

Метод микроразведений – универсальный способ определения минимальных ингибирующих концентраций веществ различной природы

К.Ю.Швец^{1,2}, Г.Р.Ахметова^{2,3}, Ал.Х.Баймиев^{1,2}, Б.Р.Кулуев^{1,2,3}, А.Р.Мавзютов²,
А.Х.Баймиев^{1,2,3}, А.Д.Хабирова^{2,3}, Г.Н.Закирова², Г.Ф.Хасанова²

¹Институт биохимии и генетики, Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, Уфа, Российская Федерация;

²ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет», Уфа, Российская Федерация;

³Башкирский государственный университет МОН РФ, Уфа, Российская Федерация

Стандартизован метод количественной оценки антимикробной активности новых химических соединений и веществ различной природы с определением минимальных подавляющих концентраций (МПК).

Для этого исследовано 10 соединений, полученных путем введения нитрильной фракции в состав природных соединений, а также экстракты корней, стебля и листьев следующих растений: *Inula helenium*, *Sonchus arvensis*, *Euphorbia seguieriana*, *Tragopogon podolicus*, *Tragopogon major*, *Euphorbia virgate*, *Serratula coronata*, *Euphorbia semivillosa*, *Crepis sibirica*, *Senecio erucifolius*, *Cirsium setosum*, *Pilosella echioides*, *Taraxacum serotinum*, *Picris hieracioides*, *Sonchus palustris*, *Hieracium umbellatum*, *Scorzonera austriaca*, *Trommsdorffia maculata*, *Taraxacum proximum*, *Scorzonera stricta*, *Picris vaillantii*, *Senecio schwetzovii*, *Cichorium intybus*, *Euphorbia palustris*.

Стандартизованный метод на тестовых штаммах *Escherichia coli* (№25922 ATCC), *Pseudomonas aeruginosa* (№27853 ATCC) и *Staphylococcus aureus* (№206 ATCC) позволяет быстро и надежно количественно оценивать антибактериальную активность больших массивов исследуемых соединений.

Ключевые слова: способ определения минимальных ингибирующих концентраций

Для цитирования: Швец К.Ю., Ахметова Г.Р., Баймиев Ал.Х., Кулуев Б.Р., Мавзютов А.Р., Баймиев А.Х., Хабирова А.Д., Закирова Г.Н., Хасанова Г.Ф. Метод микроразведений – универсальный способ определения минимальных ингибирующих концентраций веществ различной природы. Бактериология. 2019; 4(3): 7–13. DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-7-13

The microdilution method – universal method for determining the minimum inhibitory concentrations of substances of different nature

К.Ю.Швец^{1,2}, Г.Р.Ахметова^{2,3}, Ал.Х.Баймиев^{1,2}, Б.Р.Кулуев^{1,2,3}, Ал.А.Р.Мавзютов²,
А.Х.Баймиев^{1,2,3}, А.Д.Хабирова^{2,3}, Г.Н.Закирова², Г.Ф.Хасанова²

¹Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Ufa, Russian Federation;

²Bashkir State Medical University, Ufa, Russian Federation;

³Bashkir State University, Ufa, Russian Federation

The method of quantitative evaluation of antimicrobial activity of new chemical compounds and substances of different nature with determination of minimum suppressive concentrations (MPC) is standardized.

For this purpose, 10 compounds obtained by introducing nitrile fraction into the composition of natural compounds, as well as extracts of roots, stem and leaves of the following plants were studied: *Inula helenium*, *Sonchus arvensis*, *Euphorbia seguieriana*, *Tragopogon podolicus*, *Tragopogon major*, *Euphorbia virgate*, *Serratula coronata*, *Euphorbia semivillosa*, *Crepis sibirica*, *Senecio erucifolius*, *Cirsium setosum*, *Pilosella echioides*, *Taraxacum serotinum*, *Picris hieracioides*, *Sonchus palustris*, *Hieracium umbellatum*, *Scorzonera austriaca*, *Trommsdorffia maculata*, *Taraxacum proximum*, *Scorzonera stricta*, *Picris vaillantii*, *Senecio schwetzovii*, *Cichorium intybus*, *Euphorbia palustris*.

Для корреспонденции:

Мавзютов Айрат Радикович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фундаментальной и прикладной микробиологии, профессор кафедры лабораторной диагностики Института дополнительного профессионального образования ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»

Адрес: 450008, Уфа, Ленина, 3

Телефон: (347) 276-1960

E-mail: ufalab@mail.ru

Статья поступила 28.08.2019 г., принята к печати 26.09.2019 г.

For correspondence:

Airat R. Mavzyutov, MD, PhD, DSc, professor, chief of department of fundamental and applied microbiology, professor of department of laboratory diagnostics, Institute of Continuing Professional Education, Bashkir State Medical University

Address: 3 Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation

Phone: (347) 276-1960

E-mail: ufalab@mail.ru

The article was received 28.08.2019, accepted for publication 26.09.2019

The standardized method on test strains of *Escherichia coli* (No. 25922 ATCC), *Pseudomonas aeruginosa* (No. 27853 ATCC) and *Staphylococcus aureus* (No. 206 ATCC) allows to quickly and accurately quantify the antibacterial activity a lot of the studied compounds.

