

УДК 579.6

DOI: 10.18522/2308-9709-2025-51-5

Оценка воздействия лекарственных растений на образование бактериальных биопленок

Чукарина К.С.^{1*}, Матецкая А.Ю.¹, Ажогина Т.Н.¹, Сазыкина М.А.¹, Сазыкин И.С.¹

¹ Южный федеральный университет, Ростов-на-Дону, Россия;
chukarina@sfedu.ru

Аннотация

Формирование бактериальных биопленок является одним из факторов патогенности многих опасных для человека микроорганизмов. Антибиотики становятся все менее эффективными в борьбе с биопленкообразующими микроорганизмами, поэтому необходим поиск альтернативных решений, одним из которых может стать использование лекарственных растений в качестве потенциального источника антибиопленочных агентов. В данной работе было исследовано влияние спиртовых экстрактов 10 лекарственных растений на образование бактериальных биопленок. Исследования проводили на двух модельных штаммах микроорганизмов – *Acinetobacter calcoaceticus* ВКПМ В-10353 и *Escherichia coli* CDC F-50. Биомассу бактериальных биопленок оценивали с помощью метода окрашивания кристаллическим фиолетовым. Количество живых клеток в бактериальных биопленках исследовали при помощи окрашивания флуоресцеин диацетатом. Сильнее всего ингибировал формирование бактериальной биопленки экстракт полыни горькой (*Artemisia absinthium* L.). Максимальный стимулирующий эффект на образование биомассы бактериальных биопленок был зарегистрирован для

экстрактов душицы обыкновенной (*Origanum vulgare* L.) и пижмы обыкновенной (*Tanacetum vulgare* L.). Наибольшее подавляющее действие на количество живых клеток в бактериальных биопленках оказывал экстракт репейника аптечного (*Agrimonia eupatoria* L.), а стимулирующее – экстракт подорожника большого (*Plantago major* L.).

Однако, необходимо отметить, что экстракты растений по-разному действовали на различные штаммы бактерий и, более того, экстракт растения в различных концентрациях может оказывать на один и тот же штамм разнонаправленное действие. Таким образом, необходимы обширные скрининговые исследования для выявления перспективных для клинического использования соединений растительного происхождения.

Ключевые слова: бактериальные биопленки; экстракты лекарственных растений; *Acinetobacter calcoaceticus*; *Escherichia coli*

Evaluation of medicinal plants influence on bacterial biofilms formation

Chukarina K.S.^{1*}, Matetskaya A.Y.¹, Azhogina T.N.¹, Sazykina M.A.¹, Sazykin I.S.¹

¹*Southern Federal University, Rostov-on-Don, Russian Federation;*
chukarina@sfedu.ru

Abstract

Bacterial biofilms formation is one of pathogenic factors of many microorganisms that are dangerous to humans. Antibiotics are becoming less and less effective against biofilm-forming microorganisms, therefore it is necessary to search for alternative solutions, and the use of medicinal plants as a potential source of antibiofilm agents may be one of them. The effect of 10 medicinal plants alcohol extracts on bacterial biofilms formation was investigated in this research. The studies were performed on two model strains of microorganisms – *Acinetobacter*

calcoaceticus VKPM B-10353 and *Escherichia coli* CDC F-50. The bacterial biofilms biomass was evaluated using the crystal violet staining method. The number of living cells in bacterial biofilms was studied by fluorescein diacetate staining.

The extract of common wormwood (*Artemisia absinthium* L.) inhibited the formation of bacterial biofilm the most. The maximum stimulating effect on bacterial biofilm biomass formation was recorded for extracts of common oregano (*Origanum vulgare* L.) and common tansy (*Tanacetum vulgare* L.). The greatest inhibitory effect on the number of living cells in bacterial biofilms was demonstrated by the extract of common agrimony (*Agrimonia eupatoria* L.), while the stimulating effect was demonstrated by the extract of greater plantain (*Plantago major* L.).

However, it should be noted that plant extracts had different effects on different bacterial strains and, moreover, plant extract in different concentrations can have a multidirectional effect on the same strain. Thus, extensive screening studies are needed to identify compounds of plant origin that are promising for clinical use.

Keywords: microbial biofilms; medicinal plants extracts; biofilm formation; biofilm resistance; living cells in biofilms; *Acinetobacter calcoaceticus*; *Escherichia coli*; *quorum sense*.

ВВЕДЕНИЕ

Формирование бактериальных биопленок (ББ) является одним из факторов патогенности многих опасных для человека микроорганизмов. Согласно статистике Центров по контролю и профилактике заболеваний США, доказано, что от 60 до 80% инфекционных заболеваний сопровождается образованием биопленок, в том числе и большая часть патологий дыхательной системы (Тец, Тец, 2013). Тем не менее, по данным Соколовой (2014), среда организма – не единственное место, где могут образовываться биопленки. Микроорганизмы приспособились адгезироваться к таким необычным субстратам, как частички пыли в воздухе, латекс, силикон, поливинилхлорид,

полиуретан и др. Биопленки могут образовываться на медицинских пластиковых инструментах и медицинском оборудовании. Особенно опасно развитие ББ на катетерах, протезах, искусственных имплантах.

Антимикробная терапия становится малоэффективной в борьбе с микроорганизмами, способными к биопленкообразованию, из-за таких механизмов, как передача маркеров резистентности между клетками микроорганизмов, из-за диффузионных ограничений, обусловленных внеклеточным матриксом, наличия метаболически неактивных клеток-персистеров (Нурузова и др., 2019). Лекарственные растения представляют собой потенциальный источник соединений, с помощью которых можно подавлять образование биопленок. Создание фитопрепаратов на их основе – экономически выгодное вложение, особенно в странах с ограниченными ресурсами. Поэтому изучение влияния лекарственных растений на образование биопленок можно считать перспективным направлением исследований (Дускаев и др., 2020).

Исходя из вышеизложенного, целью данной работы являлась оценка воздействия экстрактов лекарственных растений на образование микробных биопленок.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для проведения исследования были использованы лекарственные растения, отобранные в Ботаническом саду Южного федерального университета (г. Ростов-на-Дону). Всего было использовано десять видов лекарственных растений: можжевельник казацкий (*Juniperus sabina* L.), шалфей остепненный (*Salvia tesquicola* Klokov & Pobed.), репешок аптечный (*Agrimonia eupatoria* L.), полынь горькая (*Artemisia absinthium* L.), полынь австрийская (*Artemisia austriaca* Jacq.), подорожник большой (*Plantago major* L.), пижма обыкновенная (*Tanacetum vulgare* L.), душица обыкновенная

(*Origanum vulgare* L.), донник лекарственный (*Melilotus officinalis* (L.) Lam.), тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium* L.).

Исследования проводились на двух модельных штаммах микроорганизмов: *Acinetobacter calcoaceticus* ВКПМ В-10353 и *Escherichia coli* CDC F-50. Ранее проведенные исследования показали их способность образовывать биопленки.

