

**Т.П. Пирог^{1,2}, Л.В. Никитюк¹, В.О. Макієнко¹,
Т.А. Шевчук², Г.О. Іутинська²**

¹ Національний університет харчових технологій,

вул. Володимирська, 68, Київ, 01601, Україна

² Інститут мікробіології і вірусології НАН України,

вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03143, Україна

РЕГУЛЯЦІЯ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН, СИНТЕЗОВАНИХ NOCARDIA VACCINII ІМВ В-7405

Мета. Дослідження можливості посилення антимікробної активності поверхнево-активних речовин (ПАР), синтезованих *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405 за внесення у середовище *Escherichia coli* ІЕМ-1 і *Bacillus subtilis* БТ-2. **Методи.** Живі та інактивовані клітини бактерій-індукторів (*E. coli* ІЕМ-1 і *B. subtilis* БТ-2) вносили у середовище культивування продуцента ПАР на початку процесу і в експоненційній фазі росту. ПАР екстрагували з супернатанту культуральної рідини сумішшю хлороформу і метанолу (2:1). Антимікробні щодо бактерій та дріжджів властивості ПАР визначали за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК). **Результати.** Встановлено, що внесення у середовище вирощування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 як живих, так і інактивованих клітин *E. coli* ІЕМ-1 і *B. subtilis* БТ-2, супроводжувалося синтезом ПАР з підвищеною антимікробною активністю. Так, мінімальна інгібуюча концентрація щодо бактерій (*E. coli* ІЕМ-1, *B. subtilis* БТ-2, *Pseudomonas* sp. МІ-2, *Proteus vulgaris* ПА-12) і дріжджів *Candida albicans* Д-6 поверхнево-активних речовин, синтезованих за наявності *E. coli* ІЕМ-1 і *B. subtilis* БТ-2, становила 6–50 мг/мл і була в 2,4–13 разів нижчою, ніж МІК ПАР, утворених на середовищі без бактерій-індукторів. **Висновки.** Наведені дані засвідчують можливість регуляції антимікробної активності поверхнево-активних речовин *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405 внесенням у середовище культивування продуцента клітин інших бактерій, зокрема *E. coli* ІЕМ-1 і *B. subtilis* БТ-2.

К л ю ч о в і с л о в а: *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405, поверхнево-активні речовини, посилення антимікробної активності, бактерій-індуктори.

Нині відомо близько 6 тис. антибіотиків, а потужність їх виробництва у світі становить понад 100 тис. т на суму понад 20 млрд доларів [1]. За оцінками аналітиків щороку вчені у рамках масштабних дослідницьких програм відкривають до 200 нових антибіотиків, проте, враховуючи високу вартість технологій синтезу і клінічних випробувань нових препаратів, в продаж надходять не більше 1–2 % з досліджуваних [2, 3]. Однією з причин цього є швидке виникнення резистентних до нових антибіотиків мікроорганізмів. Загрозою стає швидка поява у мікроорганізмів нових механізмів стійкості, що призводить до виникнення полірезистентних штамів, нечутливих до дії антибіотиків.

На сьогоднішній день науковці дійшли висновку, що традиційна антибіотикотерапія на фоні росту резистентності мікроорганізмів не здатна вирішити глобальні проблеми людства, пов'язані з інфекційними захворюваннями. Нині все ширше використовуються альтернативні ан-

тибіотикам антимікробні препарати біологічного походження (пробіотики, бактеріофаги, ферменти), та активно досліджуються нові потенційні біоциди (поверхнево-активні речовини мікробного походження, пептиди, бактеріоцини, лектини та ін.) [4, 5].

Раніше [6] ми встановили, що антимікробна активність ПАР, синтезованих за умов росту *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на гліцерині, залежала від ступеня очищення (супернатант, розчин ПАР), концентрації, експозиції та типу тест-культур. Мінімальні інгібуючі концентрації (МІК) ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405 щодо деяких бактерій, дріжджів і мікроміцетів (12–325 мкг/мл) перебувають у межах, визначених для відомих з літератури мікробних ПАР [5].

