



Оригинальное исследование

УДК 615.322

<http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2024-3-8>

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПЛОДОВ VACCINIUM PRAESTANS L. НА МИКРООРГАНИЗМЫ

Анастасия Александровна Саликова^{1✉}, Наталья Васильевна Плаксен², Елена Александровна Зайцева³,
Любовь Викторовна Устинова⁴, Сергей Викторович Степанов⁵

¹⁻⁵Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия

^{1✉}a.salikova1992@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7732-4853>

²natalya.plaksen@mail.ru <https://orcid.org/0000-0002-6885-004X>

³elza200707@mail.ru <https://orcid.org/0000-0002-2625-8275>

⁴ustinova.lubov@ustinov.com, <https://orcid.org/0000-0003-0977-7353>

⁵don.sergik52@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0664-4272>

Аннотация. Определена антимикробная активность сока и экстракта плодов *Vaccinium praestans* L. (красники) диско-диффузным методом в отношении *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* и минимальная подавляющая концентрация (МПК) в отношении *Enterococcus faecalis* и *Klebsiella pneumoniae*. Диско-диффузным методом подтверждено подавление роста исследуемых микроорганизмов соком *Vaccinium praestans* L. и экстрактом *Vaccinium praestans* L., экстракт красники демонстрировал более выраженное действие. Определение минимальной подавляющей концентрации показало, что сок и экстракт *Vaccinium praestans* L. в отношении *E. coli* и *Kl.pneumoniae* проявляют выраженную антибактериальную активность, так как МПК <1 мг/мл.

Ключевые слова: антибактериальная активность, красника, *Vaccinium praestans* L.

Для цитирования: Экспериментальное исследование влияния плодов *Vaccinium Praestans* L. на микроорганизмы / А.А. Саликова, Н.В. Плаксен, Е.А. Зайцева и др. // Дальневосточный медицинский журнал. – 2024. – № 3. – С. 48-52. <http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2024-3-8>.

EXPERIMENTAL STUDY OF THE EFFECT OF VACCINIUM PRAESTANS L. FRUIT ON MICROORGANISMS

Anastasiya A. Salikova^{1✉}, Natalya V. Plaksen², Elena A. Zaitseva³, Lubov V. Ustinova⁴, Sergey V. Stepanov⁵

¹⁻⁵Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia

^{1✉}a.salikova1992@bk.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7732-4853>

²natalya.plaksen@mail.ru <https://orcid.org/0000-0002-6885-004X>

³elza200707@mail.ru <https://orcid.org/0000-0002-2625-8275>

⁴ustinova.lubov@ustinov.com, <https://orcid.org/0000-0003-0977-7353>

⁵don.sergik52@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-0664-4272>

Abstract. The antimicrobial activity of the juice and extract of the fruits of *Vaccinium praestans* L. was determined by the disk-diffusion method against *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and the minimum inhibitory concentration (MICs) against *Enterococcus faecalis* and *Klebsiella pneumoniae*. The disk-diffusion method confirmed the suppression of the growth of the studied microorganisms by the juice of *Vaccinium praestans* L. and the extract of *Vaccinium praestans* L., the extract *Vaccinium praestans* L. showed a more pronounced activity compared to the juice. The determination of the minimum inhibitory concentration showed that the juice and extract of *Vaccinium praestans* L. against *E. coli* and *Kl.pneumoniae* exhibit a pronounced antibacterial activity, since the MIC is <1 mg/ml.

Keywords: *Vaccinium praestans* L., antibacterial activity

For citation: Experimental study of the effect of *Vaccinium Praestans* L. Fruit on microorganisms / A.A. Salikova, N.V. Plaksen, E.A. Zaitseva, et al. // Far Eastern medical journal. – 2024. – № 3. – P. 48-52. <http://dx.doi.org/10.35177/1994-5191-2024-3-8>.



Бесконтрольное повсеместное применение синтетических антибактериальных препаратов, особенно в период пандемии COVID-19, усилило без того прогрессирующую антибиотикорезистентность микроорганизмов [1], поэтому поиск и изучение новых средств противомикробной направленности является важным аспектом современной медицины [2].

