

Л. П. ТРЕНОЖНИКОВА<sup>1</sup>, А. Х. ХАСЕНОВА<sup>1</sup>, М. А. АКЫЛОВА<sup>2</sup>,  
А. С. БАЛГИМБАЕВА<sup>1</sup>, С. Ш. ШАКИЕВ<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Институт микробиологии и вирусологии КН МОН РК,

<sup>2</sup>Центральная клиническая больница МЦ УДП РК)

## ВЛИЯНИЕ НЕОРГАНИЧЕСКИХ СОЛЕЙ НА БИОСИНТЕЗ АНТИБИОТИКА-ПЕПТОЛИДА А-70

### Аннотация

Изучено влияние 20 неорганических солей на биосинтез антибактериального антибиотика-пептолида А-70. Установлено, что сульфаты магния и цинка, а также хлорид кобальта оказывают положительное влияние на биосинтез антибиотика А-70, увеличивая его образование на 20-28%. Фосфаты ингибируют биосинтез антибиотика-пептолида А-70 на 96-99%.

**Ключевые слова:** антибиотик, пептолид, биосинтез, антибактериальная активность, неорганические соли.

**Кіт сөздер:** антибиотик, пептолид, биосинтез, антибактериалдық белсенділігі, органикалық емес тұздар.  
**Keywords:** antibiotic, peptolide, biosynthesis, antibacterial activity, inorganic salts.

Грамположительные инфекции представляют серьезную проблему современной медицины в связи с глобальным ростом устойчивости этих микроорганизмов к современным антибактериальным средствам [1]. Особую проблему представляют инфекции, вызванные метициллинрезистентными стафилококками, главным образом, штаммами *S. aureus* (MRSA). MRSA – один из основных возбудителей тяжелых форм госпитальных инфекций с высоким уровнем смертности [2-5]. Это связано с их способностью проявлять устойчивость к почти всем традиционно используемым лекарственным средствам. Наряду с природной устойчивостью к β-лактамам, MRSA могут обладать множественной ассоциированной устойчивостью к действию макролидов, фторхинолонов, аминогликозидов, тетрацикличес, линкозамидов,rifampicina и других лекарственных препаратов [6]. Устойчивость к действию гликопептидов, до последнего времени единственной группы антибиотиков, эффективных против MRSA, говорит о том, что терапевтический эффект в их отношении могут оказать лишь препараты, относящиеся к принципиально новым классам.

Целью данного исследования являлось изучение влияния неорганических солей на биосинтез антибиотика-пептолида А-70, активного против метициллинрезистентных стафилококков с множественной ассоциированной лекарственной устойчивостью.

### Материалы и методы

Для получения спорового материала штамм актиномицета ИМВ 70 выращивали в течение 10 дней при температуре 28°C на картофельно-декстрозном агаре.

Биосинтез антибиотика А-70 осуществляли в колбах Эrlenmeyera вместимостью 750 мл в объеме среды 100 мл на круговой качалке (180–200 об/мин) при температуре 28°C в течение 96 часов.

Изучали влияние 20 неорганических солей в следующих концентрациях (г/л): K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, KNO<sub>3</sub>, NaNO<sub>3</sub>, NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>Cl, MgSO<sub>4</sub>, MgCl<sub>2</sub> – 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; KCl, NaCl – 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; CaCO<sub>3</sub> – 0; 1,0; 2,0; 3,0; CaNO<sub>3</sub>, CaCl<sub>2</sub> – 0,05; 0,1; 0,2; 0,4; FeSO<sub>4</sub> – 0,005; 0,01; 0,02; 0,03; ZnSO<sub>4</sub>, CoCl<sub>2</sub> – 0,0005; 0,001; 0,002; 0,004; MnCl<sub>2</sub> – 0,005; 0,01; 0,02; 0,04.