Приготовление спиртовых экстрактов лекарственных растений. Для приготовления экстрактов растения высушивали в ватных матрасиках до образования воздушно-сухой массы. Все части сухого растения (цветки, листья, стебель, корень) измельчали в фарфоровой ступке до порошкообразного состояния (кроме *J. sabina*, у которого была взята только хвоя). В колбу добавляли 1 г порошка и 10 мл 96 % этанола. Измельченные растения экстрагировали растворителем в течение суток на шейкере-инкубаторе Innova 40R shaker-incubator (New Brunswick, Германия) при 200 оборотах/мин при температуре 25 °С. Полученные экстракты центрифугировали при 8 тыс. оборот/мин в течение 10 минут, после чего отбирали надосадочную жидкость для дальнейших исследований. Все экстракты были использованы в разведениях 1:10, 1:100, 1:1000.

Формирование биопленок в лунках полистиролового планшета. Формирование биопленок осуществляли в 96-луночном полистироловом планшете («NUOVA АРТАСА», Италия). Суточные культуры микроорганизмов выращивали в 50 мл конических колбах в шейкере-инкубаторе Innova 40R (New Brunswick, Германия) при 200 оборотах в минуту. Суточную культуру штамма *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353 выращивали в среде LB при температуре 30 °С. Суточную культуру штамма *E. coli* CDC F-50 выращивали в среде Диановой-Ворошиловой с добавлением 2% глицерина при 37 °С. Штаммы выращивали в шейкере-инкубаторе Innova 40R при 200 оборот/мин. Суспензии суточных культур *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353 и *E. coli* CDC F-50 разводили питательной средой до мутности, соответствующей 1

единице Мак Фарланда (концентрация 3×10^8 клеток/мл). Количество клеток в суспензии измеряли при помощи денситометра DEN-1 («BioSan»). Далее культуру доводили по плотности, соответствующей 1×10^8 клеток/мл, с использованием питательной среды. В лунки планшета вносили 190 мкл суспензии и добавляли по 10 мкл растворов изучаемых веществ в исследуемых разведениях. В качестве положительного контроля вносили растворитель, в качестве отрицательного – стерильный бульон. Общий объем суспензии составлял 200 мкл.

Для окрашивания флуоресцеин диацетатом в планшете оставляли пустые лунки для дальнейшего внесения красителя и измерения «фоновое свечения». Планшеты накрывали крышкой, заворачивали пленкой Parafilm («Vemis Company», США). Планшеты инкубировали следующим образом: *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353 при 30 °С в течение 24 часов (плотность вносимой суспензии 1×10^8 клеток/мл); *E. coli* CDC F-50 при 37 °С в течение 24 часов (плотность вносимой суспензии 1×10^8 клеток/мл).

Окрашивание кристаллическим фиолетовым (CV). Для приготовления кристаллического фиолетового по Хукеру 0,5 % 8 г оксалата аммония растворяли в 800 мл дистиллированной воды, затем 5 г кристаллического фиолетового растворяли в 200 мл 96 % этанола. Далее смешивали оба раствора и отфильтровывали не ранее, чем через сутки после приготовления.

Окрашивание в планшетах проводили следующим образом. Удаляли суспензию микроорганизмов из лунок планшетов с помощью дозатора. Далее трехкратно промывали их 250 мкл физиологического раствора, фиксировали биопленку 200 мкл 96 % этанола в течение 15 минут и высушивали на воздухе. Затем биопленки в лунках окрашивали 200 мкл 0,5 % раствора CV по Хукеру в течение 10 минут, трехкратно промывали 250 мкл водопроводной воды и высушивали на воздухе. Затем экстрагировали связанный краситель 200 мкл

96 % этанола в течение 60 минут и измеряли оптическую плотность при длине волны 570 нм.

Интенсивность окрашивания содержимого лунок красителем пропорциональна биомассе образовавшейся ББ. Биомассу образовавшейся ББ (выраженную в % от положительного контроля) рассчитывали по следующей формуле: интенсивность образования биопленки (%) = $[(T-B)/(C-B)] \times 100$, где С – значение оптической плотности положительного контроля, В – значение оптической плотности отрицательного контроля, и Т – значение оптической плотности опыта (Гильдебрант и др., 2019).

Окрашивание флуоресцеин диацетатом (FDA). Для приготовления исходного раствора 10 мг/мл FDA растворяли в ацетоне. Хранили полученный раствор при -20 °С до использования. Рабочий раствор FDA готовили перед каждым экспериментом. Для этого исходный раствор разводили в 100 раз фосфатно-солевым буферным раствором.

Окрашивание проводили следующим образом. Удаляли содержимое из лунок планшетов с помощью дозатора. Далее двукратно промывали лунки 250 мкл фосфатно-солевого буферного раствора. Добавляли в каждую лунку 200 мкл рабочего раствора флуоресцеин диацетата. Параллельно добавляли краситель в ряд пустых лунок для измерения фонового свечения. Затем инкубировали планшеты в темноте при 30 °С в течение 4 часов. Далее измеряли интенсивность флуоресценции (λ_{ex} : 485±12 нм и λ_{em} : 520±10 нм). Количество живых клеток оценивали по отношению к положительному контролю, принятому за 100 % (Гильдебрант и др., 2021).

В каждом эксперименте опыт и контроль были проведены в шести технических повторностях. Каждый эксперимент был выполнен в трех независимых биологических повторностях. Значения были выражены как среднее значение ± стандартное отклонение. Статистический анализ проводили с использованием GraphPad Prism 8.0.2 DEMO (GraphPad Software,

Inc., SanDiego, США) с применением двустороннего дисперсионного анализа и определения критерия Стьюдента с 5% значимостью ($p \leq 0.05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Интенсивность образования биопленки в присутствии экстрактов исследованных растений

Биомассу бактериальных биопленок оценивали по результатам окрашивания кристаллическим фиолетовым. На рисунке 1 показано влияние экстрактов лекарственных растений на образование биопленки *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353.