Keywords: *method of determination of minimum inhibitory concentrations*

For citation: Shvets K.Yu., Akhmetova G.R., Baymiev A.I.H., Kuluyev B.R., Mavzyutov A.I.A.R., Baymiev A.H., Khabirova A.D., Zakirova G.N., Khasanova G.F. The microdilution method – universal method for determining the minimum inhibitory concentrations of substances of different nature. Bacteriology. 2019; 4(3): 7–13. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2019-3-7-13

Инфекционные болезни бактериальной этиологии на протяжении многих столетий были и остаются наиболее опасными болезнями человеческого организма из-за их способности вовлечь в процесс большое число здоровых людей в течение короткого периода времени. По данным Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) 2013 г., в Российской Федерации зарегистрировано более 33 млн 225 тыс. случаев инфекционных заболеваний (в 2012 г. – 31 млн 477 тыс.). В 2013 г. в России умерло 1,9 млн человек, от инфекционных болезней – 31 808 (1,7%), зарегистрировано 33 млн 255 тыс. случаев инфекционных болезней, летальный исход составил 0,096%. В современной медицинской практике серьезную проблему представляет терапия заболеваний, вызванных устойчивыми к антибиотикам микроорганизмами [1, 2]. В 2012 г. были опубликованы данные о наличии множественной (MDR), экстремальной (XDR) и даже полной (PDR) устойчивости к антибиотикам у большинства видов бактерий [3]. Подобное явление чаще всего обусловлено сцеплением генов устойчивости к антибиотикам с другими детерминантами резистентности.

Современный фармацевтический рынок предлагает широкий спектр противомикробных и антисептических дезинфицирующих средств как синтетического, так и природного происхождения. Интересным представляется использование соединений, полученных путем введения нитрильной фракции в молекулы природных соединений, биосовместимость которых подтверждается распространенностью нитрилсодержащих фармацевтических препаратов, а также продолжающимися исследованиями потенциальных антибактериальных агентов в клинических условиях [4–6]. Нитрильная группа достаточно устойчива и в большинстве случаев не подвергается метаболизму в человеческом организме. Благодаря многообразию механизмов взаимодействия с биологическими мишенями нитрилсодержащие производные все чаще привлекают внимание в качестве перспективных агентов для создания на их основе различных лекарственных препаратов.

Также не менее интересным является поиск природных источников потенциальных антибиотиков. Перспективным является использование каучуконосных растений, которые на данный момент рассматриваются в качестве одной из перспективных альтернатив антибиотикам, получаемым из микроорганизмов [7].

В настоящее время для оценки чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам применяют фенотипические методы (диско-диффузионный метод, метод серийных разведений), которые предполагают оценку влияния веществ на жизнедеятельность микроорганизмов по таким параметрам, как скорость роста и биохимическая

активность. Существенным недостатком данных методов является трудоемкость проводимых манипуляций, способствующая отдалению процесса подбора подходящей антибиотикотерапии и применения ее на практике. В связи с этим встает важнейшая практическая задача совершенствования методик быстрого и точного определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам, что, в свою очередь, является необходимым для подбора потенциально применимого препарата и выбора подходящей тактики антибиотикотерапии.

Цель исследования – стандартизация метода количественной оценки антимикробной активности новых химических соединений и веществ различной природы с определением минимальных подавляющих концентраций (МПК).

Материалы и методы

Объектами исследования стали 10 соединений, полученных путем введения нитрильной фракции в молекулы природных соединений, а также корни, стебли и листья следующих растений: *Inula helenium* (Девясил высокий), *Sonchus arvensis* (Осот полевой), *Euphorbia seguieriana* (Молочай Сегье), *Tragopogon podolicus* (Козлобородник подольский), *Tragopogon major* (Козлобородник большой), *Euphorbia virgate* (Молочай лозный), *Serratula coronata* (Серпуха венечносная), *Euphorbia semivillosa* (Молочай полумохнатый), *Crepis sibirica* (Скерда сибирская), *Senecio erucifolius* (Крестовник зруколистный), *Cirsium setosum* (Бодяк щетинистый), *Pilosella echinoides* (Ястребиночка румянквидная), *Taraxacum serotinum* (Одуванчик поздний), *Picris hieracioides* (Горлюха ястребинковидная), *Sonchus palustris* (Осот болотный), *Hieracium umbellatum* (Ястребинка зонтичная), *Scorzonera austriaca* (Козелец австрийский), *Trommsdorffia maculata* (Прозанник крапчатый), *Taraxacum proximum* (Одуванчик ближайший), *Scorzonera stricta* (Козелец прямой), *Picris vaillantii* (Ястребиночка Вайана), *Senecio schwetsovii* (Крестовник Швецова), *Cichorium intybus* (Цикорий обыкновенный), *Euphorbia palustris* (Молочай болотный).

В качестве тестовых микроорганизмов использовали музейные штаммы: *Escherichia coli* (№25922 ATCC), *Pseudomonas aeruginosa* (№27853 ATCC) и *Staphylococcus aureus* (№206 ATCC USA).

