведения настоев в бульоне Мюллера-Хинтона от 1:20 до 1:1280

из суточных культур тестируемых микроорганизмов готовили бактериальные суспензии с оптической плотностью 0,5 МакФарланд ( $10^8$  КОЕ/мл)

по 1,5 мкл полученной суспензии вносили в лунки планшета, содержащие 150 мкл серийных разведений настоев лекарственных растений, конечная концентрация микроорганизмов -  $10^6$  КОЕ/мл

планшеты инкубировали в шейкере-термостате 18 ч -  $35^{\circ}\text{C}$  с постоянным низкоамплитудным встряхиванием

учет МПК проводили по отсутствию видимого роста микроорганизмов, сравнивая опытные и контрольные лунки со стерильной питательной средой



Определение МПК водных экстрактов чабреца (ячейки в рядах 1-5) и березы (ячейки в рядах 6-10)

ряды 1, 6 - *E.coli* ATCC 25922;  
ряды 2, 7 - *P.aeruginosa* P-100;  
ряды 3, 8 - *P.aeruginosa* P-033;  
ряды 4, 9 - *A.baumannii* A-081;  
ряды 5, 10 - *A.baumannii* A-105

# Определение минимальных бактерицидных концентраций (МБК) настоев из растительного сырья

выполняли высеив 10 мкл содержимого каждой лунки на сектор плотной питательной среды (ГРМ-агара)

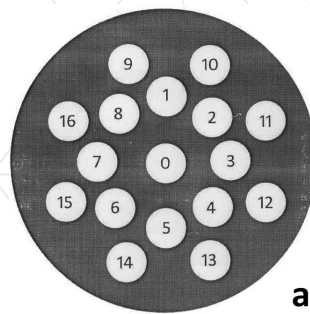
инкубация 24 часа при 35°C

визуальная оценка роста микроорганизмов на ГРМ-агаре

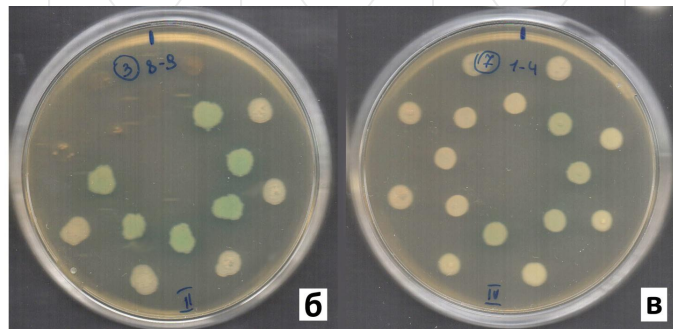
минимальная концентрация, предотвращающая микробный рост, указывалась как МБК

значения МПК и МБК пересчитывались как концентрации густого экстракта, растворенного в питательной среде (мг/мл)

Экстракты из лекарственного сырья считали обладающими антибактериальным действием при значениях **МПК  $\leq$  1 мг/мл**



а



б

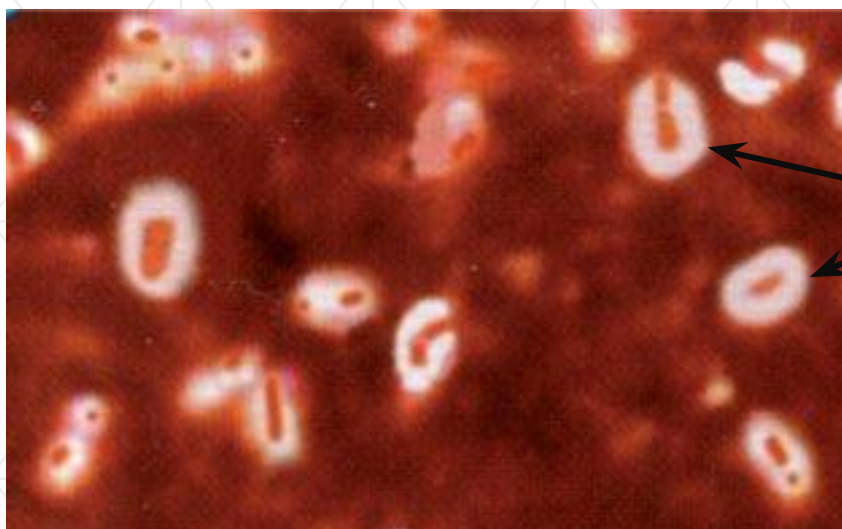
в

Определение минимальных бактерицидных концентраций для водных экстрактов лекарственных растений  
а – шаблон для нанесения капель;  
б – определение МБК водного экстракта коры дуба для *P.aeruginosa* P-100 (споты 1-8) и *P.aeruginosa* P-033 (споты 9-16);  
в – определение МБК водного экстракта можжевельника для *E.coli* ATCC 25922 (споты 1-4), *P.aeruginosa* P-100 (споты 5-8), *P.aeruginosa* P-033 (споты 9-12), *A.baumannii* A-081 (споты 13-16)



# РЕЗУЛЬТАТЫ

В тестируемых диапазонах концентраций ни один из включенных в исследование водных настоев не проявлял антибактериальной активности в отношении изолятов **K.pneumoniae**, что может быть связано с наличием у бактерий мощного слизистого полисахаридного капсульного слоя, затрудняющего проникновение активных бактерицидных компонентов к клеточной стенке микроба.