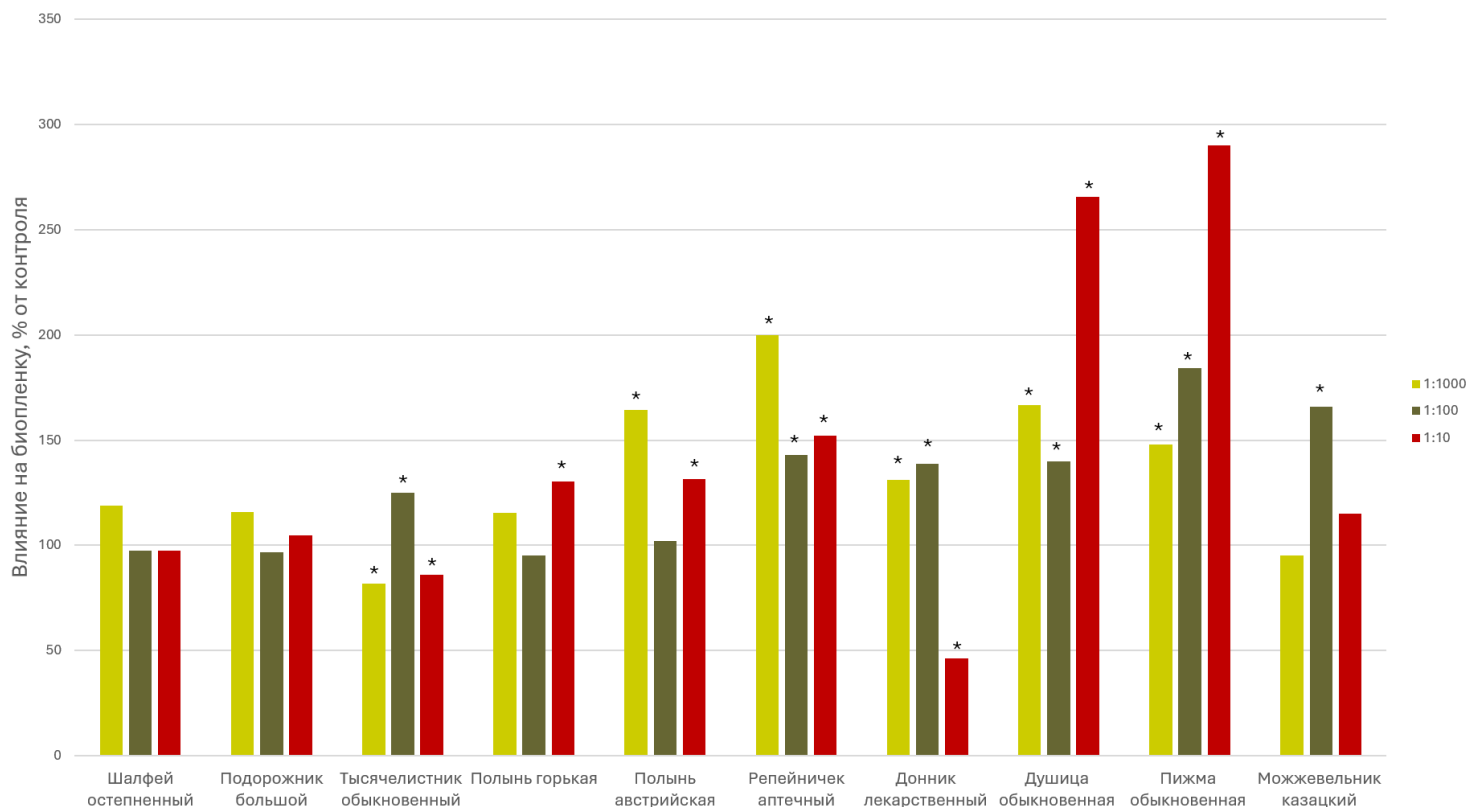


Рис. 1 – Интенсивность образования биопленки *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353, определенная окрашиванием CV в присутствии экстрактов лекарственных растений по отношению к контролю (контроль=100 %) (* – отличия от контроля статистически значимы, *t*-критерий; $p < 0.05$).

Стимулирующие образование ББ эффекты зарегистрированы для следующих экстрактов: *A. millefolium* (разведение 1:100), *A. absinthium* (разведение 1:10), *A. austriaca* (разведение 1:1000 и 1:10), *A. eupatoria* (разведение 1:1000, 1:100 и 1:10), *M. officinalis* (разведение 1:1000 и 1:100), *O. vulgare* (разведение 1:1000, 1:100 и 1:10), *T. vulgare* (разведение 1:1000, 1:100 и 1:10), *J. sabina* (разведение 1:100). При этом экстракт *T. vulgare* в разведении 1:10 проявил максимальный стимулирующий эффект на образование ББ *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353.

Ингибирующие образование ББ эффекты зарегистрированы для экстрактов *A. millefolium* (разведение 1:1000 и 1:10) и *M. officinalis* (разведение 1:10). Следует отметить, что *M. officinalis* проявил максимальный ингибирующий эффект на образование ББ *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353.

На рисунке 2 представлены данные по влиянию экстрактов лекарственных растений на биопленкообразование *E. coli* CDC F-50.

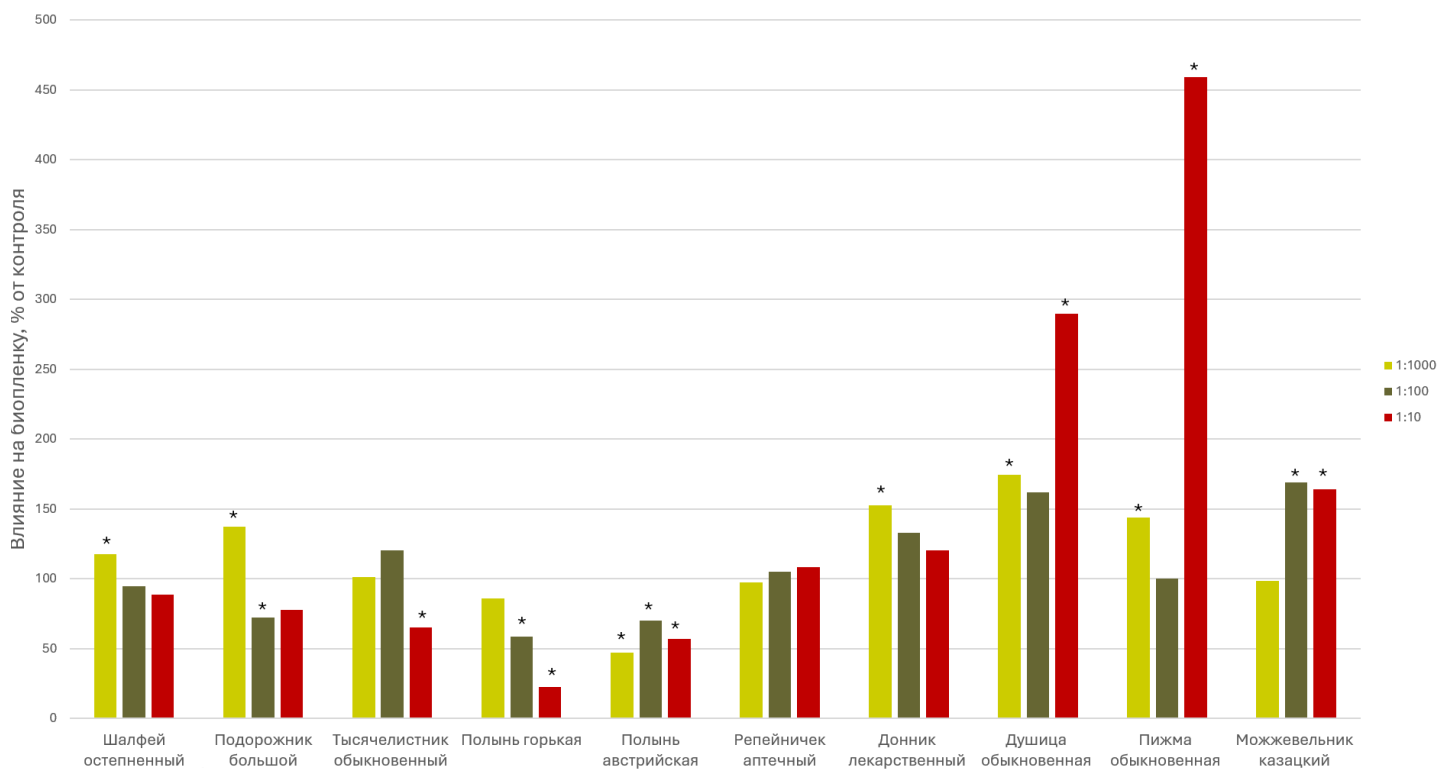


Рис. 2 – Интенсивность образования биопленки *E. coli* CDC F-50, определенная окрашиванием CV в присутствии экстрактов лекарственных растений по отношению к контролю (контроль=100 %) (* – отличия от контроля статистически значимы, *t*-критерий; $p < 0.05$).