Определение антимикробной активности и количественное определение МПК новых химических соединений и растительных экстрактов проводили с использованием референтного метода микроразведений в бульоне Мюллера-Хинтона (Mueller-Hinton Broth, HiMedia, Индия). Данный метод основан на принципах, описанных Ericsson и Sherris, широко применяется для оценки антибиотикочувствитель-

ности быстрорастущих аэробных бактерий в различных странах и рекомендован Европейским комитетом по оценке антибиотикочувствительности (EUCAST) [8–11].

Для проведения исследования антимикробной активности растительных экстрактов растительные ткани замораживали при -70° в течение 1 ч, а затем подвергали их гомогенизации в ступке с пестиком. После этого ткани растений помещали с помощью пинцета в отдельные пробирки типа Eppendorf. Экстракцию метаболитов из этого порошка проводили раздельно в гексане (около 100%) при комнатной температуре в течение 1,5 ч при постоянном помешивании на шейкере. После этого экстракты оставляли на 2 ч при температуре $+4^{\circ}\text{C}$ и затем нагревали 1 ч до 37°C . Далее центрифугировали при 12 000 об./мин. в течение 20 минут. В дальнейшем для экспериментов использовали надосадочную жидкость.

Основные растворы химических соединений готовили для анализа из имевшихся навесок тестируемых веществ в стерильных флаконах, которые растворяли в 1 мл диметилсульфоксида (ДМСО) с вычислением процентной концентрации (С%, %). Затем готовили рабочие растворы путем двукратных последовательных разведений основных растворов в бульоне Мюллера-Хинтона (HiMedia, Индия). Для каждого соединения было приготовлено 7 последовательных разведений (мг/л). Готовые разведения использовали в день их приготовления.

Инокулюм готовили путем суспендирования в физиологическом растворе 4–5 морфологически однородных колоний, выросших на чистой неселективной твердой питательной среде, инкубированной при 37°C в течение 18–24 ч, и доводили суспензию до мутности, эквивалентной 0,5 стандарта МакФарланд ($1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл). Далее приготовленный инокулюм разводили в бульоне Мюллера-Хинтона (разведение 1:100), чтобы получить необходимую плотность микробной культуры 5×10^6 КОЕ/мл. Планшеты инокулировались в течение не более 30 мин после приготовления ино-

кулюма для сохранения необходимого числа жизнеспособных клеток.

Для проведения эксперимента по определению антибактериальной активности и минимальных подавляющих концентраций использовали 96-луночные планшеты Corning® 96-well Clear Flat Bottom Polystyrene High Bind Microplate, 25 per Bag, without Lid (USA), в отдельные лунки которых последовательно добавляли по 50 мкл каждого из рабочих растворов тестируемых химических соединений. К каждой лунке, содержащей 50 мкл раствора химического соединения, разведенного в бульоне, добавляли 50 мкл бактериальной суспензии (5×10^6 КОЕ/мл).

Для контроля роста всех проверяемых штаммов микроорганизмов обязательно ставили положительный контрольный образец (ПКО) в лунке, содержащей 50 мкл бульона и инокулюма соответствующего микроорганизма без химического соединения или растительного экстракта. Аналогично, лунка, содержащая 50 мкл питательного бульона без химического соединения или растительного экстракта, была использована как неинокулированная лунка отрицательного контрольного образца (ОКО).

Планшеты для микроразведений перед инкубацией заклеивали прозрачной пленкой и запечатывали в полиэтиленовые пакеты для предотвращения высушивания. Планшеты инкубировали в термостате в течение 16–20 ч при 37°C . Для более равномерного нагревания планшеты были сложены в стопки не больше чем по пять штук.

Результаты учитывали только при наличии достаточного роста испытуемого микроорганизма в положительном контроле, а также при отсутствии бактериального роста в отрицательном контроле. Бактериальный рост контролировали путем измерения оптической плотности клеток на приборе EnSpire Model 2300 Multilabel Microplate Reader (Perkin Elmer, США) при длине волны 655 нм. Результаты определения МПК тестируемых химических соединений и растительных экстрактов представлены в таблицах 1–4.

Таблица 1. Изменение значений оптической плотности при культивировании исследуемых химических соединений в присутствии бактерии *Pseudomonas aeruginosa* (№27853 ATCC)

Исследуемое вещество	Концентрация веществ, мг/л							ПКО Меропенем (10 мг/л)	ПКО Бульон + инокулюм	ПКО Бульон + инокулюм + ДМСО	ОКО Бульон	ОКО Бульон + ДМСО
	2,8	1,4	0,7	0,35	0,175	0,088	0,044					
Sub_1	0,403	0,375	0,419	0,405	0,402	0,388	0,386	0,044	0,317	0,305	0,034	0,036
Sub_2	0,292	0,355	0,362	0,404	0,409	0,416	0,420	0,050	0,403	0,340	0,052	0,049
Sub_3	0,303	0,301	0,341	0,345	0,398	0,398	0,358	0,094	0,358	0,329	0,065	0,067
Sub_4	0,270	0,253	0,275	0,267	0,291	0,248	0,232	0,050	0,270	0,246	0,039	0,041
Sub_5	0,411	0,408	0,370	0,399	0,396	0,403	0,326	0,060	0,369	0,344	0,039	0,039
Sub_6	0,424	0,397	0,389	0,372	0,390	0,375	0,352	0,064	0,382	0,349	0,064	0,050
Sub_7	0,394	0,365	0,379	0,384	0,368	0,368	0,341	0,076	0,368	0,337	0,066	0,084
Sub_8	0,310	0,255	0,286	0,290	0,232	0,258	0,294	0,066	0,307	0,268	0,043	0,047
Sub_9	0,450	0,436	0,396	0,406	0,407	0,426	0,360	0,050	0,362	0,321	0,039	0,043
Sub_10	0,299	0,363	0,391	0,385	0,368	0,410	0,352	0,055	0,398	0,330	0,054	0,048

