

УДК 616-093-098+615.32

Г.Т. ДЖАКИБАЕВА¹, И.С. КОЛБАЙ¹, О.А. САПКО², Р.А. КУНАЕВА², С.Н. ШИН²

СКРИНИНГ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ФРАКЦИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЭКСТРАЦЕЛЛЮЯРНЫХ МЕТАБОЛИТОВ ГРИБА *FUSARIUM SOLANI*

(¹ДГП «Центральная лаборатория биоконтроля,
сертификации и предклинических испытаний»;

²ДГП «Институт молекулярной биологии и
биохимии» РГП ЦБИ КН МОН РК; Алматы)

Проведен скрининг антибактериальной активности фракций экстраклеточных метаболитов, полученных из гриба *Fusarium solani*, для отбора наиболее активных антагонистов условно-патогенной микрофлоры. В результате проведенного скрининга выявлены 2 наиболее активные фракции KF-F1 и F1-KF.

Важнейшей особенностью препаратов, полученных из биологически активных соединений, является их природное происхождение, что, с одной стороны, практически исключает появление нежелательных побочных эффектов, а с другой – комплекс биологически активных веществ, содержащихся в растениях, определяет многообразие фармакологических эффектов, позволяющих использовать их при различных патологических состояниях [1].

Поиск новых лекарственных средств обычно ведется среди синтетических соединений и сырья природного происхождения. Определенный интерес в этом плане представляют грибы рода *Fusarium*, в процессе жизнедеятельности которых вырабатывается множество биологически активных веществ, относящихся к микотоксинам, таких как мартинцин, изомартинцин, ангидрофузарубин, яваницин, новарубин и т.п. [2,3]. Наибольший интерес представляют первые два из них, обладающие наиболее высокой антибактериальной активностью [4]. В связи с этим, возникла необходимость проведения скрининга антибактериальной активности фракций, полученных из гриба *Fusarium solani*, для отбора наиболее активных антагонистов условно-патогенной микрофлоры.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использовали 4 штамма микроорганизмов, вызывающих желудочно-кишечные заболевания и относящиеся к условно-патогенной микрофлоре, взятых из коллекции культур микроорганизмов НИВИ АО «КазАгроИнновация». Это –

Staphylococcus aureus, *Salmonella cholera*, *Salmonella typhimurium* и *Escherichia coli*. В качестве тест-культур использовали фракции KF-F1, P1, P2, P3, P4, KF2 и F1-KF, полученные из экстраклеточных метаболитов гриба *Fusarium solani*.

Штаммы культивировали на мясо-пептоном агаре при температуре 37°C. Для засева использовали суточную культуру бактерий.

Антибактериальную активность на модели *in vitro* KF-F1 изучали с использованием турбидиметрического метода. О наличии и выраженности эффекта судили по изменению мутности питательной среды после инкубации при 37°C через 24, 48, 72 часа. Препарат вводили в массо-объемном соотношении 1:1000.

Антибактериальную активность фракций дополнительно определяли методом диффузии в агар с изменением зоны подавления роста тест-культур, для чего культуры в виде суспензии клеток наносили на поверхность плотной среды в чашки Петри. После этого вырезали лунки диаметром 10 мм и заполняли их фракциями (0,1 мл). Зоны отсутствия роста замеряли через 24 часа. Антибактериальную активность оценивали по величине зоны торможения роста чувствительной тест-культуры вокруг колонии испытуемого штамма.

Образцы растворяли в водных, водно-спиртовых растворах и этаноле:

P1, FM2 – в спирте; P2-P3 в 40-70% этаноле; P4, FM1, KF2 – в воде. Учтена максимальная стандартизация условий опыта и стерильность (работа в боксе).