У літературі [7–9] є дані про те, що антимікробна активність бактеріоцинів може підвищуватися у разі спільного культивування продуцента з іншими мікроорганізмами (індукторами). Зазначимо, що синтез бактеріоцину молочнокислими бактеріями *Lactobacillus plantarum* J23 спостерігався лише за наявності у середовищі культивування інших бактерій [7]. Антимікробна активність бактеріоцину *Lactobacillus gasseri* EV1461 підвищувалася за присутності у середовищі бактерій-індукторів (*L. gasseri* Lc9, *Lactobacillus pentosus* 128/2, *Lactobacillus plantarum* CE3 і *Propionibacterium avium* H1544) [9].

Останніми роками у літературі стали з'являтися поодинокі повідомлення [10–12] про можливість посилення антимікробної дії і поверхнево-активних речовин у відповідь на присутність конкурентних мікроорганізмів (часто патогенних і умовно патогенних). Так, представники роду *Bacillus* синтезують комплекс антимікробних ліпопептидів (ітурин, фенгіцин, сурфактин), причому максимальна антифунгальна активність притаманна ітуруну і фенгіцину [12]. За присутності фітопатогенних грибів родів *Pythium* і *Fusarium* спостерігався максимальний синтез ітуруну і фенгіцину, що супроводжувалося посиленням антифунгальної дії ліпопептидного комплексу.

У зв'язку з викладеним вище мета даної роботи – дослідження можливості посилення антимікробної активності ПАР, синтезованих *N. vaccinii* ІМВ В-7405, за внесення у середовище *Escherichia coli* ІЕМ-1 і *Bacillus subtilis* БТ-2.

Матеріали і методи. Основний об'єкт досліджень – штам *N. vaccinii* ІМВ В-7405, зареєстрований в Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного Національної академії наук України за номером ІМВ В-7405.

N. vaccinii ІМВ В-7405 вирощували в рідкому мінеральному середовищі такого складу (г/л): NaNO_3 – 0,5; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; $\text{CaCl}_2 \times 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,1; KH_2PO_4 – 0,1; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,001, дріжджовий автолізат – 0,5% (об'ємна частка). Як джерело вуглецю використовували очищений гліцерин у концентрації 1% (об'ємна частка).

Як посівний матеріал використовували культуру в експоненційній фазі, вирощену на середовищі наведеного складу з 0,5% гліцерину. Інокулят, в якому чисельність бактерій становила 10^4 – 10^5 кл/мл, вносили у кількості 10% від об'єму середовища.

Бактерії *Escherichia coli* ІЕМ-1, вирощені на м'ясо-пептонному ага-

рі (МПА) упродовж 14 год, або *Bacillus subtilis* БТ-2, вирощені на МПА упродовж 14 і 24 год, суспендували в 100 мл стерильної водопровідної води і вносили 2,5 мл суспензії на 100 мл середовища культивування продуцента ПАР у лаг- і експоненційній фазі росту. Інактивовані клітини (стерилізацією в автоклаві при 131°C упродовж 1 год) вносили з розрахунку 10 мл суспензії на 100 мл поживного середовища.

Культивування *N.vaccinii* ІМВ В-7405 за наявності *E. coli* ІЕМ-1 і *B. subtilis* БТ-2 і без бактерій-індукторів здійснювали у 750 мл колбах з 100 мл середовища на качалці (320 об/хв) при 30°C упродовж 5 діб.

У дослідженнях використовували поверхнево-активні речовини, екстраговані з супернатанту сумішшю Фолча (хлороформ і метанол, 2:1) як описано у наших попередніх роботах [6].

