

зоподобных протеаз; 4) у растений, лишенных K^+ -канала GORK, симптомы ЗКГ менее выражены, что свидетельствует о вовлечении данных каналов в стресс-ответ.

Литература

1. Gadjev I. [et al.] Programmed cell death in plants: new insights into redox regulation and the role of hydrogen peroxide // International Review of Cell and Molecular Biology. 2008. Vol. 270. P. 87–144.
2. Kuriyama H., Fukuda H. Developmental programmed cell death in plants // Current Opinion in Plant Biology. 2002. Vol.5. P.568–573.
3. Jones A. M. Programmed cell death in development and defense // Plant Physiology. 2001. Vol. 125. P. 94–97.

ИЗУЧЕНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ БАКТЕРИЙ *PSEUDOMONAS CHLORORAPHIS* SBSP AURANTIACA В ОТНОШЕНИИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ ДЛЯ ЧЕЛОВЕКА И ЖИВОТНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Е. В. Леончик, Е. Г. Веремеенко

Ввиду бесконтрольного использования антибиотических препаратов в медицине и сельском хозяйстве в последнее десятилетие стала актуальна проблема возникновения патогенных форм микроорганизмов, устойчивых к традиционным классам антибиотиков [1]. Особую опасность в этом отношении представляет значительный рост заболеваемости микозами, причем в зоне риска находятся уже не только развивающиеся страны с теплым и влажным климатом, но относительно благополучные ранее в этом отношении страны западной Европы и Америки. Кроме того, сапрофитная грибковая флора (особенно дрожжевые грибы) при снижении сопротивляемости организма, при иммунодефиците может превращаться в патогенную и тоже вызывать микозы [3]. В настоящее время описан ряд бактериальных штаммов, а также некоторые грибные патогены, к примеру, *Candida auris* [2], обладающих множественной антибиотикорезистентностью. Наибольшую опасность такие микроорганизмы представляют для людей с ослабленным иммунитетом, пациентов, проходящих курс реабилитации после химиотерапии онкогематологических заболеваний, а также для лиц, которым была осуществлена трансплантация органов или тканей.

Основой противомикробной терапии в таких случаях служат достаточно токсичные препараты, интенсивное применение которых приводит к побочным эффектам, наиболее опасными из которых являются токсический эпидермальный некролиз, анафилактоидные реакции, на-

рушения функции почек и печени, рвота, гипертермия и т.д. [4]. Все это делает по-прежнему актуальным поиск и разработку новых антибиотических препаратов. Основной задачей таких исследований на сегодняшний день является поиск соединений, обладающих иными механизмами действия по сравнению с уже применяемыми антибиотиками, что позволит обеспечить их относительно высокую эффективность, по крайней мере, в течение некоторого времени. Перспективными в этом отношении могут являться феназиновые антибиотики, продуцируемые бактериями родов *Streptomyces*, *Pseudomonas*, *Brevibacterium*, *Bacillus* и некоторыми глубоководными морским микроорганизмами. Характерной особенностью данных химических соединений является наличие в структуре трехчленного гетероциклического ароматического ядра, с которым могут быть ассоциированы разнообразные заместители. Последние, в свою очередь, и определяют биологические свойства каждого конкретного феназинового производного. Наиболее интересным свойством феназинов является их способность генерировать образование активных форм кислорода и перекисей, устойчивость к которым требует возникновения масштабных изменений в целом ряде генов, кодирующих элементы антиоксидантных систем клетки. В связи с этим, возникновение устойчивых форм микроорганизмов потребует достаточно длительного времени [5].

В связи с этим целью работы является анализ антагонистической активности бактерий *Pseudomonas chlororaphis* sbsp. *aurantiaca* B-162 и полученных на их основе мутантных штаммов в отношении условно-патогенных для человека и животных микроорганизмов.

В работе были использованы следующие штаммы: феназин-продуцирующие бактерии *P. chlororaphis* sbsp *aurantiaca* B-162, *P. chlororaphis* sbsp *aurantiaca* B-162/2, *P. chlororaphis* sbsp *aurantiaca* B-162/255, *P. chlororaphis* sbsp *aurantiaca* B-162/255/15; условно-патогенные грибы *Aspergillus niger* ATCC 16404, *Candida albicans* ATCC 19231, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton rubrum*, *Acremonium roseum* УБ-Г-53, *Acremonium charticola* ИБ-Г-68, *Candida dubliniensis* ATCC 50-1; условно-патогенные бактерии *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 21389, *Klebsiella oxytoca* ATCC 23791, *Klebsiella ozaenae* ATCC 46371, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Enterobacter aerogenes* ATCC 17564, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium* sp, *S. typhimurium* TA92, *S. typhimurium* TA100.

