

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРИРОДНЫХ АНТИСЕПТИКОВ

Четверикова Анастасия Михайловна – студентка 3 курса ГБПОУ «Пермский агропромышленный техникум».

Научный руководитель – Лебединский Иван Александрович, к.б.н., доцент кафедры биологии и географии ФГБОУ ВО «Пермский государственный гуманитарно-педагогический университет».

***Аннотация:** в статье на примере собственных исследований рассматривается антисептическая эффективность некоторых распространённых лекарственных веществ природного происхождения. По результатам микробиологической оценки была произведена оценка и сравнение бактерицидного эффекта биологически активных веществ природных антисептиков.*

***Ключевые слова:** природные антисептики, лекарственные растения, антибиотики, метод диффузии в агар, резистентность бактерий.*

В связи с широким распространением инфекционных заболеваний человека и животных, в практике все чаще выявляются микроорганизмы, резистентные или слабо чувствительные к различным видам антибиотиков. Устойчивость микроорганизмов к антимикробным препаратам зачастую приводит к прогрессированию болезни, поражению жизненно важных органов, систем организма и может приводить к летальному исходу.

Резистентность, одна из главных проблем при лечении заболеваний [1. С. 234-240; 2. С. 33-37; 5. С. 142-144]. Привыкание к большой разновидности антибиотиков растет у различных видов патогенных и условно-патогенных бактерий [6. С. 323]. По этой причине, интерес вызывает изучение веществ, например, природного происхождения, которые позволяют отказаться от применения антибиотиков, увеличить эффективность существующих лекарств при комбинированном применении и смогут увеличить эффективность комплекса против патогенной микрофлоры.

Цель исследовательской работы – оценить бактерицидный эффект биологически активных веществ природных антисептиков при помощи микробиологических методов исследования.

Для исследования были взяты популярные природные фитонциды из которых были изготовлены водные вытяжки (настои): прополис, кора ивы, лавровый лист, чеснок, черный чай.

Также использовалось коллоидное серебро десятипроцентной концентрации, которое является хорошим антисептиком и относится скорее к народной медицине, но изготавливаемое в промышленных условиях.

Действие природных веществ сравнивалось с рядом распространенных лекарств промышленного производства, активно используемых при лечении бактериальных заболеваний различной этиологии: гентамицин, ацетилсалициловая кислота, нитрофурал (фурацилин), фталазол.

Для сравнения, в качестве вспомогательных препаратов, применяемых в комплексе с противомикробными лекарственными веществами, использовался: эуфиллин – ингибитор фосфодиэстеразы.

Дополнительно рассматривалась устойчивость микроорганизмов к изопропанолу в составе кожного антисептика для сравнительной оценки действия промышленного препарата и природных веществ.

Все лекарственные препараты использовались в рекомендуемых терапевтических концентрациях или в виде готового раствора. Природные антибактериальные средства использовались в виде водных экстрактов и «холодных вытяжек» 10% концентрации.

Оценка бактерицидного эффекта проводилась при помощи метода диффузии в агар [3. С. 13-17]. В качестве тестовых микроорганизмов использовались штаммы грамотрицательной и грамположительной бактерий: *E. Coli* и *B.Subtilis* соответственно. Ход работы осуществлялся согласно методическим рекомендациям оценки чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам [4. С. 352]. На начальном этапе была произведена оценка наличия бактерицидного действия выбранных веществ.

Оценка выраженности бактерицидных свойств показала чувствительность *B. Subtilis* к более широкому спектру антисептиков, чем *E. Coli*. Полученные результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1

Бактерицидный эффект исследованных веществ

Действующее вещество	микроорганизм	
	<i>B. Subtilis</i>	<i>E. Coli</i>
Настой черного чая	+	Не исследовалось
Коллоидное серебро	+	Не исследовалось
Настой лаврового листа	±	±
Холодный настой чеснока	-	-
Настой прополиса	±	±
Гентамицин	+	+
Фурацилин	+	-
Фталазол	-	-
Эуфиллин	±	-
Антисептик	+	+

Отсутствие бактерицидного эффекта у прополиса и фталазола может быть объяснено их низкой растворимостью в воде и, следовательно, крайне низкой степенью диффузии в агарозный гель.

В исследовании был выявлен бактериостатический эффект эуфиллина. Зона угнетения вокруг лунок, в которые был внесен препарат, не была полностью свободна от колоний, но их размеры, плотность расположения и количество были значительно меньше, чем на остальной площади агара. Размеры зоны частичного угнетения роста бактерий эуфиллином также зависели от его концентрации. Таким образом, эуфиллин в отношении *B. Subtilis* демонстрирует слабый бактериостатический эффект даже без комбинации с антибиотиками.