Антимікробні властивості поверхнево-активних речовин аналізували за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК). Визначення МІК здійснювали методом двократних серійних розведень у м'ясопептонному бульйоні (МПБ) для бактерій і рідкому суслі для дріжджів, як описано нами раніше [6]. Результати оцінювали візуально за помутнінням середовища: (+) – пробірки, в яких спостерігали помутніння середовища (ріст тест-культури), (–) – помутніння не було (ріст відсутній). Мінімальну інгібуючу концентрацію розчину ПАР визначали як концентрацію ПАР у першій пробірці, де був відсутній ріст.

Як тест-культури під час визначення антимікробних властивостей ПАР використовували штами бактерій (*E. coli* ІЕМ-1, *B. subtilis* БТ-2, *Proteus vulgaris* ПА-12, *Pseudomonas* sp. МІ-2) і дріжджів (*Candida albicans* Д-6, *Candida tropicalis* РЕ-2) з колекції живих культур кафедри біотехнології і мікробіології Національного університету харчових технологій.

Усі досліди проводили в 3 повторах, кількість паралельних визначень в експериментах становила 3–5. Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали, як описано у попередніх роботах [6]. Відмінності середніх показників вважали достовірними на рівні значимості $p < 0,05$.

Результати та обговорення. Відомі з літератури роботи щодо посилення антимікробної активності поверхнево-активних речовин за наявності мікроорганізмів-індукторів стосуються переважно ліпопептидних ПАР і їх дії на фітопатогенні гриби [11, 12]. Так, штам *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 синтезує комплекс антимікробних сполук: ліпопептиди фенгіцин, сурфактин, баціломіцин D і сидерофор бацілібактин [11], причому антимікробна дія комплексу, синтезованого за присутності фітопатогенних грибів, перевищувала таку, що реєструвалася на середовищі без таких біологічних індукторів. У роботі [11] було встановлено, що у відповідь на присутність певного фітопатогенного гриба відбувалися зміни у складі синтезованого комплексу: за наявності *Fusarium oxysporum* основним компонентом комплексу був баціломіцин D; *Verticillium dahliae* kleb, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani*, *Phytophthora parasitica* виявилися індукторами синтезу фенгіцину, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani* – сурфактину, бацілібактин синтезувався у відповідь на присутність кожного з досліджуваних фітопатогенних грибів.

У роботі [10] досліджували дію на деякі бактерії і гриби антимікробних сполук (у тому числі й ліпопептидних ПАР), синтезованих чотирма

штамами морських бактерій (*Bacillus* sp. S3, *Bacillus pumilus* S8, *Bacillus licheniformis* D1 і *Serratia marcescens* V1), як у вигляді моно-, так і змішаних культур з патогенними дріжджами (*Candida albicans* CA, *Yarrowia lipolytica* YL) і бактеріями (*Pseudomonas aeruginosa* PA, *Bacillus pumilus* BP). Показано, що за наявності патогенних мікроорганізмів антимікробна дія синтезованих морськими бактеріями сполук посилювалася.

Автори [10–12] вивчали вплив мікроорганізмів-індукторів на антимікробні властивості ПАР під час культивування на агаризованих середовищах (дію синтезованих ПАР на деякі мікроорганізми аналізували методом дифузії в агар). На нашу думку, коректніше оцінювати антимікробні властивості поверхнево-активних речовин, синтезованих за умов росту продуцента у рідких середовищах. У цьому разі можна визначити мінімальну інгібуючу концентрацію ПАР, яка є незалежним показником, за допомогою якого можна одночасно порівняти ефективність кількох антимікробних агентів. На відміну від інших методів аналізу антимікробної активності, визначення МІК має ряд переваг: простота і швидкість аналізу, можливість одночасного визначення для кількох тест-культур, дослідження ефективності різних концентрацій препарату, можливість порівняння ефективності різних препаратів чи препаратів різного ступеня очищення [13].

Крім того, у разі культивування продуцента ПАР у рідких середовищах можна проаналізувати вплив на антимікробну активність не тільки живих, а й інактивованих клітин мікроорганізмів-індукторів. Так, з літератури [8] відомо, що антимікробна щодо *Listeria monocytogenes* ATCC 7644 активність бактеріоцину, синтезованого *Bacillus amyloliquefaciens* LBM 5006, посилювалася у разі вирощування штаму-продуцента за присутності як живих, так і інактивованих нагріванням клітин *E. coli* ATCC 25922.

