

УДК 577.217:579(075.8)

<sup>1</sup>Треножникова Л.П. \*, <sup>1</sup>Хасенова А.Х., <sup>2</sup>Ақылова М.А.,  
<sup>1</sup>Ултанбекова Г.Д., <sup>1</sup>Байдылдаева Ж.А.

<sup>1</sup>Институт микробиологии и вирусологии КН МОН РК, г. Алматы, Казахстан

<sup>2</sup>Центральная Клиническая Больница Медицинского Центра Управления Делами Президента РК,  
г. Алматы, Казахстан

\*e-mail:barahtian@yandex.ru

### **Влияние аминокислот на биосинтез антибиотика А-70, активного против метициллинрезистентных стафилококков с множественной лекарственной устойчивостью**

Изучено влияние отдельных аминокислот на образование антибактериального антибиотика-пептолида А-70. Установлено положительное влияние валина, глутамина и фенилаланина на накопление антибиотика А-70 в культуральной жидкости, биосинтез антибиотика увеличивается на 11,1-13,3%. Аспарагин, аргинин, аланин, цистеин, пролин, лейцин, лизин ингибируют биосинтез антибиотика А-70.

**Ключевые слова:** метициллинрезистентные стафилококки, антибиотик, активность, биосинтез, аминокислота.

Л.П. Треножникова, А.Х. Хасенова, М.А. Ақылова, Г.Д. Ултанбекова, Ж.А. Байдылдаева

#### **Көптеген дәрілерге төзімділік көрсете алатын, метициллинрезистенттік стафилококктарға қарсы белсенді А-70 антибиотигінің биосинтезіне аминқышқылдардың әсері**

Антибактериалды пептолид-антибиотик А-70-тің түзілуіне жеке аминқышқылдардың ықпалы зерттелген. А-70 антибиотиктің культуралды сұйықта түзілуіне валин, глутамин және фенилаланиның он әсер ететіні, антибиотиктің биосинтезі 11,1-13,3% өсетіні анықталған. Аспарагин, аргинин, аланин, цистеин, пролин, лейцин, лизин А-70 антибиотигінің биосинтезін басады.

**Түйінді сөздер:** метициллинрезистенттік стафилококктар, антибиотик, белсенділік, биосинтез, аминқышқылы.

Trenozhnikova L.P. Khassenova A. Kh., Akilova M.A., Ultanbekova G. D., Baydyldaeva Zh.A.

#### **The influence of amino acids on biosynthesis of the antibiotic A-70, active against methicillin-resistant Staphylococci with multiple drug-resistance**

The influence of certain amino acids on the formation of the antibacterial antibiotic-peptolide A-70 was investigated. There was determined the positive influence of valine, glutamine and phenylalanine on accumulation of the antibiotic A-70 in culture broth: biosynthesis of the antibiotic increased by 11.1-13.3%. Asparagine, arginine, alanine, cysteine, proline, leucine, and lysine inhibit biosynthesis of the antibiotic A-70.

**Keywords:** methyl-persistent staphylococcus, antibiotic, biosynthesis, amino-acid.

Метициллинрезистентные стафилококки (MRSA) способны вызывать разнообразные клинические формы внутрибольничных инфекций, включая наиболее тяжелые, такие как: бактериемия, пневмония, синдром септического шока, септический артрит, остеомиелит и другие, которые требуют длительного и дорогостоящего лечения, приводят к увеличению сроков госпитализации, показателей летальности, значительным экономическим потерям [1-4]. В последние годы роль этих микроорганизмов возросла не столько из-за их широкого распространения, сколько из-за приобретения ими устойчивости

к подавляющему большинству доступных антибактериальных препаратов. Появление у микроорганизмов новых механизмов антибиотикорезистентности требует пересмотра устоявшихся представлений и внедрения в практику новых лекарственных соединений.