Результаты и обсуждение

Исследование антибактериальной активности новых химических соединений с использованием референтного метода микроразведений в бульоне позволило выявить антимикробную активность сразу нескольких соединений в отношении тестируемых штаммов условно-патогенных микроорганизмов. В частности, химическое вещество Sub_2 (МПК = 0,7 мг/л) обладало антибактериальным действием в отношении бактерии *Pseudomonas aeruginosa* (табл. 1). Оптическая плотность увеличивалась с уменьшением концентрации действующего вещества, что, в свою очередь, свидетельствовало о подавлении роста бактерий в питательном бульоне. Остальные исследуемые вещества

антимикробной активностью в отношении данного вида не обладали.

Анализ данных, полученных для другой грамотрицательной бактерии – *Escherichia coli*, позволил выделить вещество Sub_4 и определить его как стимулятор роста бактерий, поскольку по ходу эксперимента наблюдалось линейное увеличение оптической плотности от одного разведения к другому (табл. 2). Вероятно, с увеличением концентрации указанного вещества происходила интенсификация жизненного цикла бактерии и, как следствие, увеличение ее концентрации в культуральной среде. Для остальных исследуемых соединений антимикробная активность в отношении штамма бактерии *Escherichia coli* не фиксировалась.

Таблица 2. Изменение значений оптической плотности при культивировании исследуемых химических соединений в присутствии бактерии *Escherichia coli* (№25922 ATCC)

Исследуемое вещество	Концентрация веществ, мг/л							ПКО Меропенем (10 мг/л)	ПКО Бульон + инокулюм	ПКО Бульон + инокулюм + ДМСО	ОКО Бульон	ОКО Бульон + ДМСО
	Оптическая плотность											
Sub_1	2,8	1,4	0,7	0,35	0,175	0,088	0,044	0,057	0,309	0,319	0,056	0,045
	0,374	0,307	0,264	0,303	0,271	0,301	0,288					
Sub_2	2,8	1,4	0,7	0,35	0,175	0,088	0,044	0,054	0,290	0,286	0,049	0,054
	0,329	0,278	0,229	0,155	0,218	0,260	0,253					
Sub_3	3,1	1,55	0,775	0,388	0,194	0,097	0,048	0,057	0,229	0,245	0,064	0,063
	0,310	0,245	0,223	0,225	0,228	0,265	0,231					
Sub_4	2,95	1,475	0,738	0,369	0,184	0,092	0,046	0,053	0,211	0,239	0,047	0,041
	0,318	0,254	0,216	0,197	0,191	0,183	0,168					
Sub_5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,052	0,294	0,309	0,067	0,040
	0,303	0,272	0,236	0,278	0,0226	0,262	0,245					
Sub_6	3,0	1,5	0,75	0,375	0,188	0,094	0,047	0,051	0,261	0,274	0,050	0,056
	0,307	0,222	0,209	0,221	0,255	0,263	0,244					
Sub_7	2,7	1,35	0,675	0,338	0,169	0,084	0,042	0,056	0,242	0,260	0,069	0,086
	0,296	0,223	0,213	0,184	0,219	0,218	0,212					
Sub_8	2,75	1,375	0,688	0,344	0,172	0,084	0,043	0,045	0,203	0,222	0,033	0,037
	0,166	0,174	0,223	0,139	0,188	0,165	0,174					
Sub_9	2,6	1,3	0,65	0,325	0,163	0,081	0,040	0,054	0,297	0,305	0,039	0,039
	0,308	0,279	0,275	0,275	0,293	0,309	0,284					
Sub_10	3,05	1,525	0,763	0,381	0,190	0,095	0,048	0,050	0,270	0,291	0,044	0,057
	0,286	0,227	0,221	0,244	0,319	0,333	0,258					

Таблица 3. Изменение значений оптической плотности при культивировании исследуемых химических соединений в присутствии бактерии *Staphylococcus aureus* (№206 ATCC USA)