В этом ключе, все больший интерес вызывают вещества растительного происхождения антимикробного действия, демонстрирующие легкую переносимость и малотоксичность [3].

Красника (*Vaccinium praestans* L.) – теневыносливый листопадный кустарник, эндемик Дальневосточной

флоры [4], с уникальными по вкусу и запаху сочными ягодами ярко-красного цвета [5].

Vaccinium praestans L. – перспективный источник ряда ценнейших биологически активных веществ (фенольных соединений [6], дубильных веществ [7], органических кислот [6], аминокислот [8], макро-, микроэлементов [8] и др.), что не может не привлекать внимание с целью поиска антимикробной активности данного растения.

Цель исследования – изучение антимикробной активности плодов *Vaccinium praestans* L.

Материалы и методы

Объектами исследования являлись сок и экстракт из плодов *Vaccinium praestans* L., собранных в Камчатском крае в период созревания плодов. В эксперименте участвовали 3 партии растительного сырья.

В качестве исследуемых культур были использованы грамположительные (*Enterococcus faecalis* NCTC 12697, *Staphylococcus aureus* NCTC 13373, *Staphylococcus epidermidis* NCTC 1336) и грамотрицательные (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* NCTC 9633) микроорганизмы.

Сок отжимали из плодов на ручном винтовом прессе. Извлечение получено из высушенного сырья методом перколяции в соотношении 1:1 на 40 % этиловом спирте. Полученный экстракт упаривали на ротаторном испарителе UL-2000E при температуре 50 °C для полного удаления этилового спирта и доводили до исходного объема водой.

В полученных соках и экстрактах определяли сухой остаток согласно ОФС.1.4.1.0039 «Соки» и ОФС.1.4.1.0021 «Экстракты» Государственной Фармакопее XV издания [9].

Антимикробную активность *Vaccinium praestans* L. в отношении исследуемых микроорганизмов (МКО) осуществляли с помощью методов диско-диффузии в агар в соответствии с клиническими рекомендациями МАКМАХ «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам (версия 2021-01)» [10], и определения минимальной подавляющей концентрации по методике, как описано Тапальским Д.В. и соавторами [11]. Для исследования использовали суточные культуры штаммов в концентрации 0,5 по стандарту МакФарланда [10].

Для постановки диско-диффузионного метода посев микроорганизмов производили стерильными ватными палочками на плотные питательные среды

(агар Мюллер-Хинтона, Mast Group, Великобритания) в чашки Петри, после чего в них помещали стерильные диски (диаметр 6 мм), пропитанные концентрируемыми исследуемыми растворами (по 5 мкл сока или экстракта на каждый диск). Культивировали в термостате при температуре 35±2 °C в течение 20 ч. Данное исследование проводилось в трехкратной независимой повторности каждой партии сырья. Учет результатов производили путем замера зон задержки роста (мм) [10]. Параллельно на другие чашки Петри наносили по 5 мкл сока и экстракта без использования дисков.

Определение минимальной подавляющей концентрации (МПК) сока и экстракта красники проводили в 96-луночных планшетах, используя бульон Мюллера-Хинтона (HiMedia, Индия) и суточные культуры *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* NCTC 9633 по методике, предложенной Тапальским Д.В. и соавторами [11].

Инкубировали в термостате при температуре 35±2 °C в течение 20 ч. Учет результатов осуществляли с помощью спектрофотометра Multiskan FC 1.00.96 (Германия) при длине волны $\lambda=450$ нм [12] путем сравнения роста микроорганизма в присутствии исследуемых растворов с ростом микроорганизмов без объектов исследования [10]. Исследование для каждого микроорганизма проводили в трехкратной независимой повторности.

Статистическую обработку данных 3х партий проводили с помощью программы Microsoft Excel 2010 согласно ОФС 1.1.0014.15 «Статистическая обработка результатов определения специфической фармакологической активности лекарственных средств биологическими методами» с расчетом средней арифметической $\bar{x}$ и доверительного интервала $\Delta\bar{x}$ [9].