На первом этапе работы была проверена способность штаммов *P. chlororaphis* sbsp. *aurantiaca* B-162 и полученных на их основе мутантных штаммов подавлять развитие условно-патогенных штаммов грибов.

В работе были использованы непатогенные штаммы тех видов грибов, среди представителей которых встречаются кератолитические (род *Trichophyton*) и кератофильные (род *Acremonium*) штаммы и патовары, а также вызывающие развитие системных микозов (род *Aspergillus*) у лиц, страдающих патологическим снижением иммунитета. Анализ антимикозной активности проводился согласно методике описанной в работе Е. Г. Веремеенко [5].

Полученные результаты представлены в таблице 1.

Табл. 1.

Противомикозная активность бактерий *P.chlororaphis* sbsp. *aurantiaca* B-162 и полученных на их основе мутантных штаммов

Патоген	Диаметр мицелия гриба, см				
	Контроль(без бактерий)	B-162	B-162/255	B-162/2	B-162/255/15
<i>C. albicans</i>	1,33±0,236	нет роста	нет роста	нет роста	нет роста
<i>A. niger</i>	6,43±0,429	нет роста	нет роста	2,13±0,807	нет роста
<i>T.rubrum</i>	3,49±0,251	нет роста	нет роста	1,21±0,403	нет роста
<i>T. mehtagro-phytes</i>	2,26±0,267	нет роста	нет роста	1,09±0,272	нет роста
<i>A. roseum</i> УБ-Г-53	2,27±0,351	нет роста	нет роста	1,43±0,246	нет роста
<i>A. charticola</i> УБ-Г-53	2,176±0,274	нет роста	нет роста	нет роста	нет роста
<i>C. dubliniensis</i>	1,47±0,243	0,82±0,153	1,23±0,169	1,12±0,148	1,03±0,175

Из представленных данных видно, что штаммы *P. chlororaphis* sbsp *aurantiaca* B-162, *P. chlororaphis* sbsp *aurantiaca* B-162/255, *P. chlororaphis* sbsp *aurantiaca* B-162/255/15 – обладают фунгицидной активностью, так как полностью подавляют рост большинства изученных условно-патогенных грибов, а штамм *P. chlororaphis* sbsp *aurantiaca* B-162/2 вызывает задержку их роста, обладая, в большинстве случаев, фунгистатической активностью. Наибольшую устойчивость проявил штамм *C. dubliniensis*. В отношении его была продемонстрирована фунгистатическая активность у всех изученных продуцентов фенициновых антибиотиков. Полученные результаты дополнительно проиллюстрированы на рисунке 1.

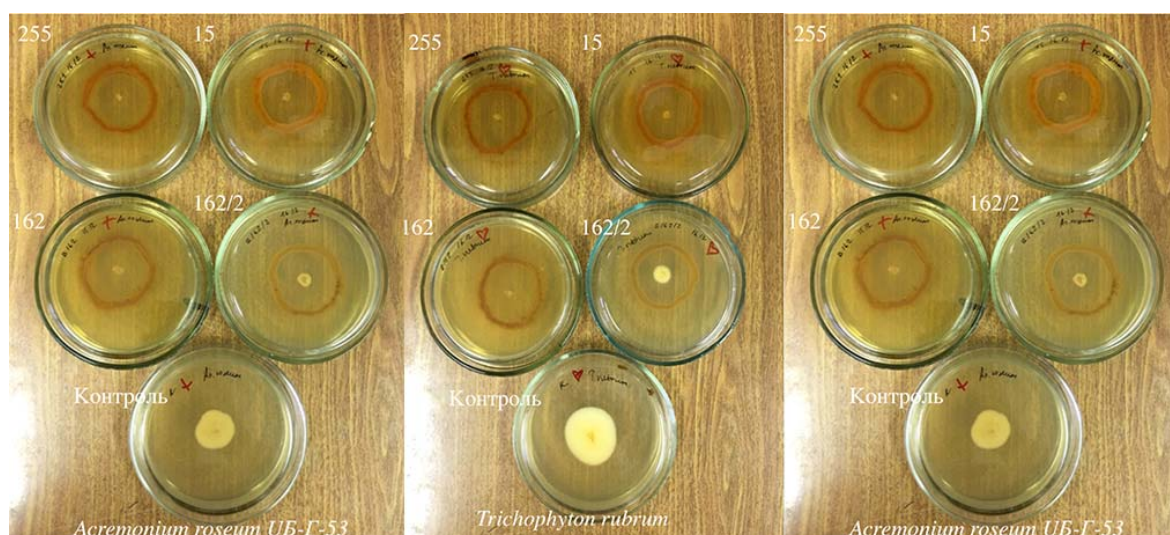


Рис. 1. Подавление роста культур *A. roseum* UB-Г-53, *T. rubrum*, *A. charticola* UB-Г-53 штаммами *P. chlororaphis sbsp. aurantiaca*

На следующем этапе работы было проведено исследование антибактериальной активности штаммов *P. chlororaphis sbsp. aurantiaca* B-162 и полученных на их основе мутантных штаммов. Анализ антибактериальной активности проводился согласно методике описанной в работе Е. Г. Веремеенко [5]. Полученные результаты представлены в таблице 2 и на рисунке 2.