Исследования проводили с использованием ферментационной среды №16, оптимальной для биосинтеза антибиотика А-70. Состав ферментационной среды №16 (г/л): дрожжевой экстракт – 5,0; глюкоза – 20,0; пептон – 10,0; CaCO<sub>3</sub> – 2,0; pH 7,3.

Для оценки уровня образования антибиотика А-70 использовали следующие критерии: активность культуральной жидкости и спиртовых экстрактов из биомассы, накопление биомассы. Антибактериальную активность культуральных жидкостей и экстрактов из биомассы определяли в

отношении клинического штамма *S.aureus* № 9 (MRSA). Антибактериальную активность изучали методами двукратных серийных разведений и диффузии в агар [7]. Все исследования выполнены в трех повторностях.

### Результаты и их обсуждение

Процесс биосинтеза антибиотиков очень сложен и многие факторы, такие как органические и неорганические компоненты сред, оказывают на него существенное влияние. Известно, что неорганические соли могут как стимулировать образование антибиотиков, так и значительно ингибировать их биосинтез [8, 9]. Так, повышение концентрации NaCl от 0 до 0,4% в два раза увеличивает образование хлортетрациклина культурой *S. aureofaciens* ЛСБ-2201, тогда как ионы железа значительно снижают его синтез [7].

В таблице приведены данные по изучению влияния неорганических солей на биосинтез антибиотика-пептолида А-70.

Антибактериальная активность культуральной жидкости и экстрактов из биомассы штамма ИМВ 70 на среде № 16 с неорганическими солями

Наименование соли	Концентрация, г/л	pH культуральной жидкости	Вес биомассы, г/100мл	Диаметр зоны подавления роста <i>S.aureus</i> №9, мм	Активность против <i>S.aureus</i> №9, ед. разведения/мл	Диаметр зоны подавления роста <i>S.aureus</i> №9, мм	Активность против <i>S.aureus</i> №9, ед. разведения/мл
$K_2HPO_4$	0,5	9,5	1,5	20	40	13	10
	1,0	9,7	1,3	20	40	14	10
	1,5	9,7	1,2	16	20	13	10
	2,0	9,7	1,2	15	20	13	10
$KH_2PO_4$	0,5	9,1	2,8	30	320	22	40
	1,0	8,5	2,5	22	80	15	20
	1,5	6,0	1,8	20	40	14	10
	2,0	9,4	1,6	16	20	13	10
$NaH_2PO_4$	0,5	9,4	1,7	15	20	12	10
	1,0	9,4	1,5	13	10	10	0
	1,5	9,4	1,5	13	10	10	0
	2,0	9,4	1,4	13	10	10	0
$KNO_3$	0,5	8,9	4,7	35	800	27	200
	1,0	8,9	4,5	35	800	27	200
	1,5	8,9	4,1	26	200	18	40
	2,0	8,9	4,1	25	100	20	40
$NaNO_3$	0,5	9,6	1,7	13	10	10	0
	1,0	9,5	1,5	12	10	0	0
	1,5	9,5	1,5	12	10	0	0
	2,0	9,4	1,4	12	10	0	0
$KCl$	0,5	8,9	3,0	26	200	20	40
	1,0	8,9	3,0	26	200	20	40
	1,5	8,9	3,1	25	100	18	40
	2,0	8,8	3,1	25	100	18	40
$NaCl$	1,0	8,9	4,5	35	800	27	200
	2,0	8,8	4,0	35	800	27	200
	3,0	8,7	3,7	27	200	21	40
	4,0	8,7	3,1	25	100	20	40
$NH_4NO_3$	0,5	8,8	4,4	27	200	20	40
	1,0	8,7	3,8	25	100	17	20
	1,5	8,6	3,0	22	80	17	20
	2,0	8,5	2,3	22	80	17	20
$(NH_4)_2SO_4$	0,5	9,5	1,7	25	100	18	40
	1,0	9,5	1,4	25	100	18	40
	1,5	9,5	1,4	23	80	15	20
	2,0	9,4	1,0	14	10	0	0