В Институте микробиологии и вирусологии КН МОН РК изучается комплексный антибиотик-пептолид А-70, высокоактивный против клинических кокковых возбудителей инфекций: стафилококков (MRSA), стрептококков, микрококков, энтерококков и аэрококков с различными типами устойчивости

к лекарственным препаратам. Важным этапом для получения высокоактивных препаратов антибиотика А-70 является подбор оптимальных условий его биосинтеза. Биосинтез антибиотиков является специфическим свойством микроорганизмов, улучшение их образования может осуществляться путем манипулирования процессами питания и физическими параметрами условий культивирования. Изменения в характере и типе источников углерода и азота, значительно влияют на биосинтез антибиотиков. Добавление в среду отдельных аминокислот или иных компонентов, изменяет биохимическую деятельность актиномицетов в сторону максимального биосинтеза антибиотиков или его ингибирования [5-6].

Целью данной работы была интенсификация процесса биосинтеза антибиотика А-70 посредством воздействия ряда аминокислот на образование активного вещества.

#### **Материалы и методы**

Объектом исследования являлся штамм *Streptomyces spp.* ИМВ 70.

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

Глубинное культивирование штамма ИМВ 70 осуществляли в два этапа. Вегетативный посевной материал выращивали при температуре 28°C в течение 48 часов на орбитальном шейкере. Количество посевного материала, использованного для инокулирования посевной среды, составляло 1% (суспензия спор  $10^9$ /мл).

Состав посевной среды (среда А<sub>4</sub>), г/л: глюкоза - 10,0; соевая мука - 10,0; NaCl - 5,0; CaCO<sub>3</sub> - 2,5; pH 7,2 - 7,4.

Состав ферментационной среды (среда № 16-4), г/л: дрожжевой экстракт - 5,0; глюкоза - 20,0; пептон - 10,0; MgSO<sub>4</sub> - 1,0; CoCl<sub>2</sub> - 0,0005; ZnSO<sub>4</sub> - 0,0005; CaCO<sub>3</sub> - 2,0; pH 7,3.

Количество инокулюма для засева ферментационной среды составляло 3% (вегетативный мицелий). Биосинтез антибиотика А-70 осуществляли в колбах Эрленмейера вместимостью 750 мл в объеме среды 100 мл на круговой качалке (180-200 об/мин) при температуре 28°C в течение 96 часов. Аминокислоты (глицин, валин,

глутамин, аспарагин, аргинин, аланин, лизин, лейцин, изолейцин, треонин, цистеин, пролин, фенилаланин, триптофан) вносили в ферментационную среду в количестве 0,1, 0,05, 0,01, 0,005%.

Эффективность биосинтеза антибиотика А-70 оценивали по величине антибактериальной активности культуральной жидкости. Антибактериальную активность культуральной жидкости определяли в отношении клинического метициллинрезистентного штамма *S. Aureus* ИМВ 9. *S.aureus* ИМВ9 обладает устойчивостью к бета-лактамам, аминогликозидам (гентамицину), эритромицину, тетрациклину, миноциклину. Активность изучали методами диффузии в агар и двукратных серийных разведений на питательном бульоне и агаре [7-8]. Антибиотическую активность выражали в условных единицах: 1 условная единица была равна минимальному количеству антибиотических веществ, препятствующих росту тест-микроорганизма при засеве из расчета  $10^6$  спор на 1 мл среды. Микроорганизмы инкубировали при температуре 37°C в течение 24 часов. Все исследования выполнены в трех повторностях.

#### **Результаты и их обсуждение**

Изучено влияние 14 аминокислот (глицин, валин, глутамин, аспарагин, аргинин, аланин, лизин, лейцин, изолейцин, треонин, цистеин, пролин, фенилаланин, триптофан) на биосинтез антибиотика А-70 на оптимальной среде № 16-4, обеспечивающей максимальную активность культуральной жидкости против *S. aureus* ИМВ 9. Полученные данные представлены в таблице.

