Біотехнологічний спосіб виробництва перспективної антибіотичної речовини піоцианіну

Калюжная О.С., Стрельников Л.С.
Кафедра біотехнології,
Національний фармацевтичний університет,
м. Харків, Україна
biotechnology.nuph@gmail.com

Проблема резистентності до антибіотиків досягла глобального масштабу. З нею пов'язані невдачі в лікуванні різних інфекцій; резистентність до антибіотиків призводить до збільшення смертності, значного підвищення витрат на лікування тощо [1]. Саме тому на сьогоднішній день гостро постало питання пошуку нових антибіотиків, які не мали раніше широкого застосування.

Як відмічають багато дослідників актуальним є виділення антибіотиків з природних джерел [1], серед яких перспективним продуцентом виступає синьогнійна паличка *Pseudomonas aeruginosa,* що в процесі природної життєдіяльності продукує антибіотичну субстанцію, сполуку феназинового ряду - піоцианін. Представники цього виду синтезують піоцианін і деякі інші пігменти феназинового ряду – піовердин (жовтий пігмент), піорубін (червоний пігмент), піомеланін (бурий пігмент) [4].

Піоцианін є активною окисно-відновною сполукою, яка здатна змінювати колір в залежності від pH середовища та ступеня окиснення. Даний пігмент можна отримати як хімічним, так і біотехнологічним методами [3].

Хімічний метод отримання піоцианіну є складним багатостадійним процесом та на сьогоднішній день використовується в лабораторних умовах для отримання досить невеликих об'ємів речовини [4,5]. У методиці використовуються дорогі і токсичні речовини, які можуть залишитися в кінцевому продукті у формі домішок, крім того реакція проходить при високих температурах протягом тривалого часу, що є економічно невигідним. Також існує біотехнологічний метод отримання піоцианіну, який є більш простим, безпечним та вигідним [5].

Синьогнійна паличка невибаглива, добре розвивається на середовищах загального призначення, при цьому виділяє піоцианін у культуральну рідину, тому для обґрунтування актуальності подальших робіт щодо отримання антибіотичної речовини було цікавим вивчити антимікробну активність культуральної рідини синьогнійної палички.

Культивування мікроорганізму проводили при 30 °С протягом 168 год в умовах аерації. Вивчення антимікробної активності культуральної рідини *P. aeruginosa* проводили двома методами: методом перпендикулярних штрихів та двократних розведень, враховуючи різні макроморфологічні властивості досліджуваного штаму та потенційно різні результати антимікробної активності [2].

Вивчена антимікробна активність культуральної рідини *P. aeruginosa* (культивування у МПБ протягом 72 год) відносно грампозитивних і

грамнегативних мікроорганізмів (*Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus, Proteus vulgaris, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae*). На поверхні агарового середовища в чашці Петрі висівали штрихом *P. aeruginosa* та інкубували при оптимальній температурі (37 °С) протягом 24 годин. Після завершення росту до досліджуваного мікроорганізму перпендикулярно підсівали штрихами тест-культури, починаючи від штриха культури, не торкаючись її. Чашки поміщали у термостат на 48 годин. За величиною зони зростання тест-культури на кордоні зі штрихом зростання *P. aeruginosa* робили висновок щодо наявності та ступеня антимікробної активності. Всі досліди проводили в асептичних умовах ламінарного боксу у трьох повторностях.

Вивчення антибіотичної активності методом перпендикулярних шрихів показало, що найбільша антимікробна активність спостерігалась по відношенню до *B. subtilis* (зона затримки росту дорівнює (12,0±0,5) мм) та *S. aureus* (зона затримки росту дорівнює (9,5±0,4) мм), найменша – по відношенню до *E. coli* (зона затримки росту дорівнює (6,6±0,5) мм) та *K. pneumoniae* (зона затримки росту дорівнює (2,0±0,5) мм).

Вивчення антимікробної активності культуральної рідини *P. aeruginosa* методом двократних розведень показало, що мінімальна бактерицидна концентрація по відношенню до *B. subtilis* дорівнює 15 мкг/мл, по відношенню до *S. aureus, K. pneumoniae, E. coli, P. vulgaris* – 30, 70, 100 та 250 мкг/мл, відповідно. Ці данні свідчать про те, що найбільш чутливим до екзометаболітів, що містяться у культуральній рідині *P. aeruginosa,* є *B. subtilis,* найменш чутливим – *P. vulgaris*.

Таким чином, вивчення властивостей культуральної рідини *P. aeruginosa* показало наявність антимікробних властивостей екзометаболитів, які містяться у ній, що робить подальші дослідження з виділення антибіотичної речовини піоцианіну перспективними.

Література

1. Егоров Н. С. Основы учения об антибиотиках: учебник / Н. С. Егоров. – М.: Наука, 2004. – 528 с.
2. Пирог Т. П. Загальна мікробіологія: Підруч. – 2-е вид., доп. і перероб. – К. : НУХТ, 2010. – 632 с.
3. Baron S. S. Molecular mechanism of the antimicrobial action of pyocyanin / S. S. Baron, G. W. Terranova, J. J. Rowe // Current microbiology. – 1989. – Vol. 18. – P. 223 – 230.
4. Huang J. Catabolite Repression Control of Pyocyanin Biosynthesis at an Intersection of Primary and Secondary Metabolism in Pseudomonas aeruginosa / J. Huang // Appl. Environ. Microbiol. – 2012. – Vol. 5. – P.5016-5020.
5. Ra'oof W. M. In Vitro Study of the Swarming Phenomena and Antimicrobial Activity of Pyocyanin Produced by Pseudomonas Aeruginosa Isolated from Different Human Infections / W. M. Ra'oof // European Journal of Scientific Research. – 2010. – Vol. 47, № 3. – P.405-421.