Таблица 1. Влияние фракции KF-F1 на размножение патогенных микроорганизмов
(турбидиметрический метод, 48 часов после инкубации)

Исследуемое вещество	Оптическая плотность питательной среды через 24 часа после инкубации при 37°C				
	Staphylococcus aureus ATCC 209	Staphylococcus epidermidis B-0080	Escherichia coli	Pseud aeruginosa	Salmonella typhimurium
KF-F1	-	-	++	++	-
Цефазолин	-	-	-	-	-
Ципрофлоксацин	-	-	-	-	-
Контроль	++++	++++	++++	++++	++++

Таблица 2. Антибактериальная активность фракций на модели диффузии в агар

Исследуемое вещество	Диаметр зон лизиса, мм			
	Staphylococcus aureus	Salmonella cholera	Salmonella typhimurium	Escherichia coli
P1	-	-	-	-
P2	-	-	-	-
P3	-	-	-	-
P4	-	-	-	-
FM1	5,7	4,2	-	-
FM2	-	-	-	-
KF2	6,0	5,4	-	-
KF-F1	25,0	21,2	15,0	16,0
F1-KF	18,2	10,0	12,0	17,0

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Целью данной работы было проведение скрининга антибактериальной активности веществ, выделенных из экстраклеточных метаболитов гриба *Fusarium solani*, для отбора наиболее активных антагонистов условно-патогенной микрофлоры.

Полученные данные по изучению антибактериальной активности с использованием турбидиметрического метода показали, что из всех исследуемых фракций только вещество KF-F1 наиболее эффективно подавляло рост стафилококков и незначительно влияло на штамм эшерихии (таблица 1).

Следует отметить, что по степени выраженности действия против стафилококков фракция KF-F1 была сопоставима с данными препаратов сравнения цефазолина-натрия и ципрофлоксацина.

Учитывая, полученные данные по выраженной антистафилококковой активности изучаемого вещества было проведено изучение его антистафилококковой активности методом диффузии в агар.

Данные, полученные при определении антибактериальной активности фракций представлены в таблице 2.

Анализ антибактериальной активности отобранных фракций на спектре тест-культур показал, что степень угнетения была различной для каждой отдельной тест-культуры. Размер зон задержки роста патогенов колебался от 6,0 до 25,0 мм.

В результате проведенного скрининга были отобраны 2 наиболее активные фракции - KF-F1 и F1-KF, обладающие антибактериальной активностью подавления патогенной микрофлоры. Они образовывали максимальные зоны ингибирования тест-культур - 21,0-25,0 мм и 17,0-18,2 мм, соответственно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Переверзев В.Г., Сагиндыка Б.А., Сыздыкова С.А., Маркевич М.М. Организационно-экономические аспекты Казахстанского производства импортируемых лекарств // Человек и лекарство: Сб. материалов XIV Российского конгресса, 16-20 апреля. - М., 2007. - С.861.

2. Малюга А.А. Видовой состав и патогенность грибов рода *Fusarium*, вызывающих сухую гниль клубней картофеля в Западной Сибири // Микология и фитопатология. - 2003. - Т.37, вып.4. - С.84-91.

3. Львова Л.С., Седова И.Б., Кизленко О.И. и др. Образование фумонизинов штаммами *Fusarium moniliforme*, выделенная из зерна кукурузы // Прикл. биохим. микробиол. - 2003. - Т.39, № 2. - С.222-227.

4. Билай В.И. Фузарии. Киев: Наукова думка, 1977. 441 с.

Резюме

Шартты-патогенді микрофлораның ең белсенді антагонистерді іріктелу үшін *Fusarium solani* саңырау-құлактар клеткалардың сыртқы метаболиттерден алын-

ған фракцияларының бактерияларға қарсы белсенділігінің скринингі өткізілді. Бұл скрининг арқылы 2 ең белсенді фракциялар – KF-F1 және F1-KF айқындалған.

Summary

The screening of the antibacterial activity of some fractions of extracellular metabolites from *Fusarium solani* fungi to selection of most active antagonists of conditional pathogenic micro flora was carried out. As a result, 2 most active fractions – KF-F1 and F1-KF were determined.