

УДК 573.6:579.6

ОЦІНКА МОЖЛИВОСТІ ВИКОРИСТАННЯ ШТАМУ-АНТАГОНІСТА *ALCALIGENES FAECALIS* ДЛЯ ЗАХИСТУ ПОВЕРХОНЬ ВІД ПАТОГЕННИХ *ESCHERICHIA COLI*

I. I. Маринова, студентка, Д. Б. Мельникович, студентка, Н. В. Коротаєва, м. н. с.,
Н. В. Ліманська, к. біол. н., доцент кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології
dianaqwerr@gmail.com

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, м. Одеса

Пошук нових штамів-антагоністів для боротьби з патогенними мікроорганізмами є надзвичайно актуальним у зв'язку зі зростаючою резистентністю патогенів до антибіотиків та дезінфекційних засобів. Розвиток біотехнології виробництва пробіотичних препаратів, які б використовувалися у медицині, ветеринарії, рослинництві, вимагає підбору та оцінки властивостей нових штамів-антагоністів.

Метою роботи була оцінка можливості використання штаму *Alcaligenes faecalis* ОНУ 452 для захисту поверхонь від прикріплення патогенних кишкових паличок.

Застосовували новий штам *Alcaligenes faecalis* ОНУ 452, виділений з судин рослини винограду, і модельний штам *Escherichia coli* C600 з GFP-плазмідною рKEN, що кодує білок з флуоресценцією зеленого кольору [Cormack et al., 1996]. Цей штам не був патогенним, але мав адгезивні властивості, характерні також і для патогенних кишкових паличок, тому він слугував моделлю. Для первинної оцінки антагоністичної активності застосовували метод агарових лунок. Штами вирощували добу у рідкому середовищі LB при 37 °C. Добову культуру *E. coli* C600 рKEN використовували для створення газону, в лунки якого вносили культуру *A. faecalis* ОНУ 452. Газон інкубували добу при 37 °C і враховували наявність зон лізису. Надалі досліджували конкурентну адгезію та формування біоплівки на склі обома штамми. Мікроскопію біоплівок проводили за допомогою флуоресцентного мікроскопа Zeiss з використанням синього фільтра з довжиною хвилі 420 нм при збільшенні $\times 600$. Культури тест-штаму *E. coli* C600 змішували у певних співвідношеннях з клітинами антагоніста (1:1; 1:0,5; 1:2; 1:5). Кількість клітин в інокуляті штамів-антагоністів (10^9 КУО/мл за стандартом ГКІ № 9) брали за одиницю. Як контроль використовували добові моновидові біоплівки штамів антагоністів та *E. coli* C 600 з GFP-плазмідною.

Виявилося, що на газоні антагоніст утворював добре виражені зони лізису діаметром 10–12 мм, отже, він міг би бути активним біотехнологічним агентом у захисті від кишкових паличок. Дослідження конкурентної адгезії дало такі результати: за співвідношення *A. faecalis* + *E. coli* 1:0,5 та 1:1 біоплівки *A. faecalis* виявили здатність до протидії прикріпленню клітин *E. coli* C 600 до субстрату та інтеграцію у біоплівку. З підвищенням концентрації клітин *E. coli* біоплівки *A. faecalis* втрачали свої захисні властивості. Так, за співвідношення *A. faecalis* + *E. coli* 1:2 клітини *E. coli* інтегрувалися до біоплівки *A. faecalis* і її характер змінювався на полівидову. За співвідношення *A. faecalis* + *E. coli* 1:5 *E. coli*, вочевидь, повністю заміщає *A. faecalis* у біоплівці. Отримані результати можуть свідчити про те, що біоплівки *A. faecalis* не можуть протистояти масованій інфільтрації клітин іншого виду, а можлива заміна клітин *A. faecalis* на клітини *E. coli* C 600 у біоплівці при співвідношенні 1:5 може бути наслідком швидкої активації системи *quorumsensing* в останнього мікроорганізму та підвищення біосинтезу деяких вторинних метаболітів, зокрема біосурфактантів та факторів розпаду біоплівки — таких, як цис-2-додеканова кислота та інших [Davies, Marques, 2009]. Оскільки у природних умовах така велика концентрація патогенів, як у досліді, виявляється рідко, можна висловити припущення, що антагоністів на поверхні може бути достатньо для протистояння колонізації поверхонь патогеном.