Стимулирующие образование ББ эффекты зарегистрированы для следующих экстрактов: *S. tesquicola* (разведение 1:1000), *P. major* (разведение 1:1000), *M. officinalis* (разведение 1:1000), *O. vulgare* (разведение 1:1000 и 1:10), *T. vulgare* (разведение 1:1000 и 1:10), *J. sabina* (разведение 1:100 и 1:10).

Ингибирующие образование ББ эффекты зарегистрированы для следующих экстрактов: *P. major* (разведение 1:100), *A. millefolium* (разведение 1:10), *A. absinthium* (разведение 1:100 и 1:10), *A. austriaca* (разведение 1:1000, 1:100 и 1:10). Максимальный стимулирующий эффект на образование ББ штаммом *E. coli* CDC F-50 проявил экстракт *T. vulgare* в разведении 1:10. Максимальный ингибирующий эффект зарегистрирован для экстракта *A. absinthium* в разведении 1:10.

Количество живых клеток в бактериальных биопленках в присутствии экстрактов исследованных растений

Количество живых клеток в бактериальных биопленках оценивали по результатам окрашивания флуоресцеин диацетатом (FDA). На рисунке 3 представлены результаты влияния экстрактов лекарственных растений на количество живых клеток в биопленке *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353.

Зафиксировано увеличение количества живых клеток в ББ *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353 для экстрактов следующих растений: *P. major* (разведение 1:1000), *A. millefolium* (разведение 1:1000), *A. absinthium* (разведение 1:1000). Максимальное количество живых клеток было зарегистрировано в ББ в присутствии экстракта *P. major* (разведение 1:1000).

Снижение количества живых клеток в ББ *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353 зафиксировано для экстрактов следующих растений: *S. tesquicola* (разведение 1:100 и 1:10), *P. major* (разведение 1:100), *A. millefolium* (разведение 1:100 и 1:10), *A. absinthium* (разведение 1:100* и 1:10), *A. eupatoria* (разведение 1:100 и 1:10), *O. vulgare* (разведение 1:100), *J. sabina* (разведение 1:100). Максимальное количество живых клеток в ББ *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353 зарегистрировано для экстракта *A. absinthium* в разведении 1:100.

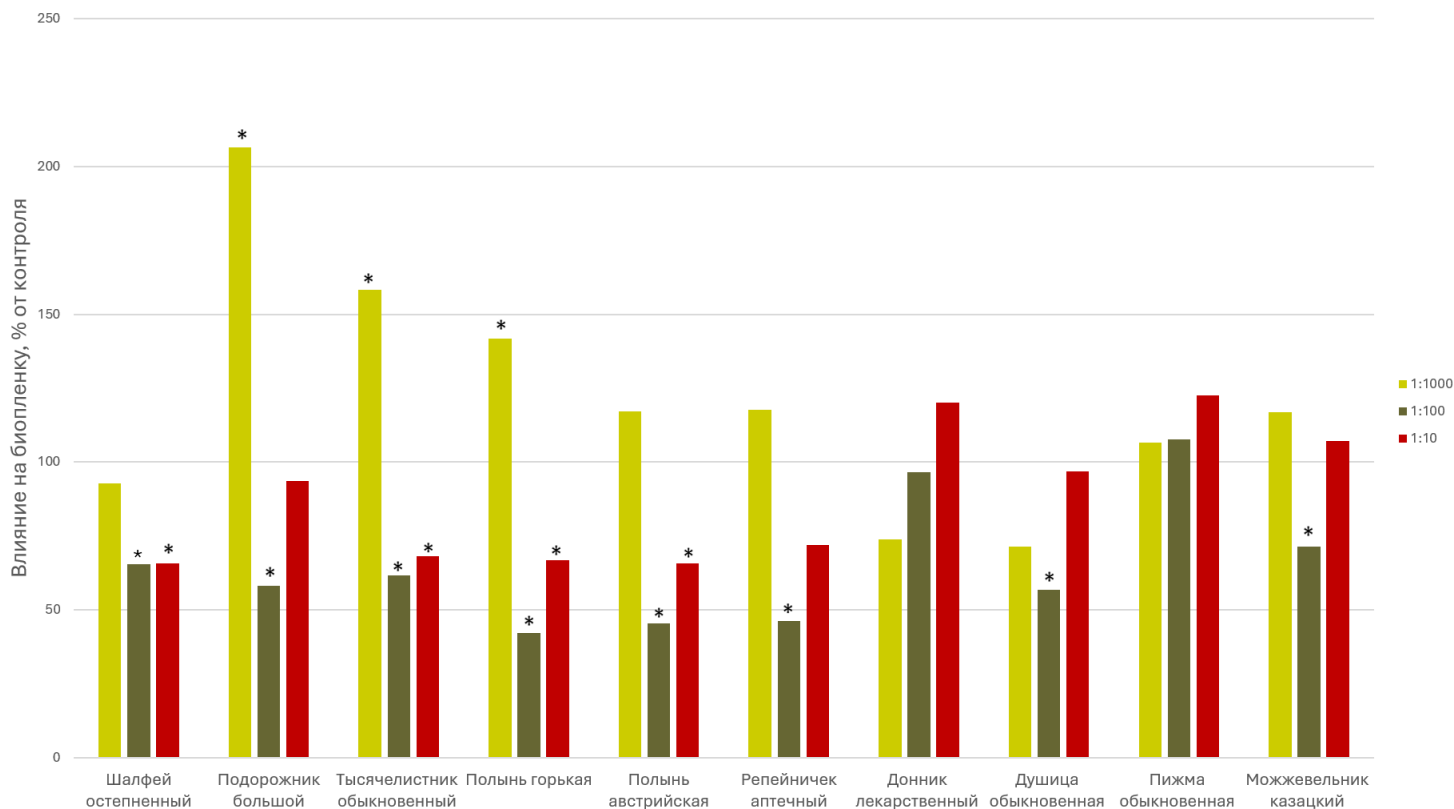


Рис. 3 – Количество живых клеток в биопленке *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353 (процент от контроля), определенное окрашиванием FDA в присутствии экстрактов лекарственных растений (* – отличия от контроля статистически значимы, *t*-критерий; $p < 0.05$).

На рисунке 4 показано влияние экстрактов лекарственных растений на количество живых клеток в биопленке *E. coli* CDC F-50. Зафиксировано увеличение количества живых клеток в ББ *E. coli* CDC F-50 для следующих экстрактов: *S. tesquicola* (разведение 1:10), *P. major* (разведение 1:1000 и 1:10), *T. vulgare* (разведение 1:10), *J. sabina* (разведение 1:10).