## Продолжение таблицы

$(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$	0,5	9,7	1,3	18	40	14	20
	1,0	9,5	2,0	15	20	12	10
	1,5	9,4	2,1	15	20	12	10
	2,0	9,3	2,3	14	10	10	0
$\text{NH}_4\text{Cl}$	0,5	8,8	1,5	32	400	20	40
	1,0	8,5	1,4	32	400	20	40
	1,5	8,4	1,2	28	200	15	20
	2,0	7,5	1,0	25	100	14	20
$\text{MgSO}_4$	0,5	8,8	3,7	36	1000	28	200
	1,0	8,9	3,5	38	1200	24	200
	1,5	9,0	3,2	36	800	22	80
	2,0	9,3	3,0	36	800	19	40
$\text{MgCl}_2$	0,5	8,7	2,5	32	400	21	80
	1,0	9,0	2,5	30	320	20	80
	1,5	9,2	2,2	28	200	16	40
	2,0	9,4	2,0	28	200	16	40
$\text{CaCO}_3$	0	8,8	3,7	37	900	26	200
	1,0	8,9	4,0	38	1000	27	200
	2,0	8,6	4,2	35	800	20	40
	3,0	8,6	4,0	35	800	20	40
$\text{CaNO}_3$	0,05	9,1	2,9	33	400	19	40
	0,1	8,9	2,9	33	400	20	40
	0,2	8,8	2,7	33	400	20	40
	0,4	8,8	2,7	33	400	20	40
$\text{CaCl}_2$	0,05	8,8	2,6	35	800	23	80
	0,1	8,8	2,5	35	800	23	80
	0,2	8,8	2,0	35	800	22	80
	0,4	8,9	2,2	30	320	20	40
$\text{FeSO}_4$	0,005	9,0	1,9	36	800	20	40
	0,01	8,7	1,7	20	40	13	10
	0,02	8,3	1,6	18	20	11	0
	0,03	7,9	1,1	16	20	10	0
$\text{ZnSO}_4$	0,0005	8,8	4,0	39	1280	28	200
	0,001	8,5	3,8	33	400	25	100
	0,002	8,4	3,7	30	320	15	20
	0,004	8,4	3,7	30	320	15	20
$\text{MnCl}_2$	0,005	9,1	2,8	32	400	16	20
	0,01	8,9	2,8	27	200	15	20
	0,02	8,8	2,5	27	200	14	20
	0,04	8,8	2,5	27	200	14	20
$\text{CoCl}_2$	0,0005	8,8	4,1	40	1280	28	200
	0,001	8,8	4,0	34	400	22	40
	0,002	8,9	3,5	31	400	20	40
	0,004	9,0	3,3	31	400	16	20
Контроль		8,8	3,7	37	1000	28	200

Влияние неорганических солей на накопление биомассы штамма ИМВ 70 неоднозначно.  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{NaCl}$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ ,  $\text{CoCl}_2$ ,  $\text{ZnSO}_4$  в минимальных концентрациях оказывают положительное воздействие на накопление биомассы, при увеличении концентрации этих солей накопление биомассы уменьшается. Наоборот, при увеличении концентрации  $\text{CaCO}_3$  в среде накопление биомассы возрастает. Наиболее значительное оптимальное влияние на накопление биомассы оказывает  $\text{KNO}_3$  в концентрации 0,5 г/л, накопление биомассы по сравнению с контролем возрастает на 21,3 %. Источники фосфора:  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$ , вносимые в ферментационную среду, отрицательно действуют на синтез биомассы, уменьшая ее в пределах 19–74,5%.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ,  $\text{FeSO}_4$  также являются неблагоприятными для образования мицелия.  $\text{FeSO}_4$  в концентрации 0,03 г/л ингибирует накопление биомассы на 70,3%.