При сравнении эффектов разных действующих веществ, возникло предположение, что *B. Subtilis* чувствительная к более широкому спектру антисептиков, чем *E.Coli*. Поэтому, для проверки этого предположения была проведена дополнительная серия опытов с относительно слабым антибиотиком- бициллином (таблица 2).

Таблица 2

Радиус зоны подавления микроорганизмов разными концентрациями «Билиллина»

Микроорганизм	<i>B. Subtilis</i>	<i>E.Coli</i>
Концентрация	Радиус, мм	
100%	9,54 ± 0,480	3,77 ± 0,134
50%	9,56 ± 0,515	4,36 ± 0,080
25%	8,28 ± 0,395	4,04 ± 0,204

При разведении в терапевтической концентрации антибиотика образуется насыщенный раствор, суспензия быстро выпадает в осадок, и диффузия активного вещества в агар снижается. По этой причине, 50% концентрация действует активнее на *E.Coli*, чем 100%. Действие «Бициллина» математически подтверждает, что *E.Coli* устойчивее, чем *B. Subtilis*.

E.Coli растет не только на всей поверхности агара, но и проявляет минимальную реакцию на антибиотик на расстоянии в два раза меньшем, чем *B. Subtilis*. Достоверно отличается 100% и 50% концентрации, отличий между 100% и 25% нет. Достоверные отличия видны у *B. Subtilis* для 25% концентрации. В отношении *B. Subtilis* отличий 100% и 50% концентрации - не выявлено.

Оценка выраженности бактерицидных свойств показала чувствительность *B. Subtilis* к более широкому спектру антисептиков, чем *E. Coli*. Поэтому, *B. Subtilis* была использована для дальнейшей сравнительной оценки. Полученные результаты приведены в таблице 3 и на рисунке 1.

Радиус зоны подавления роста в отношении *B. Subtilis*

Действующее вещество	Радиус, мм
Экстракт лаврового листа	$6,55 \pm 0,262$
Настой чёрного чая	$8,60 \pm 0,261$
Коллоидное серебро	$8,05 \pm 0,200$
Гентамицин (40 мг/л)	$22,67 \pm 0,410$
Антисептик (изопропанол)	$13,62 \pm 1,220$

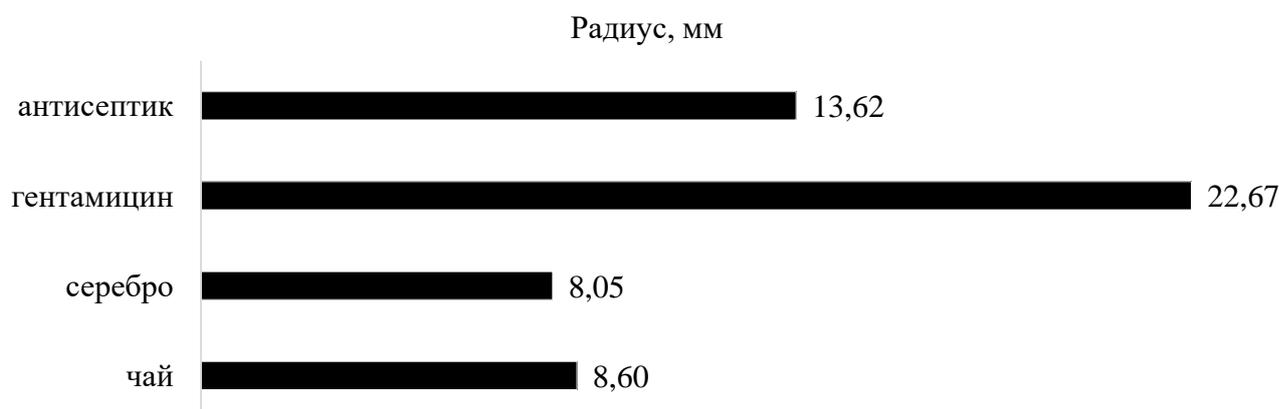


Рис. 1. Радиус зоны угнетения, образуемой исследованными веществами

Следует отметить, что, в отличие от других сравниваемых вытяжек и антибактериальных препаратов, экстракт лаврового листа в отношении *B. Subtilis* обладает, вероятно, не бактерицидным, а бактериостатическим эффектом. По этой причине для настоя лаврового листа приводится радиус зоны, где плотность и размеры колоний значительно ниже, чем на площади остального агара.

Наиболее выраженный эффект демонстрирует гентамицин, кожный антисептик имеет также выраженное бактерицидное действие, однако проявляется он в более узком диапазоне концентраций, радиус зоны подавления составляет 60% от радиуса зоны подавления, образуемой гентамицином.

Коллоидное серебро оказало достаточно слабый бактерицидный эффект, что может объясняться низкой степенью диффузии частиц. Бактерицидный эффект сопоставим с эффектом настоя чёрного чая, достоверность различий показателей для коллоидного серебра и чая достаточно низкая, чтобы считать полученные значения практически равными. По сравнению с зоной угнетения роста бактерий, образуемой гентамицином зоны, образуемые настоем чая и коллоидным серебром, составили 37,93% и 35,5% соответственно.