Результаты и обсуждение

На первом этапе в исследуемых соках и экстрактах был определен сухой остаток, результаты определенных представлены в таблице 1.

Диско-диффузным методом определялось наличие влияния сока и экстракта плодов *Vaccinium praestans* L. на задержку роста исследуемых микроорганизмов.

Так, сок и экстракт красники подавляют рост МКО, при этом, экстракт красники демонстрирует более выраженную активность (табл.2). Наибольшее влияние на задержку роста микроорганизмов, как и у экстракта, так у сока *Vaccinium praestans* L., выявлено в отношении *Kl. pneumonia* и *E. faecalis*.



Таблица 1 – Сухой остаток в исследуемых соках и экстрактах

Объект исследования	Сухой остаток, %
Сок <i>Vaccinium praestans</i> L.	6,25±0,03
Экстракт <i>Vaccinium praestans</i> L.	18,22±0,17

Таблица 2 – Определение антимикробной активности объектов исследования диско-диффузным методом

Объект исследования	Зона задержки роста микроорганизмов $\bar{X} \pm \Delta\bar{X}$, мм				
	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>Kl. pneumoniae</i> NCTC 9633	<i>E. faecalis</i> NCTC 12697	<i>S. aureus</i> NCTC 13373	<i>S. epidermidis</i> NCTC 1336
Сок <i>Vaccinium praestans</i> L.	7±0,1	8±0,4	7±0,2	6,5±0,5	-
Экстракт <i>Vaccinium praestans</i> L.	10±0,5	13±0,6	13±0,5	11±0,5	11±0,4

Применение сока и экстракта красники без использования дисков также вызывало ингибирование роста исследуемых микроорганизмов, но из-за неравномерности распределения капли растворов существовали сложности в регистрации диаметра зон задержки роста микроорганизмов.

Определения МПК проводили на основании полученных данных (табл. 1). Согласно определениям, сок и экстракт красники в отношении *E. coli* и *Kl. pneumoniae* проявляют выраженную антибактериальную активность, так как МПК < 1 мг/мл (табл. 3 и рис. 1 и 2).

Таблица 3 – Определение минимальных подавляющих концентраций сока и экстракта красники в отношении исследуемых микроорганизмов, мг/мл

Микроорганизм	Сок <i>Vaccinium praestans</i> L.	Экстракт <i>Vaccinium praestans</i> L.
<i>E. coli</i>	0,39±0,02	0,57±0,01
<i>Kl. pneumoniae</i>	0,39±0,02	0,28±0,01

Установлена антимикробная активность сока и экстракта *Vaccinium praestans* L. в отношении грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов.

Результаты исследования могут быть использованы для дальнейшего изучения *Vaccinium praestans* L. в качестве средства противомикробного действия.

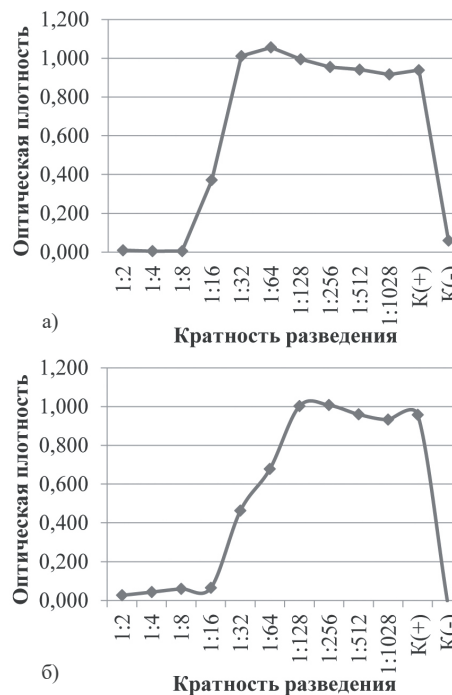


Рис. 1. Определение минимальной подавляющей концентрации в отношении *E. coli*: а) сок красники; б) экстракт красники