Зафиксировано снижение количества живых клеток в ББ *E. coli* CDC F-50 для следующих экстрактов: *S. tesquicola* (разведение 1:1000 и 1:100), *P. major* (разведение 1:100), *A. millefolium* (разведение 1:1000 и 1:100), *A. absinthium* (разведение 1:1000 и 1:100), *A. austriaca* (разведение 1:1000 и 1:100), *A. eupatoria* (разведение 1:1000, 1:100 и 1:10), *M. officinalis* (разведение

1:1000 и 1:100), *O. vulgare* (разведение 1:1000, 1:100 и 1:10), *T. vulgare* – разведение 1:1000 и 1:100; *J. sabina* – разведение 1:1000.

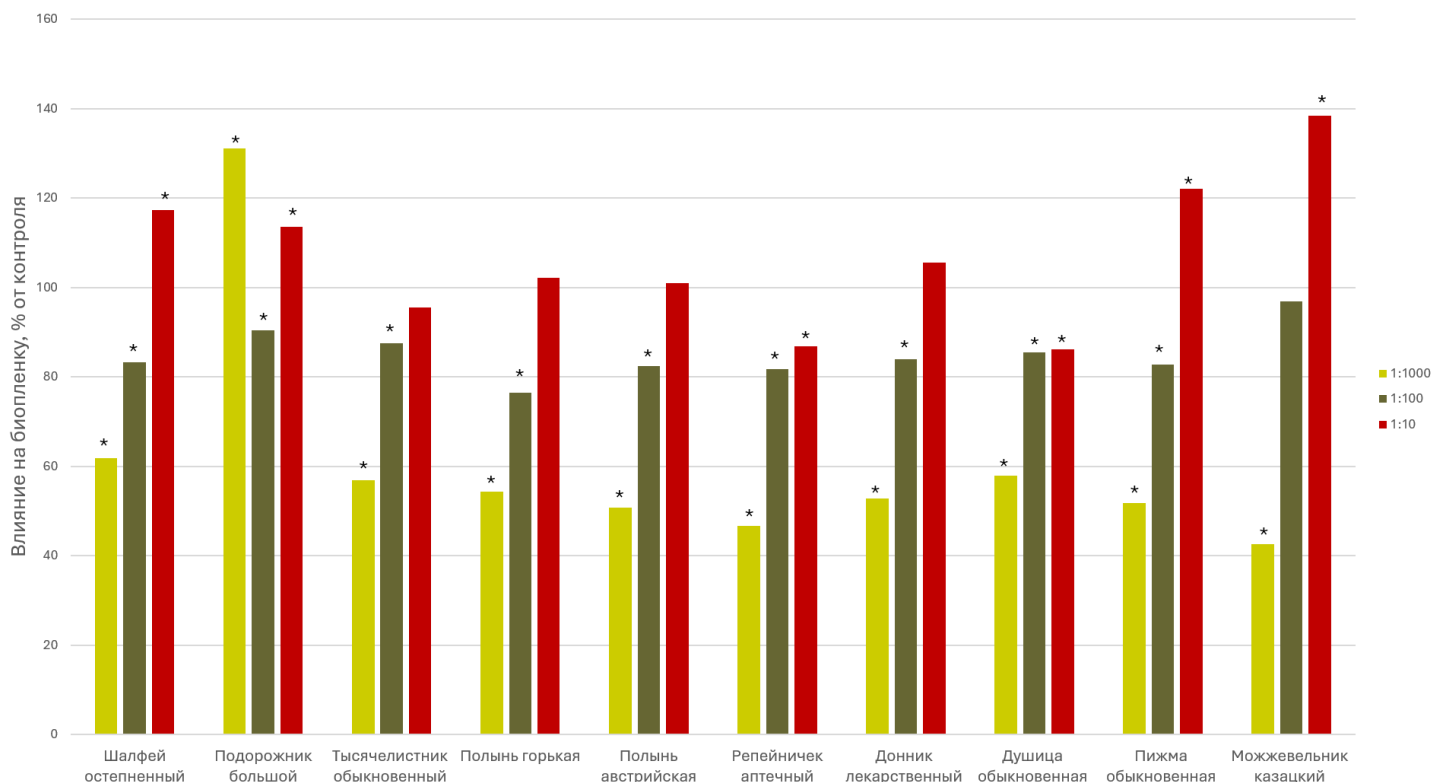


Рис. 4 – Количество живых клеток в биопленке *E. coli* CDC F-50 (процент от контроля), определенное окрашиванием FDA в присутствии экстрактов лекарственных растений (* – отличия от контроля статистически значимы, *t*-критерий; $p < 0.05$).

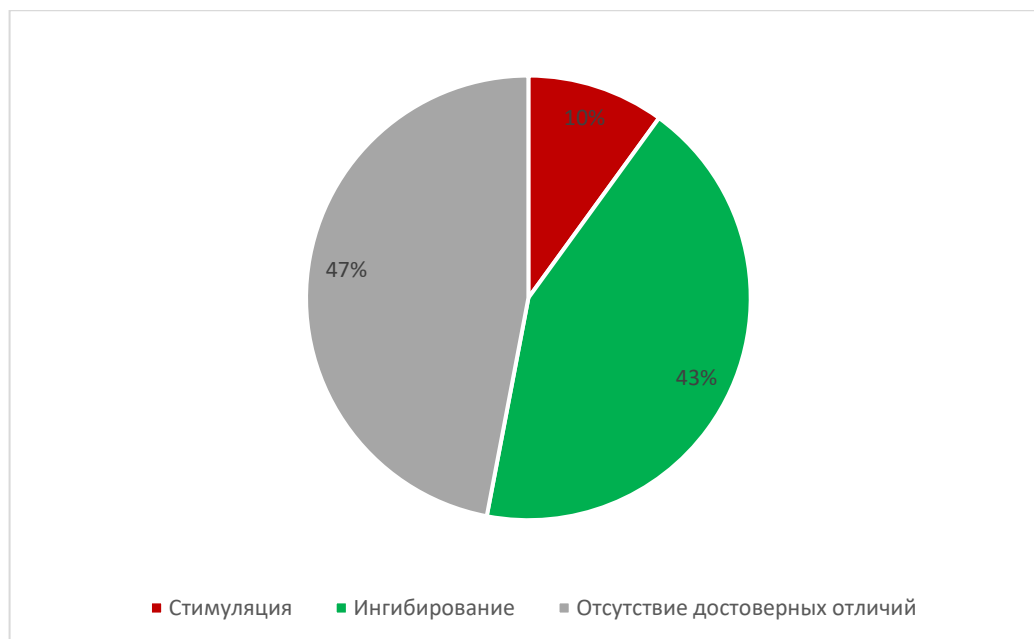
Максимальное количество живых клеток в ББ *E. coli* CDC F-50 зарегистрировано в присутствии экстракта *J. sabina* в разведении 1:10, а минимальное – под воздействием этого же экстракта в разведении 1:1000.

На рисунках 5–8 представлены диаграммы соотношения зарегистрированных эффектов лекарственных растений. Зеленый цвет сегмента обозначает ингибирующие эффекты, красный – стимулирующие.

Серым цветом на данных рисунках обозначены результаты, которые не учитывали из-за отсутствия достоверных отличий.