У табл. 1 наведено дані антимікробної активності ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405, синтезованих за наявності у середовищі клітин *E. coli* ІЕМ-1. Результати досліджень показали, що внесення як живих, так і інактивованих клітин *E. coli* ІЕМ-1 супроводжувалося синтезом ПАР з підвищеною антимікробною активністю, проте за присутності живих клітин індуктора,

Таблиця 1

Антимікробна активність ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405, синтезованих за присутності клітин *E. coli* ІЕМ-1

| Клітини <i>E. coli</i> ІЕМ-1 | Момент внесення клітин <i>E. coli</i> ІЕМ-1 | МІК (мкг/мл) щодо | | |
|------------------------------|---|---|---------------------------------|----------------------|
| | | <i>B. subtilis</i> БТ-2 (вегетативні клітини) | <i>B. subtilis</i> БТ-2 (спори) | <i>E. coli</i> ІЕМ-1 |
| Живі | лаг-фаза | 15 | 30 | 6 |
| | експоненційна | 80 | 60 | 40 |
| Інактивовані | лаг-фаза | 30 | 50 | 14 |
| Контроль (без індуктора) | | 80 | 120 | 80 |

Примітка: Під час визначення МІК похибка не перевищувала 5 %.

що додавали на початку процесу культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405, утворювалися ПАР, мінімальна інгібуюча концентрація яких була нижчою, ніж ПАР, синтезованих за наявності інактивованих клітин. Зазначимо, що МІК щодо *E. coli* ІЕМ-1 та *B. subtilis* БТ-2 ПАР, утворених за присутності живих клітин індуктора, становила 6–40 мкг/мл і 15–80 мкг/мл відповідно, та була у 2–13 разів нижчою, ніж МІК ПАР, синтезованих у середовищі без індуктора.

На наступному етапі як індуктор синтезу поверхнево-активних речовин *N. vaccinii* ІМВ В-7405 з посиленою антимікробною дією використовували вегетативні і спорові клітини *B. subtilis* БТ-2, які вносили у середовище культивування продуцента ПАР на початку процесу (табл. 2). Експерименти показали, що незалежно від фізіологічного стану клітин індуктора (вегетативні, спорові) та життєздатності (живі, інактивовані) за їх наявності у середовищі культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405, спостерігали синтез ПАР, мінімальна інгібуюча концентрація яких щодо досліджуваних бактеріальних тест-культур була у 2,4–13 разів нижчою, ніж ПАР, синтезованих у середовищі без індуктора. Аналогічні закономірності були встановлені і під час визначення МІК таких ПАР щодо дріжджів *Candida albicans* Д-6 (рисунок).

Таблиця 2

**Антимікробна активність ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405,
синтезованих за присутності клітин *B. subtilis* БТ-2**

| Клітини <i>B. subtilis</i> БТ-2 | МІК (мкг/мл) щодо | | | |
|------------------------------------|-------------------------|------------------------------------|--------------------------------|---|
| | <i>E. coli</i> ІЕМ-1 | <i>B. subtilis</i> БТ-2 (спори) | <i>Pseudomonas</i> sp. МІ-2 | <i>Proteus</i> <i>vulgaris</i> ПА-12 |
| Вегетативні | 8 | 10 | 6 | 6 |
| Інактивовані вегетативні | 16 | 16 | 12 | 21 |
| Спорові | 8 | 28 | 9 | 12 |
| Інактивовані спорові | 12 | 50 | 12 | 18 |
| Контроль (без індуктора) | 80 | 120 | 80 | 80 |

Примітка: Клітини індуктора вносили на початку процесу культивування штаму ІМВ В-7405. Під час визначення МІК похибка не перевищувала 5 %.