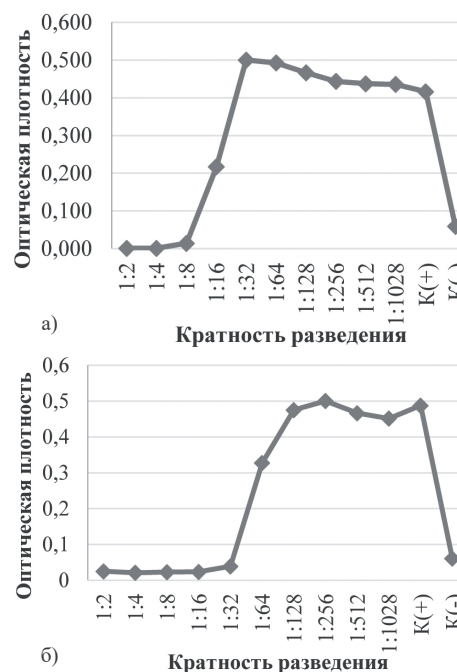


Рис. 2. Определение минимальной подавляющей концентрации в отношении *Kl. pneumoniae*: а) сок красники; б) экстракт красники

Список источников

- Ливерко И.В., Мухсинов Ф.М., Ниязова Ф.Н., Ахмедов Ш.М., Гафнер Н.В. Пандемия COVID-19: вызовы, факты и риски развития антибиотикорезистентности // Вестник Ассоциации пульмонологов Центральной Азии. – 2022. – № 3-4. – С. 139-140.
Liverko I.V., Mukhsinov F.M., Niyazova F.N., Akhmedov Sh.M., Gafner N.V. COVID-19 pandemic: challenges, facts and risks of antibiotic resistance development // Bulletin of the Association of Pulmonologists of Central Asia. – 2022. – № 3-4. – P. 139-140.