Исследуемое вещество	Концентрация веществ, мг/л							ПКО Меропенем (10 мг/л)	ПКО Бульон + инокулюм	ПКО Бульон + инокулюм + ДМСО	ОКО Бульон	ОКО Бульон + ДМСО
	Оптическая плотность											
Sub_1	2,8	1,4	0,7	0,35	0,175	0,088	0,044	0,051	0,245	0,146	0,032	0,030
	0,170	0,099	0,110	0,102	0,102	0,133	0,133					
Sub_2	2,8	1,4	0,7	0,35	0,175	0,088	0,044	0,039	0,139	0,153	0,039	0,041
	0,163	0,132	0,144	0,32	0,133	0,138	0,141					
Sub_3	3,1	1,55	0,775	0,388	0,194	0,097	0,048	0,05	0,216	0,227	0,065	0,048
	0,220	0,183	0,184	0,210	0,236	0,35	0,216					
Sub_4	2,95	1,475	0,738	0,369	0,184	0,092	0,046	0,044	0,175	0,207	0,052	0,049
	0,136	0,139	0,121	0,186	0,160	0,252	0,161					
Sub_5	2,5	1,25	0,625	0,313	0,156	0,078	0,039	0,048	0,166	0,159	0,035	0,054
	0,211	0,171	0,147	0,174	0,168	0,19	0,187					
Sub_6	3,0	1,5	0,75	0,375	0,188	0,094	0,047	0,039	0,147	0,160	0,036	0,041
	0,178	0,158	0,130	0,134	0,141	0,141	0,134					
Sub_7	2,7	1,35	0,675	0,338	0,169	0,084	0,042	0,053	0,228	0,241	0,050	0,051
	0,257	0,233	0,230	0,246	0,245	0,223	0,220					
Sub_8	2,75	1,375	0,688	0,344	0,172	0,084	0,043	0,047	0,165	0,172	0,074	0,052
	0,201	0,149	0,257	0,160	0,187	0,180	0,163					
Sub_9	2,6	1,3	0,65	0,325	0,163	0,081	0,040	0,051	0,154	0,151	0,046	0,032
	0,201	0,208	0,146	0,176	0,174	0,186	0,164					
Sub_10	3,05	1,525	0,763	0,381	0,190	0,095	0,048	0,043	0,150	0,155	0,038	0,050
	0,213	0,251	0,158	0,153	0,253	0,133	0,138					

В отношении штамма *Staphylococcus aureus* тестируемые химические соединения антимикробную активность не проявляли, о чем свидетельствовали значения оптической плотности культивируемой жидкости в соответствующих лунках планшетов (табл. 3).

Проведение анализа антимикробной активности растительных экстрактов в отношении штамма *Escherichia coli* с использованием предлагаемой методики позволило выявить антибактериальную активность корней следующих растений: *Sonchus arvensis* (Осот полевой), *Taraxacum serotinum* (Одуванчик поздний), *Cichorium intybus* (Цикорий обыкновенный) (табл. 4). Данный клинически значимый штамм бактерий оказался восприимчив к указанным выше растительным экстрактам, и процент подавления бактериального

роста при этом составил 46,9%, 50,3% и 51,7% соответственно. Полученные результаты подтвердили возможность использования каучуконосных растений в качестве первичного сырья для получения препаратов с антимикробными свойствами, а также перспективность выделения биологически активных соединений в виде экстрактов.

Таким образом, референтный метод микроразведений в бульоне Мюллера-Хинтона был нами модифицирован и усовершенствован с целью возможности определения антимикробной активности и МПК для антибактериальных веществ различной природы (химические вещества, растительные экстракты). Результаты наших экспериментов доказывают возможность и целесообразность использования данной методики при описании антимикробных свойств

Таблица 4. Изменение значений оптической плотности при культивировании исследуемых растительных экстрактов в присутствии бактерии *Escherichia coli* (№25922 ATCC)