Отже, посилення антимікробної дії синтезованих *N. vaccinii* ІМВ В-7405 ПАР відбувалося у разі використання як індуктора і клітин *E. coli* ІЕМ-1, і *B. subtilis* БТ-2. Одержані результати відрізняються від описаних у роботі [8]. Так, посилення антимікробної дії бактеріоцину *B. amyloliquefaciens* LBM 5006 спостерігали лише за наявності тільки клітин *E. coli* ATCC 25922. Внесення у середовище культивування *B. amyloliquefaciens* LBM 5006 клітин *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Listeria monocytogenes* ATCC 7644, *Bacillus cereus* ATCC 9634 не супроводжувалося підвищенням антимікробної активності бактеріоцину [8]. Цікавим виявився той факт, що бактеріоцин, синтезований за присутності *L. monocytogenes* ATCC 7644, не характеризувався вищою антимікробною активністю щодо клітин бактерії-індуктора порівняно з бактеріоцином, одержаним на середовищі без індуктора.

Як і автори роботи [8], ми спостерігали посилення антимікробної дії

цільового продукту за використання в якості індуктора як живих, так і інактивованих клітин бактерій. У роботі [8] було показано, що наявність безклітинного екстракту *E. coli* ATCC 25922 у середовищі культивування продуцента бактеріоцину не впливала на його антимікробну активність. Такі результати дали змогу припустити, що індукуючий фактор асоційований з клітинами. Зазначимо, що у роботі [14] було встановлено, що індукторами синтезу вторинних метаболітів (у тому числі й антибіотиків) представниками роду *Streptomyces* є бактерії, які містять у складі клітинної стінки міколові кислоти (*Rhodococcus erythropolis*, *Corynebacterium glutamicum*, *Tsukamurella pulmonis*), причому підвищення синтезу спостерігали лише за використання живих клітин бактерій-індукторів. Автори [14] висловили припущення, що міколові кислоти, локалізовані у зовнішньому шарі бактеріальних клітин, впливають на вторинний метаболізм стрептоміцетів в результаті безпосередньої взаємодії бактерій-індукторів і бактерій роду *Streptomyces*. На основі одержаних результатів дослідники розробили новий метод культивування, який назвали «методом комбінованого культивування», для полегшення скринінгу продуцентів практично важливих природних метаболітів. Пізніші дослідження [15] цих авторів показали, що очищені міколові кислоти, мертві клітини (оброблені формальдегідом або γ -радіацією) *T. pulmonis* TP-B0596, *R. erythropolis* PR4 (NBRC 100887), *Rhodococcus opacus* B4 чи їх безклітинні екстракти не спричиняли індукції синтезу пігментів у штаму *Streptomyces lividans* TK23.

Зазначимо, що метод комбінованого культивування останніми роками широко використовується іншими дослідниками для підвищення синтезу різних вторинних метаболітів (антибактеріальних та антифунгальних агентів, цитотоксичних речовин) [16].

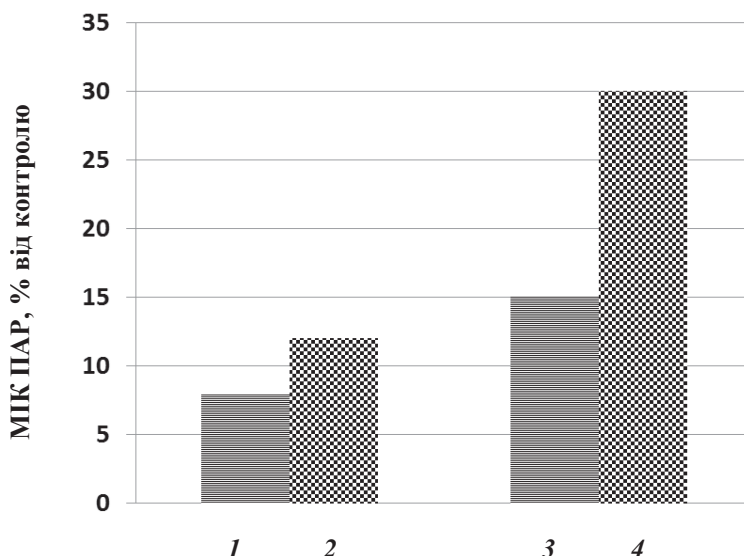


Рис. Мінімальна інгібуюча концентрація щодо *Candida albicans* Д-6 ПАВ *N. vacciniі* ІМВ В-7405, синтезованих за наявності вегетативних (1, 2) і споривих (3, 4) клітин *B. subtilis* БТ-2

2 – інактивовані вегетативні клітини, 4 – інактивовані спори.