Рисунок 5 – Соотношение различных эффектов влияния экстрактов исследованных лекарственных растений на интенсивность образования биомассы ББ штаммом *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353.



*Рисунок 6 – Соотношение различных эффектов влияния экстрактов исследованных лекарственных растений на количество живых клеток в биопленке *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353.*



*Рисунок 7 – Соотношение различных эффектов влияния экстрактов исследованных лекарственных растений на интенсивность образования биомассы ББ штаммом *E. coli* CDC F-50.*



Рисунок 8 – Соотношение различных эффектов влияния экстрактов исследованных лекарственных растений на количество живых клеток в биопленке *E. coli* CDC F-50.

Как видно из данных, представленных на рисунках 5 и 7, экстракты лекарственных растений по-разному влияют на процесс образования ББ. Максимальный процент всех зарегистрированных эффектов влияния исследованных экстрактов лекарственных растений приходится на процесс стимулирования роста биомассы ББ у штаммов *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353 и *E. coli* CDC F-50. При этом прямую зависимость усиления образования биомассы ББ от степени разведения экстракта лекарственного растения не наблюдали. Экстракты *T. vulgare*, оказавшие сильнейшие эффекты на процесс стимуляции биомассы ББ, содержат в себе туйон – вещество, из-за которого растение считается токсичным (Орлин, 2005). В составе экстрактов других лекарственных растений, повлиявших на усиление наращивания биомассы ББ, входят флавоноиды и алкалоиды – вещества, имеющие доказанный эффект на образование ББ разными штаммами микроорганизмов (Солёнова, Павлова, 2020); (Максимова и др., 2022).

Таким образом, можно предположить, что усиление процесса увеличения биомассы ББ у изучаемых штаммов является ответом микроорганизмов в составе биопленки на наличие этих веществ во внешней среде. На рисунках 5 и 7 также видно, что на долю зарегистрированных эффектов стимуляции роста биомассы в ББ штамма *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353 пришлось больше случаев, чем в случае *E. coli* CDC F-50. Это может быть связано с тем, что *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353 является штаммом, выделенным из почвы (Juni, 1978), а значит, более приспособленным к возможным влияниям веществ, содержащихся в растениях.

На рисунках 6 и 8 можно увидеть противоположную ситуацию с влиянием экстрактов лекарственных растений на количество живых клеток в образовавшихся биопленках. Большая часть экстрактов снижала количество живых клеток в ББ. Экстракты лекарственных растений сильнее повлияли на живые клетки в биопленке *E. coli* CDC F-50, а живые клетки в биопленке *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353 оказались более защищенными. Такое соотношение сработавших эффектов экстрактов растений (сочетание «увеличение биомассы – снижение числа живых клеток») подтверждает предположение о том, что наращивание биомассы ББ является стратегией борьбы с неблагоприятными условиями, вызванными влиянием соединений, содержащихся в изучаемых лекарственных растениях. Для борьбы с ББ можно использовать разные способы: воздействовать на механизмы первоначальной адгезии бактерий к поверхности, блокировать синтез или разрушать полимерный матрикс, нарушать межклеточный обмен информацией.

Несмотря на то, что целью данной работы был не поиск подобных механизмов, а лишь определение потенциальных экстрактов лекарственных растений для дальнейшего изучения их влияния на процесс образования ББ, можно обратиться к исследованиям химических веществ в составе растений другими авторами. Так, Chakraborty с исследовательской группой (2020) в своей работе связали влияние алкалоидов на ингибирование процессов

образование ББ с их способностью препятствовать восприятию *quorum sensing* микроорганизмами. Другое исследование связано с обнаруженным в химическом составе *O. vulgare* веществом с высокой антимикробной и антибиопленочной активностью. Влияние этого вещества – карвакрола на процесс образования ББ в результате исследования Asadi с соавторами было объяснено его способностью влиять на первичную адгезию микроорганизмов к поверхности (Asadi et al., 2023). В нашей работе наблюдали снижение количества живых клеток в ББ штаммов *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353 и *E. coli* CDC F-50 под воздействием экстракта *O. vulgare* во всех трех разведениях, хотя ни один из них не дал сильнейшего эффекта ингибирования.

Несмотря на то, что не все изученные виды лекарственных растений оказали ожидаемое ингибирующее влияние на биопленкообразование *A. calcoaceticus* ВКПМ В-10353 и *E. coli* CDC F-50, в целом эта работа показывает необходимость дальнейшего поиска и изучения растений, обладающих потенциальными способностями борьбы с биопленками микроорганизмов, а также необходимость исследования механизма их воздействия. Это подтверждается интересом к данной области многих ученых-микробиологов в течение последних лет.

Самойлова с соавторами (Самойлова и др., 2013) исследовали влияние экстрактов растений, широко используемых в народной и официальной медицине, на образование биопленок бактериями *E. coli*. Среди них были экстракты брусники, липы, толокнянки, черного и зеленого чая, экстракты из клеток березы, чаги и пустырника, крапивы, ламинарии, череды, подорожника, эхинацеи, ноготков. Использование водных экстрактов этих растений привело к обнаружению модулирующего влияния на биопленкообразующую способность *E. coli*.

Уткина с соавторами (Уткина и др., 2013) изучали регуляцию персистентных свойств микроорганизмов растительными экстрактами хвойных растений, среди которых был и исследуемый в данной работе *J.*

sabina. Помимо эффективной антимикробной активности экстракта *J. sabina*, исследователи обнаружили и его высокую антилизоцимную активность. Бухарин с соавторами (1984) в своей статье предположили, что объективным маркером персистенции многих бактерий может являться активность деградации лизоцима. Соответственно, снижение антилизоцимной активности клеток микроорганизмов может напрямую повлиять на их способность к образованию ББ. В нашей работе мы наблюдали сильнейший эффект снижения количества живых клеток в ББ у экстракта *J. sabina*.

Обзорная статья Рамазановой и др. (2015) была посвящена исследованию влияния на образование биопленок эфирных масел разных видов полыни. И хотя среди них не было видов полыни, изучаемых в нашей работе (*A. absinthium* и *A. austriaca*), авторы описали влияние 14 других видов полыни, экстракты каждой из которых проявляли бактерицидную и бактериостатическую активность. Наблюдался как стимулирующий эффект экстрактов полыни на образование ББ (по отношению к *Staphylococcus aureus*), так и ингибирующий (по отношению к *Staphylococcus epidermidis*, *E. coli*, *Candida albicans*). Наша работа частично подтверждает эти результаты, так как экстракты обоих видов полыней не только снижали количество живых клеток в ББ *E. coli*, но также и ингибировали рост биомассы ББ этого штамма.