Вид растения	Орган растения	Оптическая плотность	ПКО Бульон + инокулюм	ОКО Бульон + гексан	ОКО Бульон + растительный экстракт
<i>Inula helenium</i> – Девясил высокий	Корни	0,5967	0,457	0,023	0,013
<i>Inula helenium</i> – Девясил высокий	Стебли	0,538	0,516	0,012	0,018
<i>Inula helenium</i> – Девясил высокий	Листья	0,3623	0,557	0,029	0,022
<i>Sonchus arvensis</i> – Осот полевой	Корни	0,2437	0,519	0,026	0,018
<i>Sonchus arvensis</i> – Осот полевой	Стебли	0,3933	0,454	0,024	0,019
<i>Sonchus arvensis</i> – Осот полевой	Листья	0,36	0,415	0,022	0,026
<i>Euphorbia seguieriana</i> – Молочай Сегье	Корни	0,3533	0,494	0,014	0,025
<i>Euphorbia seguieriana</i> – Молочай Сегье	Стебли	0,277	0,404	0,02	0,016
<i>Euphorbia seguieriana</i> – Молочай Сегье	Листья	0,621	0,669	0,017	0,19
<i>Tragopogon podolicus</i> – Козлобородник подольский	Корни	0,6237	0,637	0,007	0,02
<i>Tragopogon podolicus</i> – Козлобородник подольский	Стебли	0,62	0,603	0,012	0,018
<i>Tragopogon podolicus</i> – Козлобородник подольский	Листья	0,558	0,556	0,016	0,022
<i>Tragopogon major</i> – Козлобородник большой	Корни	0,5157	0,532	0,014	0,016
<i>Tragopogon major</i> – Козлобородник большой	Стебли	0,3753	0,543	0,68	0,024
<i>Tragopogon major</i> – Козлобородник большой	Листья	0,4	0,497	0,02	0,025
<i>Euphorbia virgata</i> – Молочай лозный	Корни	0,339	0,34	0,023	0,015
<i>Euphorbia virgata</i> – Молочай лозный	Стебли	0,455	0,354	0,047	0,06
<i>Euphorbia virgata</i> – Молочай лозный	Листья	0,52	0,363	0,066	0,035
<i>Serratula coronata</i> – Серпуха венценосная	Корни	0,639	0,464	0,066	0,065
<i>Serratula coronata</i> – Серпуха венценосная	Стебли	0,655	0,283	0,065	0,045
<i>Serratula coronata</i> – Серпуха венценосная	Листья	0,502	0,436	0,021	0,025
<i>Euphorbia semivillosa</i> – Молочай полумохнатый	Корни	0,503	0,366	0,02	0,023
<i>Euphorbia semivillosa</i> – Молочай полумохнатый	Стебли	0,437	0,377	0,018	0,098
<i>Euphorbia semivillosa</i> – Молочай полумохнатый	Листья	0,416	0,348	0,015	0,019
<i>Crepis sibirica</i> – Скерда сибирская	Стебли	0,567	0,538	0,025	0,006
<i>Senecio erucifolius</i> – Крестовник эруколистный	Листья	0,451	0,522	0,015	0,025
<i>Cirsium setosum</i> – Бодяк щетинистый	Листья	0,429	0,543	0,014	0,014
<i>Pilosella echioides</i> – Ястребиночка румяноквидная	Корни	0,534	0,547	0,026	0,018
<i>Taraxacum serotinum</i> – Одуванчик поздний	Листья	0,531	0,549	0,023	0,022
<i>Picris hieracioides</i> – Горлюха ястребинковидная	Листья	0,43	0,426	0,018	0,66
<i>Sonchus palustris</i> – Осот болотный	Корни	0,373	0,367	0,013	0,015
<i>Cirsium setosum</i> – Бодяк щетинистый	Стебли	0,415	0,323	0,031	0,019
<i>Pilosella echioides</i> – Ястребиночка румяноквидная	Листья	0,3803	0,381	0,022	0,026
<i>Picris hieracioides</i> – Горлюха ястребинковидная	Корни	0,3083	0,506	0,02	0,021
<i>Crepis sibirica</i> – Скерда сибирская	Корни	0,591	0,423	0,015	0,022
<i>Hieracium umbellatum</i> – Ястребинка зонтичная	Стебли	0,5213	0,61	0,022	0,022
<i>Senecio erucifolius</i> – Крестовник эруколистный	Стебли	0,5483	0,498	0,021	0,017
<i>Scorzonera austriaca</i> – Козелец австрийский	Корни	0,4637	0,376	0,021	0,01
<i>Taraxacum serotinum</i> – Одуванчик поздний	Корни	0,2127	0,423	0,019	0,016
<i>Pilosella echioides</i> – Ястребиночка румяноквидная	Стебли	0,3007	0,414	0,02	0,009
<i>Sonchus palustris</i> – Осот болотный	Листья	0,4707	0,59	0,018	0,016
<i>Crepis sibirica</i> – Скерда сибирская	Листья	0,4277	0,508	0,015	0,02
<i>Sonchus palustris</i> – Осот болотный	Стебли	0,6443	0,585	0,014	0,015
<i>Hieracium umbellatum</i> – Ястребинка зонтичная	Корни	0,4783	0,54	0,021	0,013
<i>Trommsdorffia maculata</i> – Прозанник крапчатый	Листья	0,4993	0,613	0,016	0,017
<i>Taraxacum proximum</i> – Одуванчик ближайший	Корни	0,3947	0,554	0,025	0,016
<i>Scorzonera stricta</i> – Козелец прямой	Корни	0,3223	0,581	0,018	0,025
<i>Scorzonera stricta</i> – Козелец прямой	Листья	0,3703	0,439	0,024	0,021
<i>Picris vailantii</i> – Ястребиночка Вайана	Корни	0,4173	0,357	0,017	0,026
<i>Senecio erucifolius</i> – Крестовник эруколистный	Листья	0,552	0,428	0,017	0,016

Таблица 4. Окончание

Вид растения	Орган растения	Оптическая плотность	ПКО Бульон + инокулюм	ОКО Бульон + гексан	ОКО Бульон + растительный экстракт
<i>Senecio schwetsovii</i> – Крестовник Швецова	Листья	0,5517	0,429	0,023	0,016
<i>Crepis praemorsa</i> – Скерда тупокоренная	Листья	0,443	0,641	0,02	0,021
<i>Picris hieracioides</i> – Горлюха ястребинковидная	Стебли	0,396	0,465	0,018	0,017
<i>Cirsium setosum</i> – Бодяк щетинистый	Корни	0,338	0,452	0,023	0,019
<i>Taraxacum proximum</i> – Одуванчик ближайший	Листья	0,379	0,385	0,014	0,019
<i>Hieracium umbellatum</i> – Ястребинка зонтичная	Листья	0,3683	0,36	0,021	0,013
<i>Cichorium intybus</i> – Цикорий обыкновенный	Листья	0,3933	0,459	0,023	0,013
<i>Crepis praemorsa</i> – Скерда тупокоренная	Корни	0,493	0,485	0,018	0,017
<i>Cichorium intybus</i> – Цикорий обыкновенный	Стебли	0,5657	0,689	0,018	0,014
<i>Scorzonera stricta</i> – Козелец прямой	Стебли	0,4113	0,503	0,022	0,014
<i>Cichorium intybus</i> – Цикорий обыкновенный	Корни	0,2923	0,566	0,021	0,023
<i>Euphorbia palustris</i> – Молочай болотный	Листья	0,4723	0,455	0,015	0,015
<i>Trommsdorffia maculata</i> – Прозанник крапчатый	Стебли	0,3807	0,381	0,024	0,013
<i>Picris vaillantii</i> – Ястребиночка Вайана	Листья	0,329	0,433	0,019	0,007
<i>Euphorbia palustris</i> – Молочай болотный	Стебли	0,397	0,336	0,017	0,019
<i>Picris vaillantii</i> – Ястребиночка Вайана	Стебли	0,608	0,44	0,022	0,017
<i>Senecio erucifolius</i> – Крестовник эруколистный	Корни	0,592	0,407	0,019	0,02
<i>Senecio schwetsovii</i> – Крестовник Швецова	Стебли	0,451	0,38	0,021	0,017
<i>Trommsdorffia maculata</i> – Прозанник крапчатый	Корни	0,515	0,572	0,018	0,019
<i>Crepis praemorsa</i> – Скерда тупокоренная	Стебли	0,295	0,361	0,017	0,016
<i>Senecio schwetsovii</i> – Крестовник Швецова	Корни	0,339	0,347	0,018	0,025
<i>Euphorbia palustris</i> – Молочай болотный	Корни	0,23	0,311	0,019	0,105