Контроль (100 %) – мінімальна інгібуюча концентрація ПАВ, синтезованих на середовищі без індуктора (*B. subtilis* БТ-2)

Принциповою відмінністю одержаних нами результатів від описаних у роботах [14–16] є те, що у відповідь на присутність бактерій-індукторів у середовищі культивування продуцента ПАР підвищується не синтез цільового продукту (поверхнево-активних речовин), а посилюється їх антимікробна дія не тільки на бактерії-індуктори, а й на інші бактерії та дріжджі.

Ми припускаємо, що це явище може бути зумовлене зміною співвідношення певних компонентів у складі синтезованих *N. vaccinii* ІМВ В-7405 ПАР, зокрема, підвищенням вмісту ліпопептидів, відповідальних за антимікробну активність. Подібне явище описано у роботі [12]. Так, за присутності фітопатогенних грибів родів *Pythium* і *Fusarium* у складі комплексу антимікробних ліпопептидів, синтезованих штамми *B. amyloliquifaciens/subtilis*, спостерігали збільшення вмісту ітуруину і фенгіцину, яким притаманна висока антифунгальна активність. Автори [12] висловлюють припущення, що фітопатогенні гриби утворюють певні сигнальні речовини, які є індукторами синтезу ітуруину і фенгіцину, причому для індукції синтезу цих компонентів ПАР немає необхідності у прямому контакті фітопатогенів і бактерій роду *Bacillus*. Оскільки посилення антимікробної дії ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405 спостерігали у разі внесення у середовище культивування продуцента як живих, так і інактивованих клітин бактерій-індукторів, то в основі регуляції біологічних властивостей поверхнево-активних речовин, очевидно, лежать інші механізми.

Отже, одержані нами результати засвідчують можливість регуляції антимікробної активності поверхнево-активних речовин *N. vaccinii* ІМВ В-7405 внесенням у середовище культивування продуцента клітин інших бактерій, зокрема *E. coli* ІЕМ-1 і *B. subtilis* БТ-2.

**Т.П. Пироз^{1,2}, Л.В. Никитюк¹, В.А.Макиєнко¹,
Т.А. Шевчук², Г.А. Иутинская²**

¹ *Национальный университет пищевых технологий,
ул. Владимирская, 68, Киев, 01601, Украина*

² *Институт микробиологии и вирусологии НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, Киев, 03143, Украина*

РЕГУЛЯЦИЯ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ, СИНТЕЗИРОВАННЫХ *NOCARDIA VACCINII* ІМВ В-7405

Резюме

Цель. Исследование возможности усиления антимикробной активности поверхностно-активных веществ (ПАВ), синтезированных *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405 при внесении в среду *Escherichia coli* ІЕМ-1 и *Bacillus subtilis* БТ-2. **Методы.** Живые и инактивированные клетки бактерий-индукторов (*E. coli* ІЕМ-1 и *B. subtilis* БТ-2) вносили в среду культивирования продуцента ПАВ в начале процесса и в экспоненциальной фазе роста. ПАВ экстрагировали из супернатанта культуральной жидкости смесью хлороформа и метанола (2:1). Антимикробные по отношению к бактериям и дрожжам свойства ПАВ определяли по показателю минимальной ингибирующей концентрации (МИК). **Результаты.** Установлено, что внесение в среду культивирования *N. vaccinii* ІМВ В-7405 как живых, так и инактивированных кле-