Наименьшим по выраженности эффектом, из исследованных веществ, обладает водный экстракт лаврового листа. В зоне угнетения роста бактерий, образуемых экстрактом, обнаружены единичные колонии бактерий. Данная особенность свидетельствует о слабовыраженном бактерицидном эффекте. Сама зона угнетения также достаточно мала ($6,55 \pm 0,262$ мм), что составляет 28,8% от показателей гентамицина и 76,16% от показателей экстракта чая. Как и для ряда других исследованных веществ, низкая выявленная эффективность может объясняться следующими причинами: низкой растворимостью в воде активных компонентов или затрудненной диффузией в агар, последующей метаболизацией *in vivo*, с образованием более активных веществ, а также устойчивостью микроорганизмов к исследуемым веществам.

Радиус лунки, в которую вносились действующие вещества – 4,5 мм, все действующие вещества образовали ясно различимую зону угнетения вокруг лунки, что свидетельствует об их диффузии в агар и выраженном бактерицидном или бактериостатическом эффекте. Все различия между исследованными выборками достоверны с вероятностью $P \geq 0,99$, кроме различий между показателями для коллоидного серебра и настоя чёрного чая.

Полученные результаты подтверждают наличие антисептических свойств у природных лекарственных веществ. Настой чёрного чая и коллоидное серебро могут быть достаточно эффективными антисептиками в отношении некоторых микроорганизмов. Слабовыраженные или не выявленные антисептические свойства не свидетельствуют о полном их отсутствии, исходя из ряда исследований очевидно, что данные вещества могут быть эффективными поверхностными антисептиками.

Выраженные антисептические свойства, свидетельствуют о высокой подвижности исследованных веществ. Можно предположить, что они также обладают более высокой степенью проникновения в живые ткани.

Полученные результаты позволяют сделать следующие выводы:

1. Выраженная бактерицидная активность была выявлена у экстрактов чая и лаврового листа.

2. Исследованные природные антисептики обладают меньшей эффективностью, в данных условиях, чем антибиотик гентамицин и изопропанол в составе антисептика.

3. Наиболее выраженными антибактериальными свойствами, из исследованных антисептиков, обладает водный настой чёрного чая (37,93% от показателей гентамицина).

Так как метод диффузии в агар не позволяет полностью имитировать условия, в которых проявляется действие местных антисептиков, в дальнейшем планируется продолжение исследований в данном направлении. Отдельный интерес представляет оценка влияния способа приготовления экстрактов на их антисептическую активность и различия в чувствительности к антисептическим веществам различных микроорганизмов.

Библиографический список:

1. Гаркавенко Т.А. Антибиотикорезистентность возбудителей бактериальных инфекций животных в Украине / Т.А. Гаркавенко // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. – 2017. – №20 (2). – С. 234-240.
2. Гостев В.В. Антибиотикорезистентность микрофлоры ран открытых переломов (II сообщение) / В.В. Гостев, З.С. Науменко, И.И. Мартель // Травматология и ортопедия России. – 2010. – №1. – С. 33-37.
3. Кулешова С.И. Определение активности антибиотиков методом диффузии в агар // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения / С.И. Кулешова. – 2015. – №3. – С. 13-17.
4. Лабораторные исследования в ветеринарии. Бактериальные инфекции: справочник / сост. Б.И. Антонов, В.В. Борисова, П.М. Волкова и др. – М.: Агропром издат, 1986. – 352 с.
5. Филиппова Е.С. Изучение антибиотикорезистентности некоторых пробиотических штаммов / Е.С. Филиппова, Н.А. Забокрицкий, А.В. Молдованов // Биомедицина. – 2010. – №5 – С. 142-144.
6. Шапиро Я.С. «Микроорганизмы» (учебное пособие) / Я.С. Шапиро. – СПб «Элби-СПб», 2003. – 323 с.

MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF THE EFFECTIVENESS OF NATURAL ANTISEPTICS

Chetverikova Anastasia Mikhailovna – 3rd year student of the «Perm Agro-Industrial College», Russian Federation, Permian.

Scientific supervisor – Lebedinsky Ivan Aleksandrovich, Phd in Biological Sciences, Associate Professor of the Department of Biology and Geography of the "Perm Humanitarian Pedagogical University", Russian Federation, Permian.

Abstract: the article examines the antiseptic efficacy of common medicinal substances of natural origin using the example of our own research. Based on the results of the microbiological assessment, the bactericidal effect of biologically active substances of natural antiseptics was evaluated and compared.

Keywords: natural antiseptics, medicinal plants, antibiotics, agar diffusion method, bacterial resistance.