новых антибактериальных веществ и субстанций, поскольку проведение определения МПК с использованием только диско-диффузионного метода или автоматизированного тестирования чувствительности к пограничным и близким к ним концентрациям антибактериальных препаратов делает получение истинных значений МПК затруднительным и сводит все результаты к градации «резистентный – умеренно резистентный – чувствительный». Такие категории служат дополнительным ограничением для большинства врачей-клиницистов при назначении адекватной антибиотикотерапии.

Литература

- Chandy M, Bhattacharya S. The problem of multi-drug resistant Gram-negative Infections among Cancer patients in Eastern India. Book of Abstracts the 11th Indo-Australian Biotechnology conference on innovation in the immunology of infection, cancer and autoimmune diseases and vaccines. 2015; 39.
- Martin E, Sanjay B, Bärbel C, Jürgen G, Peter GB, Philippe H, et al. Antibiotic resistance: What is so special about multidrug – resistant Gram – negative bacteria? GMS Hyg Infect Control. 2017 Apr 10;12:Doc05. DOI: 10.3205/dgkh000290
- Marin HK, Yoav G, Scott TM, Andrew FS, Marcos IR. Appraising Contemporary Strategies to Combat Multidrug Resistant Gram-Negative Bacterial Infections– Proceedings and Data From the Gram-Negative Resistance Summit. Clin Infect Dis. 2011 Sep;53 Suppl 2:S33-55; quiz S56-8. DOI: 10.1093/cid/cir475
- Drusano GL, Louie A. Optimization of aminoglycoside therapy. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55(6):2528-31.
- Kumar A, Ellis P, Arabi Y, Roberts D, Light B, Parrillo JE, et al. Cooperative Antimicrobial Therapy of Septic Shock Database Research Group. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. Chest. 2009 Nov;136(5):1237-1248. DOI: 10.1378/chest.09-0087.
- Kuti JL. Optimizing antimicrobial pharmacodynamics: a guide for your stewardship program. Revista Médica Clínica Las Condes. 2016;27(5):615-24.
- Кулеув БР, Ахметова ГР, Швец КЮ, Мулдашев АА, Мавзютов АР, Чемерис АВ. Выявление антимикробной активности у потенциальных каучуконосов флоры Южного Урала. Биомика. 2019;11(1):71-85.

- EUCAST warnings concerning antimicrobial susceptibility testing products or procedures. Available at: http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/warnings/.
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Ver. 8.0 2018. Available at: www.eucast.org/clinical_breakpoints/.
- ISO 20776-1:2006 «Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems – Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices». Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases
- Rodriguez-Tudela J., Donnelly J., Arendrup M., et al. EUCAST technical note on the method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for conidia-forming moulds. Clin Microbiol Infect. 2008 Oct;14(10):982-4. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2008.02086.x

References

- Chandy M, Bhattacharya S. The problem of multi-drug resistant Gram-negative Infections among Cancer patients in Eastern India. Book of Abstracts the 11th Indo-Australian Biotechnology conference on innovation in the immunology of infection, cancer and autoimmune diseases and vaccines. 2015; 39.
- Martin E, Sanjay B, Bärbel C, Jürgen G, Peter GB, Philippe H, et al. Antibiotic resistance: What is so special about multidrug – resistant Gram – negative bacteria? GMS Hyg Infect Control. 2017 Apr 10;12:Doc05. DOI: 10.3205/dgkh000290
- Marin HK, Yoav G, Scott TM, Andrew FS, Marcos IR. Appraising Contemporary Strategies to Combat Multidrug Resistant Gram-Negative Bacterial Infections– Proceedings and Data From the Gram-Negative Resistance Summit. Clin Infect Dis. 2011 Sep;53 Suppl 2:S33-55; quiz S56-8. DOI: 10.1093/cid/cir475
- Drusano GL, Louie A. Optimization of aminoglycoside therapy. Antimicrob Agents Chemother. 2011;55(6):2528-31.
- Kumar A, Ellis P, Arabi Y, Roberts D, Light B, Parrillo JE, et al. Cooperative Antimicrobial Therapy of Septic Shock Database Research Group. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. Chest. 2009 Nov;136(5):1237-1248. DOI: 10.1378/chest.09-0087.
- Kuti JL. Optimizing antimicrobial pharmacodynamics: a guide for your stewardship program. Revista Médica Clínica Las Condes. 2016;27(5):615-24.