капсул  
а

K.pneumoniae, окраска по Бурри-Гинсу

Минимальные подавляющие концентрации (МПК) водных экстрактов из официальных лекарственных растений в отношении экстремально-антибиотикорезистентных и антибиотикочувствительных изолятов грамотрицательных бактерий, мг/мл

	P.aeruginosa P-33 (MBL VIM)	P.aeruginosa P-147 (MBL VIM)	P.aeruginosa P-100	A.baumannii A-58 (OXA-40)	A.baumannii A-105 (OXA-40)	A.baumannii A-081	E.coli ATCC 25922
Багульник болотный	>5	>5	>5	2,5	2,5	2,5	2,5
Береза белая	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	1,25	1,25
<b>Брусника обыкновенная</b>	<b>0,75</b>	<b>0,75</b>	<b>1,5</b>	<b>0,75</b>	<b>0,75</b>	<b>0,38</b>	<b>0,38</b>
<b>Дуб обыкновенный</b>	<b>0,63</b>	<b>0,63</b>	1,25	1,25	1,25	1,25	<b>0,63</b>
Душица обыкновенная	>12	>12	>12	12	12	6	6
Зверобой продырявленный	>10	>10	>10	>10	>10	>10	10
Календула лекарственная	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5
Можжевельник обыкновенный	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5
Мята перечная	>15	>15	>15	15	15	7,5	7,5
Подорожник большой	>15	>15	>15	7,5	7,5	3,75	7,5
Ромашка аптечная	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5
<b>Толокнянка обыкновенная</b>	6	6	12	<b>0,75</b>	<b>0,75</b>	<b>0,38</b>	<b>0,75</b>
Тысячелистник обыкновенный	>5	>5	>5	>5	>5	2,5	5
Хвощ полевой	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5
Чабрец (тимьян ползучий)	5	5	5	2,5	2,5	2,5	2,5
Шалфей лекарственный	>12	>12	>12	12	12	12	12
<b>Эвкалипт прутовидный</b>	<b>0,75</b>	<b>0,75</b>	1,5	1,5	1,5	1,5	<b>0,38</b>

# Минимальные бактерицидные концентрации (МБК) водных экстрактов из официальных лекарственных растений в отношении экстремально-антибиотикорезистентных и антибиотикочувствительных изолятов грамотрицательных бактерий, мг/мл

	P.aeruginosa P-33 (MBL VIM)	P.aeruginosa P-147 (MBL VIM)	P.aeruginosa P-100	A.baumannii A-58 (OXA-40)	A.baumannii A-105 (OXA-40)	A.baumannii A-081	E.coli ATCC 25922
Багульник болотный	>5	>5	>5	2,5	2,5	2,5	2,5
Береза белая	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	1,25
<b>Брусника обыкновенная</b>	1,5	1,5	3	<b>0,75</b>	1,5	<b>0,75</b>	<b>0,75</b>
Дуб обыкновенный	2,5	5	5	2,5	2,5	1,25	1,25
Душица обыкновенная	>12	>12	>12	12	6	6	6
Зверобой продырявленный	>10	>10	>10	>10	>10	>10	>10
Календула лекарственная	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5
Можжевельник обыкновенный	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5
Мята перечная	>15	>15	>15	15	15	7,5	7,5
Подорожник большой	>15	>15	>15	15	15	7,5	7,5
Ромашка аптечная	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5
<b>Толокнянка обыкновенная</b>	6	12	12	<b>0,75</b>	<b>0,38</b>	<b>0,38</b>	<b>0,75</b>
Тысячелистник обыкновенный	>5	>5	>5	>5	>5	5	5
Хвощ полевой	>5	>5	>5	>5	>5	>5	>5
Чабрец (тимьян ползучий)	5	5	5	5	5	2,5	2,5
Шалфей лекарственный	>12	>12	>12	12	12	12	12
<b>Эвкалипт прутовидный</b>	<b>0,75</b>	<b>0,75</b>	1,5	1,5	1,5	1,5	<b>0,75</b>



# ЗАКЛЮЧЕНИЕ

- Некоторые виды растений, широко используемых в традиционной медицине Беларуси (**брусника обыкновенная, толокнянка обыкновенная, дуб обыкновенный**), проявляют выраженный бактерицидный эффект в отношении как антибиотикочувствительных, так и экстремально-антибиотикорезистентных изолятов грамотрицательных бактерий.
  - Минимальные подавляющие концентрации водных настоев из растительного сырья в десятки и сотни раз превышают МПК антибиотиков для антибиотикочувствительных микроорганизмов.
  - В случае инфекций, вызванных экстремально-антибиотикорезистентными грамотрицательными микроорганизмами, **можно рассматривать возможность местного использования растительных препаратов в дополнение к проводимой антибиотикотерапии.**
-



**Спасибо за внимание!**