Внесение неорганических солей в ферментационную среду значительно воздействует на величину активности культуральной жидкости и экстрактов из биомассы.  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{CoCl}_2$ ,  $\text{ZnSO}_4$  оказывают положительное влияние на антибиотическую активность, увеличивая ее на 20–28% по

сравнению с контролем. Однако многие соли ( $K_2HPO_4$ ,  $NaH_2PO_4$ ,  $NaNO_3$ ,  $KCl$ ,  $NH_4NO_3$ ,  $(NH_4)_2SO_4$ ,  $(NH_4)_3PO_4$ ) ингибируют образование антибиотика на 80–99%. Источники фосфора –  $K_2HPO_4$ ,  $NaH_2PO_4$ ,  $(NH_4)_3PO_4$  – наиболее сильно угнетают биосинтез антибиотика А-70 (на 96–99%).

Таким образом, в результате проведенных исследований установлен как стимулирующий эффект ряда солей ( $MgSO_4$ ,  $CoCl_2$ ,  $ZnSO_4$ ) на биосинтез антибактериального антибиотика-пептолида А-70, так и ингибирующее действие солей, содержащих в своем составе фосфор.

#### ЛИТЕРАТУРА

- 1 National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, Data Summary from January 1992 – June 2001, Issued August 2001 // Am. J. Infect. Control. – 2001. – Vol. 29. – P. 404-421.
- 2 Hiramatsu K., Cui L., Kuroda M., Ito T. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // Trends Microbiol. – 2001. – Vol. 9, N 10. – P. 486-493.
- 3 Дехнич А.В., Эдельштейн И.А., Нарезкина А.Д. Эпидемиология антибиотикорезистентности нозокомиальных штаммов *Staphylococcus aureus* в России: результаты многоцентрового исследования // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2002. – № 4. – С. 325-336.
- 4 Lowy F.D. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus* // J. Clin. Invest. – 2003. – Vol. 111, № 9. – P. 1265-1273.
- 5 Cosgrove S.E., Sakoulas G., Perencevich E.N., Schwaber M.J., Karchmer A.W., Carmeli Y. Comparison of Mortality Associated with Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Bacteremia: A Meta-analysis // Clin. Infect. Dis. – 2003. – № 36. – P. 53-59.
- 6 Страчунский Л.С., Белькова Ю.А., Дехнич А.В. Внебольничные MRSA – новая проблема антибиотикорезистентности // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2005. – № 7(1). – С. 32-46.
- 7 Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. – М.: МГУ, Наука, 2004. – 528 с.
- 8 Khalil R., Djadouni F., Elbahloul Y., Omar S. The influence of cultural and physical conditions on the antimicrobial activity of bacteriocin produced by a newly isolated *Bacillus megaterium* 22 strain // African Journal of Food Science. – 2009. – Vol. 3(1). – P. 011-022.
- 9 Tabbene O., Slimene I.B., Djebali K., Mangoni M.L., Urdaci M.C., Limam F. Optimization of medium composition for the production of antimicrobial activity by *Bacillus subtilis* B38 // Biotechnol. Prog. – 2009. – Vol. 25(5). – P.1267-1274.