Положительное влияние на образование активного вещества оказывают валин, глутамин и фенилаланин в концентрации 0,01-0,005%. Внесение данных аминокислот в ферментационную среду увеличивает биосинтез антибиотика А-70 на 11,1-13,3%. Ряд аминокислот (аспарагин, аргинин, аланин, цистеин, пролин) отрицательно воздействуют на образование антибиотика А-70, ингибируя биосинтез на 91,1-97,8%. Лизин и лейцин полностью ингибируют биосинтез антибиотика А-70 во всех изученных концентрациях. Изолейцин и триптофан оказывают слабое ингибирующее действие в высоких

концентрациях, глицин не оказывает влияния на биосинтез антибиотика А-70.

Таким образом, аминокислоты проявляют различное действие на биосинтез антибактериального антибиотика-пептолида А-70, ряд аминокислот (валин, глутамин и фенилаланин) стимулирует его биосинтез,

большинство изученных аминокислот ингибируют образование антибиотика. Валин, глутамин и фенилаланин могут быть использованы для интенсификации процесса биосинтеза антибиотика А-70.

**Таблица** – Влияние аминокислот на биосинтез антибиотика А-70

Наименование аминокислоты	Концентрация, %	Диаметр зоны подавления роста <i>S. aureus</i> ИМВ 9, мм	Активность против <i>S. aureus</i> ИМВ 9, ед.разведения/мл
1	2	3	4
Глицин	0,1	42	1800
	0,05	42	1800
	0,01	42	1800
	0,005	42	1800
Валин	0,1	40	1600
	0,05	42	1800
	0,01	43	2000
	0,005	43	2000
Глутамин	0,1	40	1600
	0,05	42	1800
	0,01	43	2000
	0,005	44	2200
Аспарагин	0,1	0	0
	0,05	23	160
	0,01	23	160
	0,005	23	160
Аргинин	0,1	18	40
	0,05	18	40
	0,01	18	40
	0,005	20	80
Аланин	0,1	0	0
	0,05	0	0
	0,01	18	40
	0,005	20	80
Лизин	0,1	0	0
	0,05	0	0
	0,01	0	0
	0,005	19	40
1	2	3	4
Лейцин	0,1	0	0
	0,05	0	0
	0,01	0	0
	0,005	0	0
Изолейцин	0,1	40	1600
	0,05	41	1600
	0,01	42	1800
	0,005	42	1800

## Продолжение таблицы

Треонин	0,1	17	40
	0,05	18	40
	0,01	19	40
	0,005	20	80
Цистеин	0,1	0	0
	0,05	0	0
	0,01	19	40
	0,005	20	80
Пролин	0,1	17	40
	0,05	22	100
	0,01	23	160
	0,005	23	160
Фенилаланин	0,1	39	1200
	0,05	41	1600
	0,01	44	2000
	0,005	47	2400
Триптофан	0,1	36	1600
	0,05	40	1600
	0,01	40	1600
	0,005	42	1800
Контроль	-	42	1800

## Литература

- 1 Brigs J.P., Sexton D.J., Kaye K.S. Adverse clinical and economic outcomes attributable to methicillin resistance among patients with *Staphylococcus aureus* surgical site infection // Clin. Infect. Dis. – 2003. - № 36. - P. 592-597.
- 2 Rubin R.J., Harrington C.A., Poon A. The economic impact of *Staphylococcus aureus* infections in New York City hospitals // Emerg. Infect. Dis. - 1999. – Vol. 5. - P. 9-17.
- 3 Lowy F.D. Antimicrobial resistance: the example of *Staphylococcus aureus* // J. Clin. Invest. - 2003. – Vol. 111. - № 9. – P. 1265-1273.
- 4 Rybak M.J., Pharm D.K.L. Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a review // Pharmacotherapy. - 2005. – Vol. 25. - № 1. – P. 74-85.
- 5 Katz E., Brown D. A possible role of D-valine and related D-amino acids in repression of enzyme and actinomycin synthesis // Appl. Microbiol. Biotechnol. -1989. –Vol. 30. – P. 67-70.
- 6 Martin J.F., Demain A.L. Control of antibiotic biosynthesis. Microbiol. Rev. – 1980. – Vol. 44. – P. 230-251.
- 7 Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. - М.: МГУ, Наука, 2004. - 528 с.
- 8 МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2004. – Т. 6. - № 4. – С. 306-359.