ток *E. coli* IEM-1 и *B. subtilis* BT-2, сопровождалось синтезом ПАВ с повышенной антимикробной активностью. Так, минимальная ингибирующая концентрация по отношению к бактериям (*E. coli* IEM-1, *B. subtilis* BT-2, *Pseudomonas* sp. MI-2, *Proteus vulgaris* ПА-12) и дрожжам *Candida albicans* Д-6 поверхностно-активных веществ, синтезированных в присутствии *E. coli* IEM-1 и *B. subtilis* BT-2, составляла 6–50 мкг/мл и была в 2,4–13 раз ниже, чем МИК ПАВ, образуемых в среде без бактерий-индукторов. **Выводы.** Полученные данные свидетельствуют о возможности регуляции антимикробной активности поверхностно-активных веществ *Nocardia vaccinii* IMB B-7405 при внесении в среду культивирования продуцента ПАВ клеток других бактерий, в том числе *E. coli* IEM-1 и *B. subtilis* BT-2.

Ключевые слова: *Nocardia vaccinii* IMB B-7405, поверхностно-активные вещества, усиление антимикробной активности, бактерии-индукторы

**T.P. Pirog^{1,2}, L.V. Nikituk¹, V.O. Makienko¹,
T.A. Shevchuk², G.O. Iutyńska²**

¹ National University of Food Technologies, 68 Volodymyrska St., Kyiv, 01601, Ukraine

² Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, National Academy of Sciences of Ukraine, 154 Acad. Zabolotny St., Kyiv, 03143, Ukraine

REGULATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SURFACTANTS, SYNTHESIZED BY *NOCARDIA VACCINII* IMV B-7405

Summary

Aim. To study the possibility of enhancement antimicrobial activity of the surfactants synthesized *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 after introduction into the medium *Escherichia coli* IEM-1 and *Bacillus subtilis* BT-2. **Methods.** Live and inactivated cells of bacteria inductors (*E. coli* IEM-1 and *B. subtilis* BT-2) were introduced into cultivation medium of surfactant producer at the beginning of the process and in the exponential growth phase. Surfactants were extracted from supernatant of cultural liquid by mixture of chloroform and methanol (2:1). Antimicrobial against bacteria and yeast properties of the surfactant was determined by index of the minimum inhibitory concentration (MIC). **Results.** It has been established that introduction into cultivation medium of *N. vaccinii* IMV B-7405 both live and inactivated *E. coli* IEM-1 and *B. subtilis* BT-2 cells was accompanied by synthesis of surfactant with improved antimicrobial activity. The minimum inhibitory concentration against bacteria (*E. coli* IEM-1, *B. subtilis* BT-2, *Pseudomonas* sp. MI-2, *Proteus vulgaris* PA-12) and yeast *Candida albicans* D-6 of surfactants synthesized in the presence of *E. coli* IEM-1 and *B. subtilis* BT-2 were 6–50 µg/ml, that in 2,4–13 times lower than MIC of surfactant obtained in the medium without bacteria inductors. **Conclusions.** The data obtained indicate the possibility of regulation of antimicrobial activity of *N. vaccinii* IMV B-7405 surfactants when cells of other bacteria including *E. coli* IEM-1 and *B. subtilis* BT-2 were introduced into cultivation medium of surfactant producer.

Key words: *Nocardia vaccinii* IMV B-7405, surfactants, improved antimicrobial activity, bacteria inductors

1. Wang H.H., Schaffner D.W. Antibiotic resistance: how much do we know and where do we go from here? *Appl. Environ. Microbiol.* 2011; 77(20): 7093–7095.
2. Roberts M.C., Schwarz S., Aarts H.J. Erratum: Acquired antibiotic resistance genes: an overview. *Front Microbiol.* 2012; doi: 10.3389/fmicb.2012.00384.