2. Тарасевич В.Н., Молохова Е.И., Новикова Н.В. Антибиотики для медицинского применения на фармацевтическом рынке Российской Федерации // Медико-фармацевтический журнал «Пульс». – 2019. – Т. 21, № 11. – С. 101-109.
Tarasevich V.N., Molokhova E.I., Novikova N.V. Antibiotics for medical use in the pharmaceutical market of the Russian Federation // Medical and Pharmaceutical Journal «Pulse». – 2019. – Vol. 21, № 11. – P. 101-109.
3. Налимова Н.В., Ефейкина Н.Б. Содержание биологически активных веществ в *Hypericum perforatum* L. и фармакотерапевтическое действие препаратов на его основе (обзор) // Acta medica Eurasica. – 2019. – № 3. – С. 24-36.
Nalimova N.V., Efeikina N.B. The content of biologically active substances in *Hypericum perforatum* L. and the pharmacotherapeutic effect of drugs based on it (review) // Acta medica Eurasica. – 2019. – № 3. – P. 24-36.
4. Саликова А.А., Устинова Л.В., Плаксен Н.В., Степанов С.В. Влияние метеоусловий на накопление антиоксидантов в плодах *Vaccinium praestans* // Проблемы региональной экологии. – 2019. – № 5. – С. 6-10.
Salikova A.A., Ustinova L.V., Plaksen N.V., Stepanov S.V. The influence of meteorological conditions on the accumulation of antioxidants in the fruits of *Vaccinium praestans* // Problems of Regional Ecology. – 2019. – № 5. – P. 6-10.
5. Чудецкий А. И. А, Кузнецова И.Б., Макаров С.С., Суков В.В. Получение посадочного материала красники (*Vaccinium praestans* Lamb.) Методом клонального микроразмножения // Вестник Бурятской государственной сельскохозяйственной академии им. В.Р. Филиппова. – 2021. – № 2. – С. 122-128.
Chudetsky A.I., Kuznetsova I.B., Makarov S.S., Surov V.V. Obtaining planting material of red bilberry (*Vaccinium praestans* Lamb.) by the method of clonal micropropagation // Bulletin of the Buryat State Agricultural Academy named after V.R. Filippov. – 2021. – № 2. – P. 122-128.
6. Саликова А.А., Пономарчук С.Г., Плаксен Н.В. Изучение химического состава плодов Дальневосточных видов растений семейства Вересковых (Ericaceae) // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2021. – № 3 (85). – С. 40-44.
Salikova A.A., Ponomarchuk S.G., Plaksen N.V. Study of the chemical composition of fruits of Far Eastern plant species of the Heather family (Ericaceae) // Pacific Medical Journal. – 2021. – № 3 (85). – P. 40-44.
7. Чудецкий А.И., Макаров С.С. Влияние росторегулирующих веществ на процесс органогенеза красники (*Vaccinium praestans* Lamb.) в культуре in vitro // Современные тенденции развития технологий здоровьесбережения. – 2020. – С. 160-165.
Chudetsky A.I., Makarov S.S. The influence of growth-regulating substances on the process of organogenesis of red berry (*Vaccinium praestans* Lamb.) in vitro culture // Modern trends in the Development of health-saving technologies. – 2020. – P. 160-165.
8. Крышняя С.В., Красикова В.И. Химический состав плодов и листьев *Vaccinium praestans* // Наземные экосистемы острова Сахалина: современное состояние, природно-антропогенное изменение, охрана и рациональное использование природных ресурсов. – Южно-Сахалинск, 1999. – С. 121-128.
Kryshnyaya S.V., Krasikova V.I. Chemical composition of fruits and leaves of *Vaccinium praestans* // Terrestrial ecosystems of Sakhalin Island: current state, natural and anthropogenic change, protection and rational use of natural resources. – Yuzhno-Sakhalinsk, 1999. – P. 121-128.
9. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XV издание. – М., 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-5/1-5-1/opredelenie-vlazhnosti-lekarstvennogo-rastitelnogo-syrya-i-lekarstvennykh-sredstv-rastitelnogo-prois/> (дата обращения 13.02.2024).
State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XV edition. – M., 2023. URL: <https://pharmacopoeia.regmed.ru/pharmacopoeia/izdanie-15/1/1-5/1-5-1/opredelenie-vlazhnosti-lekarstvennogo-rastitelnogo-syrya-i-lekarstvennykh-sredstv-rastitelnogo-prois/> (Date of access: 13.02.2024).
10. Определение чувствительности к антимикробным препаратам. Клинические рекомендации // Интернет-портал главного внештатного специалиста Минздрава России по клинической микробиологии и антимикробной резистентности. URL: <https://www.antibiotic.ru/files/321/clrec-dsma2021.pdf>. (дата обращения 01.02.2022).
Determination of sensitivity to antimicrobial drugs. Clinical recommendations // Internet portal of the chief freelance specialist of the Ministry of Health of Russia in clinical microbiology and antimicrobial resistance. URL: <https://www.antibiotic.ru/files/321/clrec-dsma2021.pdf>. (Date of access: 01.02.2022).
11. Тапальский Д.В., Бильский И.А. Определение чувствительности к антибиотикам методом микроразведений в бульоне: модификация, доступная для всех // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2018. – Т. 20, № 1. – С. 62-67.
Tapalskiy D.V., Bilskiy I.A. Determination of sensitivity to antibiotics by the broth microdilution method: a modification available to everyone // Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. – 2018. – Vol. 20, № 1. – P. 62-67.



12. Саликова А.А., Зайцева Е.А., Устинова Л.В. Влияние сока из плодов Вакциниума превосходного на грамположительные бактерии // Инновационные технологии в медицине и фармакологии. – 2016. – С. 65-71.
Salikova A.A., Zaitseva E.A., Ustinova L.V. The effect of juice from the fruits of *Vaccinium superb* on gram-positive bacteria // Innovative Technologies in Medicine and Pharmacology. – 2016. – P. 65-71.
13. Левин Б.Д., Федюлин А.С. Возможные пути переработки плодов аронии черноплодной // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2006. – № 10. – С. 315-318.
Levin B.D., Fedyulin A.S. Possible ways of processing black chokeberry fruits // Bulletin of the Krasnoyarsk State Agrarian University. – 2006. – № 10. – P. 315-318.

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

The authors declare no conflicts of interests.

Статья принята к публикации 12.07.2024.

The article was accepted for publication 12.07.2024.