Табл. 2.

Антибактериальная активность бактерий *Pseudomonas chlororaphis sbsp. aurantiaca* B-162 и полученных на их основе мутантных штаммов

Патоген	Диаметр зоны задержки роста, см			
	B-162	B-162/2	B-162/255	B-162/255/15
<i>Pr. mirabilis</i>	-	-	-	-
<i>Kl. pneumoniae</i>	4,40±0,365	5,56±1,200	3,46±1,074	5,00±0,944
<i>Kl. oxytoca</i>	3,66±0,595	3,78±0,855	3,78±0,684	4,10±0,176
<i>Kl. ozaenae</i>	3,20±0,194	3,68±0,382	3,47±0,188	3,73±0,408
<i>Ps. aeruginosa</i> ATCC	-	-	-	-
<i>E. aerogenes</i>	-	-	-	-
<i>St. aureus</i> ATCC	-	-	-	-
<i>S. typhimurium</i> sp	-	-	-	-
<i>S. typhimurium</i> TA92	-	-	-	-
<i>S. typhimurium</i> TA100	-	-	-	-

Примечание: - – отсутствие зон задержки роста.

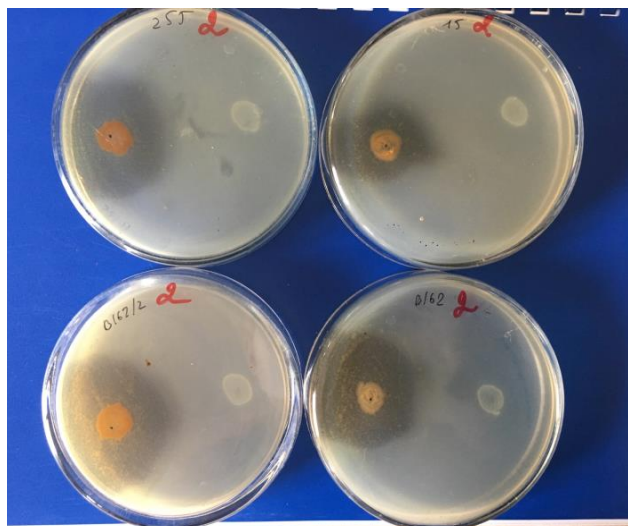


Рис. 2. Подавление роста культуры *K. pneumoniae* ATCC 21389 штаммами *P. chlororaphis* sbsp. *aurantiaca*:

А – штамм В-162/255, Б – штамм В-162/255/15, В – штамм В-162/2, Г – штамм В-162

Продемонстрировано, что антибактериальная активность исследуемых штаммов *P. chlororaphis* sbsp. *aurantiaca* В-162 и полученных на их основе мутантных штаммов, значительно ниже, чем их противомикозная активность. Выраженную чувствительность проявляли лишь представители рода *Klebsiella*. Это можно объяснить тем, что концентрация феназинового комплекса либо его отдельных компонентов, активных в отношении бактерий, на агаризованной среде недостаточно высоки для подавления роста исследуемых условных патогенов. Вторым возможным объяснением является то, что феназиновые антибиотики в принципе не проявляются бактерицидной активности. Для ответа на этот вопрос требуются дополнительные исследования, связанные с выделением и очисткой феназиновых комплексов и их отдельных компонентов в препаративной форме, и последующий анализ их антимикробной активности.

Литература

1. Ventola C. Lee. The Antibiotic Resistance Crisis: Part 1: Causes and Threats // Pharmacy and Therapeutics. 2015. Vol. 40 № 4. P. 277–283.
2. Sherry L., Ramage G., Kean R. Biofilm-Forming Capability of Highly Virulent, Multidrug-Resistant *Candida auris* // Emerg Infect Dis. 2017. Vol. 23. №2. P. 328–331. Чекман И.С., Горчакова Н.А., Галенко-Ярошевск П.А. // Под ред. И.С. Чекмана. К., «Рада». 2003. С. 492.
3. Противомикробные лекарственные средства производства РУП «Белмедпрепараты» // Справочное издание. Под ред. Т. В. Трухачева. Минск: Парадокс. 2014.
4. Hassan, H.M. Fridovich I., Mechanism of Antibiotic Action of Pyocyanine // J. Bacteriol. 1980. Vol. 141. № 1. P. 156–163.
5. Веремеенко Е. Г. Получение, характеристика и применение продуцентов феназиновых антибиотиков бактерии *Pseudomonas aurantiaca*: дис. кан-та биол. наук. М., 2010.