3. Fair R.J., Tor Y. Antibiotics and bacterial resistance in the 21st century. *Perspect. Medicin. Chem.* 2014; **6**: 25–64. doi: 10.4137/PMC.S14459.
4. Demain A.L. Importance of microbial natural products and the need to revitalize their discovery. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 2014; **41**(2): 185–201.
5. Cortes-Sanchez A., Hernandez-Sanchez H., Jaramillo-Flores M. Biological activity of glycolipids produced by microorganisms: new trends and possible therapeutic alternatives. *Microbiol. Res.* 2013; **168**(1): 22–32.
6. Pirog T.P., Beregova K.A., Savenko I.V., Shevchuk T.A., Iutynska G.O. [Antimicrobial action of *Nocardia vaccinii* IMV B-7405 surfactants]. *Microbiol. Zh.* 2015; **78**(6): 2–10. Ukrainian.
7. Rojo-Bezares B., Sáenz Y., Navarro L., Zarazaga M., Ruiz-Larrea F., Torres C. Coculture-inducible bacteriocin activity of *Lactobacillus plantarum* strain J23 isolated from grape must. *Food Microbiol.* 2007; **24**(5):482–491.
8. Benitez L., Correa A., Daroit D., Brandelli A. Antimicrobial activity of *Bacillus amyloliquefaciens* LBM 5006 is enhanced in the presence of *Escherichia coli*. *Curr. Microbiol.* 2011; **62**(3):1017–1022. doi: 10.1007/s00284-010-9814-z.
9. Maldonado-Barragán A., Caballero-Guerrero B., Martín V., Ruiz-Barba J.L., Rodríguez J.M. Purification and genetic characterization of gassericin E, a novel co-culture inducible bacteriocin from *Lactobacillus gasseri* EV1461 isolated from the vagina of a healthy woman. *BMC Microbiol.* 2016; doi: 10.1186/s12866-016-0663-1.
10. Dusane D.H., Matkar P., Venugopalan V.P., Kumar A.R., Zinjarde S.S. Cross-species induction of antimicrobial compounds, biosurfactants and quorum-sensing inhibitors in tropical marine epibiotic bacteria by pathogens and biofouling microorganisms. *Curr. Microbiol.* 2011; **62**(3):974–980. doi: 10.1007/s00284-010-9812-1.
11. Li B., Li Q., Xu Z., Zhang N., Shen Q., Zhang R. Responses of beneficial *Bacillus amyloliquefaciens* SQR9 to different soilborne fungal pathogens through the alteration of antifungal compounds production. *Front. Microbiol.* 2014; **5**. doi: 10.3389/fmicb.2014.00636.
12. Cawoy H., Debois D., Franzil L., De Pauw E., Thonart P., Ongena M. Lipopeptides as main ingredients for inhibition of fungal phytopathogens by *Bacillus subtilis/amyloliquefaciens*. *Microb. Biotechnol.* 2015; **8**(2):281–295. doi: 10.1111/1751-7915.12238
13. Mazzola P., Jozala A., Lencastre-Novaes L., Moriel P., Vessoni-Penna T. Minimal inhibitory concentration (MIC) determination of disinfectant and/or sterilizing agents. *Braz. J. Pharm. Sci.* 2009; **45**(2): 241–248.
14. Onaka H., Mori Y., Igarashi Y., Furumai T. Mycolic acid-containing bacteria induce natural-product biosynthesis in *Streptomyces* species. *Appl. Environ. Microbiol.* 2011; **77**(2):400–406. doi: 10.1128/AEM.01337-10.
15. Asamizu S., Ozaki T., Teramoto K., Satoh K., Onaka H. Killing of mycolic acid-containing bacteria aborted induction of antibiotic production by *Streptomyces* in combined-culture. *PLoS One.* 2015. doi: 10.1371/journal.pone.0142372.
16. Marmann A., Aly A.H., Lin W., Wang B., Proksch P. Co-cultivation – a powerful emerging tool for enhancing the chemical diversity of microorganisms. *Mar Drugs.* 2014; **12**(2):1043–1065. doi: 10.3390/md12021043.

Отримано 10.10.2016