#### REFERENCES

- 1 National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, Data Summary from January 1992 – June 2001, Issued August 2001 // Am. J. Infect. Control. – 2001. – Vol. 29. – P. 404-421.
- 2 Hiramatsu K., Cui L., Kuroda M., Ito T. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* // Trends Microbiol. – 2001. – Vol. 9, N 10. – P. 486-493.
- 3 Dehnich A.V., Jedel'shtejn I.A., Narezkina A.D. Jepidemiologija antibiotikorezistentnosti nozokomial'nyh shtammov *Staphylococcus aureus* v Rossii: rezul'taty mnogocentrovogo issledovanija // Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija. – 2002. – № 4. – S. 325-336.
- 4 Lowy F.D. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus* // J. Clin. Invest. – 2003. – Vol. 111, № 9. – P. 1265-1273.
- 5 Cosgrove S.E., Sakoulas G., Perencevich E.N., Schwaber M.J., Karchmer A.W., Carmeli Y. Comparison of Mortality Associated with Methicillin-Resistant and Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Bacteremia: A Meta-analysis // Clin. Infect. Dis. – 2003. – № 36. – P. 53-59.
- 6 Strachunskij L.S., Bel'kova Ju.A., Dehnich A.V. Vnebol'nichnye MRSA – novaja problema antibiotikorezistentnosti // Klin. mikrobiol. antimikrob. himioter. – 2005. – № 7(1). – S. 32-46.
- 7 Egorov N.S. Osnovy uchenija ob antibiotikah. – M.: MGU, Nauka, 2004. – 528 s.
- 8 Khalil R., Djadouni F., Elbahloul Y., Omar S. The influence of cultural and physical conditions on the antimicrobial activity of bacteriocin produced by a newly isolated *Bacillus megaterium* 22 strain // African Journal of Food Science. – 2009. – Vol. 3(1). – P. 011-022.
- 9 Tabbene O., Slimene I.B., Djebali K., Mangoni M.L., Urdaci M.C., Limam F. Optimization of medium composition for the production of antimicrobial activity by *Bacillus subtilis* B38 // Biotechnol. Prog. – 2009. – Vol. 25(5). – P.1267-1274.

**Резюме**

*Л. П. Треножникова<sup>1</sup>, А. Х. Хасенова<sup>1</sup>, М. А. Ақылова<sup>2</sup>, А. С. Балғымбаева<sup>1</sup>, С. Ш. Шәкіев<sup>1</sup>*

(<sup>1</sup>ЕМК «Микробиология және вирусология институты» ҚР БФМ FK, Алматы қ.,  
<sup>2</sup> Қазақстан Республикасы Президенті Іс басқармасының медициналық орталығы, Алматы қ.)

**A-70 ПЕПТОЛИД-АНТИБИОТИГІНІҢ БИОСИНТЕЗІНЕ ОРГАНИКАЛЫҚ ЕМЕС ТҮЗДАРДЫҢ ӘСЕРІ**

А-70 пептолид-антибиотигінің биосинтезіне 20 органикалық емес түздардың әсері зерттелді. Магний мен цинк сульфаттары және кобальттың хлориды А-70 антибиотигінің биосинтезіне жақсы әсер ететін анықталды, антибиотиктің пайда болуын 20–28% артырады. Фосфаттар А-70 пептолид-антибиотигінің биосинтезіне 96–99% көрі әсер етеді.

**Кілт сөздер:** антибиотик, пептолид, биосинтез, антибактериалдық белсененділігі, органикалық емес түздар.

**Summary**

*L. P. Trenozhnikova<sup>1</sup>, A. Kh. Khassenova<sup>1</sup>, M. A. Akilova<sup>2</sup>, A. S. Balgimbaeva<sup>1</sup>, S. S. Schakiev<sup>1</sup>*

(<sup>1</sup>Institute of Microbiology and Virology CS MES RK, Almaty,  
<sup>2</sup>Medical Center of President's Affairs Administration of the Republic of Kazakhstan, Almaty)

**INFLUENCE OF INORGANIC SALTS ON THE BIOSYNTHESIS OF THE ANTIBIOTIK-PEPTOLIDE A-70**

The effect of 20 inorganic salts on the biosynthesis of the antibiotic peptolide A-70 was studied. It was found that the sulfates of magnesium and zinc, and cobalt chloride have a positive effect on the biosynthesis of the antibiotic A-70, increasing its formation by 20-28%. Phosphates inhibit the biosynthesis of the antibiotic-peptolide A-70 on 96-99%.

**Key words:** antibiotic, peptolide, biosynthesis, antibacterial activity, inorganic salts.

*Поступила 03.05.2013 г.*