Живетьев с соавт. (2017) в своей обзорной статье уделили внимание как экстрактам, так и эфирным маслам, а также фенольным соединениям лекарственных растений. Авторы отметили, что суммарные экстракты лекарственных растений и отдельные соединения растительного происхождения могут по-разному влиять на биопленкообразующие способности одного и того же микроорганизма. Было показано, что среди эфирных масел – коричный альдегид из масла корицы, линалоол (масло лаванды) в малых концентрациях оказывают бактериостатическое действие на *S. aureus*, а повышение концентрации этих масел может привести и к гибели микроорганизма за счет ингибирования транскрипции FTsZ-белка (Герман и

др., 2013). Авторы также представили в обзорной статье работы по исследованию блокирования чувства кворума бактерий. Этот эффект был зарегистрирован у экстрактов *Vanilla planifolia* Jacks. ex Andrews (Choo et al., 2006), *Laurus nobilis* L., *Sonchus oleraceus* L., *Rosmarinus officinalis* L., *Jasminum sambac* (L.) Aiton (Brackman et al., 2009), *Allium sativum* L., *Ananas comosus* (L.) Merr., *Musa × paradisiaca* L., *Manilkara zapota* (L.) P. Royen (Nazzaro et al., 2013).

Особый интерес представляют и свойства фенольных соединений растений – *R. officinalis*, *Nymphaea tetragona* Georgi. Розмариновая кислота может влиять на процесс биопленкообразования, поскольку обладает свойствами, схожими с гомосеринлактоном в качестве аутоиндуктора – сигнальной молекулы в системе QS (Corral-Lugo et al., 2016). Фенолы, присутствующие в спиртовом экстракте *N. tetragona*, ингибировали QS-контролируемые факторы вирулентности бактерий, при этом оставаясь безопасными для животных клеток (Hossain et al., 2015).

Рядом исследователей обнаружено влияние продуктов метаболизма растений на терапевтическую эффективность антибиотиков. Так, водный экстракт *Catha edulis* Forssk. усиливает действие тетрациклина на *Streptococcus sanguis* TH-13 и *Streptococcus oralis* SH-2, а также пенициллина G на *Fusobacterium nucleatum* (Al-hebshi et al., 2006). А этанольные экстракты *Isatis tinctoria* L., *Scutellaria baicalensis* Georgi и *Rheum palmatum* L. увеличивают ингибирующую активность ципрофлоксацина, пенициллина, гентамицина и цефтриаксона по отношению к антибиотикорезистентным штаммам *S. aureus* (Yang et al., 2005).

Иностранные исследователи также исследуют потенциал лекарственных растений для борьбы с микробными биопленками. Так, El-Tarabily et al. (2021) показано, что эфирные масла многих растений обладают выраженным действием против плазмодиев, грибов и бактерий. Из них особенно были отмечены масла *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L.M. Perry, *Thymus vulgaris*

L., *Melaleuca alternifolia* (Maiden & Betche) Cheel, *O. vulgare* и *Feroniella lucida* (Scheff.) Swingle. Помимо противогрибкового и противовирусного действия, эфирные масла обладают выраженным эффектом против бактерий, находящихся как в планктонной форме, так и в форме ББ. Среди этих растений есть и изучаемая в нашей работе *O. vulgare*, а также близкий к ней *T. vulgaris*. Экстракт *O. vulgare* очень сильно стимулировал рост биомассы ББ (вероятно, из-за наличия токсичного туйона), но эффективно снижал количество живых клеток в ББ. Еще одно исследование показало эффективность эфирных масел *Ribes nigrum* L., *Cinnamomum verum* J. Presl, *O. vulgare* и *T. vulgaris* в ингибировании широкого спектра бактерий.

Другая группа иностранных исследователей (Szabo et al., 2010) установила мощное ингибирующее воздействие на чувство кворума *Chromobacterium violaceum* и *E. coli* эфирными маслами декоративных домашних растений, таких как *Rosa damascena* Mill., *Geranium robertianum* L., *Lavandula angustifolia* Mill. и *R. officinalis*. Также умеренный эффект был обнаружен у масел *Eucalyptus globulus* Labill. и *Citrus sinensis* (L.) Pers., и совсем неэффективны оказались масла *Matricaria recutita* L., *Citrus × sinensis* (L.) Osbeck и *Juniperus communis* L.

Группа исследователей во главе с Chorianoopoulos (2008) изучала воздействие разных фракций растения *Satureja thymbra* L. (эфирное масло, экстракт и гидролат) на биопленкообразование *Staphylococcus simulans*, *Lactobacillus fermentum*, *Pseudomonas putida*, *Salmonella enterica* и *Listeria monocytogenes*. Результаты исследования показали, что эфирное масло и гидролат этого растения оказывают достаточно сильное бактерицидное действие на микробные биопленки как моновидовых, так и смешанных культур всех пяти штаммов, образующихся на нержавеющей стали.

Еще одно недавнее исследование Aleksic et al. (2022) было сосредоточено на поиске антибиопленочных агентов среди эфирных масел пряных трав для борьбы с гипервирулентными штаммами *Clostridioides*

difficile, поражающими госпитализированных пациентов. Авторы показали целесообразность применения эфирных масел дикорастущего *O. vulgare*, *Piper nigrum* L. и *A. sativum* в качестве дополнительных терапевтических средств для лечения пациентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования были обнаружены различные эффекты влияния экстрактов лекарственных растений на процесс образования ББ. Показано, что экстракт одного лекарственного растения, в зависимости от концентрации, может оказывать как стимулирующее, так и подавляющее влияние на образование биомассы исследованных бактериальных штаммов.

Аналогичный эффект наблюдается и в случае влияния экстрактов растений на количество живых клеток в ББ. Но в этом случае регистрируется значительно больше ингибирующих эффектов. Возможно, это происходит ввиду того, что в результате влияния действующих веществ лекарственных растений параллельно идут два процесса – сокращение количества живых клеток и увеличение биомассы для обеспечения их сохранности. Кроме того, оба исследованных штамма реагировали по-разному на воздействие экстрактов различных растений.

Максимальный ингибирующий эффект на формирование ББ был выявлен при воздействии экстракта *A. absinthium*. Наибольшее стимулирующее действие на увеличение биомассы ББ было установлено для экстрактов *O. vulgare* и *T. vulgare*. Сильнее всего подавлял количество живых клеток в бактериальных биопленках экстракт *A. eupatoria*, а стимулировал – экстракт *P. major*.

Таким образом, необходимо проведение дальнейших исследований, которые позволят отобрать наиболее перспективные растения, подавляющие развитие ББ, и создание на их основе баз данных.

Первичная оценка воздействия экстрактов лекарственных растений на образование микробных биопленок выявила виды растений, представляющих интерес для более глубокого изучения механизма их влияния на биопленкообразование, что можно потенциально использовать в дополнение или в качестве альтернативы антибиотикотерапии.

СПРАВОЧНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Финансирование работы – работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания в сфере научной деятельности № FENW-2024-0026.

Соблюдение этических стандартов – настоящая статья не содержит каких-либо исследований с использованием животных в качестве объектов.

Конфликт интересов – авторы отрицают наличие конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Бухарин О. В., Усвяцов, Б. Я., Малышкин, А. П., Немцева, Н. В. Метод определения антилизоцимной активности микроорганизмов // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 1984. Т. 61. №. 2. С. 27–28.
2. Герман А., Боченек Ж., Герман А. П. Действие масел корицы и лаванды на экспрессию гена *FtsZ Staphylococcus aureus* ATTC 29213 // Прикладная биохимия и микробиология. 2013. Т. 49. № 5. С. 476–480.
3. Гильдебрант А. В., Кушнарева Д. Н., Каплина А. В., Мозговая А. И., Сазыкин И. С., Сазыкина М. А. Влияние загрязняющих веществ на интенсивность образования биопленки штаммом *Vibrio aquamarinus* ВКПМ В-11245 // Изв. Саратов. Ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2019. Т. 19. вып. 1. С. 103–111.