7. Kuluev BR, Akhmetova GR, Shvets KYu, Muldashev AA, Mavzyutov AR, Chemeris AV. Identification of the antimicrobial activity in extracts of potential rubber-bearing plants of the flora of the Southern Urals. *Biomics*. 2019;11(1):71-85. (In Russian).
8. EUCAST warnings concerning antimicrobial susceptibility testing products or procedures. Available at: http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/warnings/.
9. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Ver. 8.0 2018. Available at: www.eucast.org/clinical_breakpoints/.
10. ISO 20776-1:2006 "Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems – Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices". Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases
11. Rodriguez-Tudela J., Donnelly J., Arendrup M., et al. EUCAST technical note on the method for the determination of broth dilution minimum inhibitory concentrations of antifungal agents for conidia-forming moulds. *Clin Microbiol Infect*. 2008 Oct;14(10):982-4. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2008.02086.x

Информация об авторах:

Швец Ксения Юрьевна, ассистент кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Адрес: 450008, Уфа, Ленина, 3
Телефон: (347) 272-4173
E-mail: kseniya.shvets@yandex.ru

Ахметова Гульнара Раилевна, старший лаборант кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Адрес: 450008, Уфа, Ленина, 3
Телефон: (347) 272-4173
E-mail: akhmetova.29@bk.ru

Баймиев Алексей Ханифович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией биоинженерии растений и микроорганизмов Института биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, профессор кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава России.
Адрес: 450008, Уфа, Ленина, 3
Телефон: (347) 272-4173
E-mail: baymiev@mail.ru

Кулуев Булат Резяпович, доктор биологических наук, заведующий лабораторией геномики растений Института биохимии и генетики Уфимского научного центра Российской академии наук, профессор кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Адрес: 450008, Уфа, Ленина, 3
Телефон: (347) 272-4173
E-mail: kuluev@bk.ru

Баймиев Андрей Ханифович, доктор биологических наук, профессор кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Адрес: 450008, Уфа, Ленина, 3
Телефон: (347) 272-4173
E-mail: andr0002@list.ru

Хабирова Анастасия Дмитриевна, ассистент кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Адрес: 450008, Уфа, Ленина, 3
Телефон: (347) 272-4173
E-mail: ndvorenkova@mail.ru

Закирова Гузель Насимовна, биолог отделения клинической лабораторной диагностики клиники ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Адрес: 450083, Уфа, ул. Шафиева, 2
Телефон: (347) 272-4173
E-mail: hasanovagf79@mail.ru

Хасанова Гузель Фаузавиевна, старший преподаватель кафедры фундаментальной и прикладной микробиологии ФГБОУ ВО «Башкирский государственный медицинский университет»
Адрес: 450008, Уфа, Ленина, 3
Телефон: (347) 272-4173
E-mail: hasanovagf79@mail.ru

Information about authors:

Ksenia Yu. Shvets, assistant of department of fundamental and applied microbiology, Bashkir State Medical University
Address: 3 Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation
Phone: (347) 272-4173
E-mail: kseniya.shvets@yandex.ru

Gulnara R. Akhmetova, senior laboratory assistant of department of fundamental and applied microbiology, Bashkir State Medical University.
Address: 3 Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation
Phone: (347) 272-4173
E-mail: akhmetova.29@bk.ru

Alexey H. Baimiev, PhD, DSc (Biology), professor, chief of laboratory of plant and microorganism bioengineering, Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Professor, department of fundamental and applied microbiology, Bashkir State Medical University
Address: 3 Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation
Phone: (347) 272-4173
E-mail: baymiev@mail.ru

Bulat R. Kuluev, PhD, DSc (Biology), head of plant genomics laboratory of Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Scientific Center, Russian Academy of Sciences, Professor, professor of department of fundamental and applied microbiology, Bashkir State Medical University.
Address: 3 Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation
Phone: (347) 272-4173
E-mail: kuluev@bk.ru

Andrey H. Baimiev, PhD, DSc (Biology), professor, chief of department fundamental and applied microbiology, Bashkir State Medical University
Address: 3 Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation
Phone: (347) 272-4173
E-mail: andr0002@list.ru

Anastasia D. Khabirova, assistant of department of fundamental and applied microbiology, Bashkir State Medical University
Address: 3 Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation
Phone: (347) 272-4173
E-mail: ndvorenkova@mail.ru

Guzel N. Zakirova, biologist of the department of clinical laboratory diagnostics of the clinic, Bashkir State Medical University
Address: 2, Shafiev str., Ufa, 450083, Russian Federation
Phone: (347) 272-4173
E-mail: hasanovagf79@mail.ru

Guzel F. Khasanova, senior lecturer of department of fundamental and applied microbiology, Bashkir State Medical University
Address: 3 Lenina str., Ufa, 450008, Russian Federation
Phone: (347) 272-4173
E-mail: hasanovagf79@mail.ru