4. Гильдебрант А. В., Сазыкин И. С., Сазыкина М. А. Формирование биопленок природными штаммами микроорганизмов в присутствии нафталина и антрацена // Биотехнология. 2021. Т. 37. №. 6. С. 101–110.
5. Дускаев Г. К., Левахин Г. И., Докина Н. Н. Лекарственные растения и их применение в животноводстве // Животноводство и кормопроизводство. – 2020. Т. 103. №. 3. С. 204–214.
6. Живетьев М. А., Маркова Ю. А., Граскова И. А. Влияние экстрактов растений и отдельных метаболитов на образование биопленок (обзор) // Химия растительного сырья. 2017. №. 2. С. 5–18.
7. Максимова Л. А., Маркова, Ю. А., Турская, А. Л., Быбин, В. А. Влияние низких концентраций кофеина и колхицина на рост и биопленкообразование микроорганизмов // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. №. 2 (41). С. 299–309.
8. Нурузова З. А., Байматов Р. А., Жумамуродов С. Т. Воздействие различных факторов на биопленку микроорганизмов // Innova. 2019. №. 2 (15). С. 24–30.
9. Орлин Н. А. Извлечение флавоноидов из пижмы обыкновенной // Успехи современного естествознания. 2005. №. 8. С. 47–47.
10. Рамазанова Б. А., Акышбаева К. С., Маматова А. С. Влияние эфирных масел полыни на формирование биопленок микроорганизмов // Вестник Казахского Национального медицинского университета. 2015. №. 1. С. 364–367.
11. Самойлова З. Ю., Музыка Н. Г., Смирнова Г. В., Октябрьский О. Н. Образование биопленок кишечными бактериями под действием экстрактов лекарственных растений // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. 2013. Т. 15. №. 3–4. С. 1424–1425.
12. Соколова Т. Н. Микробные биопленки и способы их обнаружения // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2014. №. 4 (48). С. 12–15.

13. Солёнова Е. А., Павлова С. И. Антибактериальные и иммуномодулирующие эффекты флавоноидов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2020. Т. 83. №. 10. С. 33–39.
14. Тец В. В., Тец Г. В. Микробные биопленки и проблемы антибиотикотерапии // Практическая пульмонология. 2013. №. 4. С. 60–64.
15. Уткина Т. М., Потехина, Л. П., Карташова, О. Л., Ткачев, А. В. Регуляция персистентных свойств микроорганизмов растительными экстрактами хвойных растений // Бюллетень Оренбургского научного центра УРО РАН. 2013. №. 3. С. 13.
16. Aleksić A, Stojanović-Radić Z, Harmanus C, Kuijper EJ, Stojanović P. In vitro anti-clostridial action and potential of the spice herbs essential oils to prevent biofilm formation of hypervirulent *Clostridioides difficile* strains isolated from hospitalized patients with CDI. // Anaerobe. 2022. V. 76. P. 102604.
17. Al-hebshi N., Al-haroni M., Skaug N. In vitro antimicrobial and resistance-modifying activities of aqueous crude khat extracts against oral microorganisms // Archives of oral biology. 2006. V. 51. N3. P. 183–188.
18. Asadi S., Nayeri-Fasaei, B., Zahraei-Salehi, T., Yahya-Rayat, R., Shams, N., Sharifi, A. Antibacterial and anti-biofilm properties of carvacrol alone and in combination with cefixime against *Escherichia coli* // BMC microbiology. 2023. V. 23. №. 1. P. 55.
19. Brackman G., Hillaert U., van Calenbergh S. Use of quorum sensing inhibitors to interfere with biofilm formation and development in *Burkholderia multivorans* and *Burkholderia cenocepacia* // Res. Microbiol. 2009. V. 160. P. 144–151.
20. Chakraborty P., Dastidar, D. G., Paul, P., Dutta, S., Basu, D., Sharma, S. R., Basu S., Sarker R. K., Sen A., Sarkar A., Tribedi, P. Inhibition of biofilm formation of *Pseudomonas aeruginosa* by caffeine: a potential approach for

- sustainable management of biofilm // Archives of microbiology. 2020. V. 202. P. 623–635.
21. Choo J.H., Rukayadi Y., Hwang J.K. Inhibition of bacterial quorum sensing by vanilla extract // Lett. Appl. Microbiol. 2006. V. 42. P. 637–641.
22. Chorianopoulos, N. G., Giaouris, F. D., Skendamis, P. N., Haroutounian, S. A., Nychas, G. J. Disinfectant test against monoculture and mixed-culture biofilms composed of technological, spoilage and pathogenic bacteria: bactericidal effect of essential oil and hydrosol of *Satureja thymbra* and comparison with standard acid–base sanitizers // Journal of applied microbiology. 2008. V. 104. №. 6. P. 1586–1596.
23. Corral-Lugo A., Daddaoua A., Ortega A., Espinosa-Urgel M., Krell T. Rosmarinic acid is a homoserine lactone mimic produced by plants that activates a bacterial quorum-sensing regulator // Sci. Signal. 2016. V. 9. N409. P. 1.
24. El-Tarabily KA, El-Saadony MT, Alagawany M, Arif M, Batiha GE, Khafaga AF, Elwan HAM, Elnesr SS, E Abd El-Hack M. Using essential oils to overcome bacterial biofilm formation and their antimicrobial resistance. // Saudi J Biol Sci. 2021. V. 28. №. 9. P. 5145–5156.
25. Hossain M.A., Lee S.J., Park J.Y., Reza M.A., Kim T.H., Lee K.J., Suh J.W., Park S.C. Modulation of quorum sensing-controlled virulence factors by *Nymphaea tetragona* (water lily) extract // J. Ethnopharmacol. 2015. V. 174. P. 482–491.
26. Juni E. Genetics and physiology of *Acinetobacter* // Annual Reviews in Microbiology. 1978. V. 32. №. 1. P. 349–371.
27. Nazzaro F., Fratianni F., Coppola R. Quorum sensing and phytochemicals // International journal of molecular sciences. 2013. V. 14(6). P. 12607–12619.
28. Szabó M. Á., Varga G. Z., Hohmann J., Schelz Z., Szegedi E., Amaral L., Molnár J. Inhibition of quorum-sensing signals by essential oils // Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological

and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives. 2010. V. 24. №. 5. P. 782–786.

29. Yang Z.C., Wang B.C., Yang X.S. The synergistic activity of antibiotics combined with eight traditional Chinese medicines against two different strains of *Staphylococcus aureus* // Colloids and surfaces B: Biointerfaces. 2005. V. 41. №. 2. P. 79–81.

Статья поступила в редакцию 3 марта 2025 г.

Поступила после доработки 10 марта 2025 г.

Принята к печати 21 марта 2025 г.

Received 3, March, 2025

Revised 10, March, 2025

Accepted 21, March, 2025