

3
НОМЕР

БОНЦ

ISSN 2304-9081

ЭЛЕКТРОННЫЙ ЖУРНАЛ
On-line версия журнала на сайте
<http://www.elmag.uran.ru>

БЮЛЛЕТЕНЬ

ОРЕНБУРГСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА УРО РАН

Lycaena thersamon (Esper, 1784)
Червонец блестящий
Шовкун Д.Ф.



2019

УЧРЕДИТЕЛЬ
ОРЕНБУРГСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР УРО РАН

© Коллектив авторов, 2019

УДК 579.61-579.25+57.083.1

К.Ю. Швец^{1,2}, *Ал.Х. Баймиев*^{1,2}, *А.Р. Мавзютов*², *А.Х. Баймиев*^{1,2},
*Р.Т. Матниязов*¹, *А.Д. Хабирова*^{2,3}, *З.Р. Гарипова*², *Г.Ф. Хасанова*²

ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ОТНОШЕНИИ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

¹ Институт биохимии и генетики, Уфимский федеральный исследовательский центр РАН, Уфа, Россия

² Башкирский государственный медицинский университет, Уфа, Россия

³ Башкирский государственный университет, Уфа, Россия

Цель. Исследование новых химических соединений, отобранных с помощью репортерной конструкции pDualrep2, на предмет активности в отношении клинически значимых микроорганизмов *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans*.

Материалы и методы. В исследование были включены 166 соединений с неизвестным механизмом действия. Тест-штаммы микроорганизмов: *E. coli* (№25922 ATCC), *K. pneumoniae* (№181210171-2), *P. aeruginosa* (№27853 ATCC), *S. aureus* (№206 ATCC USA) и *C. albicans* (№181210169-1). Чувствительность микроорганизмов к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом.

Результаты. Проведён мониторинг чувствительности тест-штаммов микроорганизмов к новым антимикробным препаратам различной химической природы. По результатам анализа все изученные штаммы микроорганизмов обладали значительной вариабельностью по отношению к современным антибиотикам с выраженной полирезистентностью у *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *C. albicans*. 4,8% химических соединений проявляли активность в отношении всех изученных микроорганизмов, а остальные соединения обладали менее выраженной активностью и действовали только в отношении единичных штаммов микроорганизмов, либо вовсе не проявляли антимикробную активность (10,2%).

Заключение. Проведённый нами мониторинг чувствительности к антимикробным препаратам перечисленных микроорганизмов позволил констатировать общие тенденции нарастания антибиотикорезистентности изученных патогенов.

Ключевые слова: нозокомиальные инфекции, антибиотикорезистентность, новые антибиотики, скрининг, репортерные штаммы, диско-диффузионный метод.

K.Yu. Shvets^{1,2}, *Al.Kh. Baimiev*^{1,2}, *A.R. Mavzutov*², *A.Kh. Baimiev*^{1,2},
*R.T. Matniyazov*¹, *A.D. Khabirova*^{2,3}, *Z.R. Garipova*², *G.F. Khasanova*²

STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF NEW ANTI-BACTERIAL COMPOUNDS AGAINST CONDITIONALLY PATHOGENIC MICROORGANISMS

¹ Institute of Biochemistry and Genetics, Ufa Federal Research Center of RAS, Ufa, Russia

² Bashkir State Medical University, Ufa, Russia

³ Bashkir State University, Ufa, Russia

Aim. Investigation of new chemical compounds selected using the pDualrep2 reporter construct for activity against clinically significant microorganism strains *Escherichia coli*, *Klebsiellapneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*.

Materials and methods. The study included 166 compounds with an unknown mechanism

of action. Test strains of microorganisms: *E. coli* (No. 25922 ATCC), *K. pneumoniae* (No. 181210171-2), *P. aeruginosa* (No. 27853 ATCC), *S. aureus* (No. 206 ATCC USA) and *C. albicans* (No. 181210169-1). The sensitivity of microorganisms to antibiotics was determined by the disk diffusion method.

Results. The sensitivity of test-strains of the microorganisms was monitored. antimicrobial preparations of various chemical nature. According to the results of the analysis, all studied microorganism strains showed significant variability with respect to modern antibiotics with pronounced multiresistance in *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, and *C. albicans*. 4.8% of chemical compounds showed activity against all studied microorganisms, and the remaining antibiotic molecules had less pronounced activity and acted only against single strains of microorganisms, or did not show antimicrobial activity at all (10.2%)

Conclusion. Our monitoring of the sensitivity to antimicrobial agents of these microorganisms allowed us to state the general tendencies of an increase in the antibiotic resistance of the studied pathogens.

Key words: nosocomial infections, antibiotic resistance, new antibiotics, screening, reporter strains, disk diffusion method.

Введение

Инфекционно-воспалительные заболевания, в частности внутрибольничные (нозокомиальные, госпитальные) инфекции, вызываемые условно-патогенными микроорганизмами, на протяжении многих столетий были и остаются наиболее опасными болезнями человеческого организма из-за их способности вовлечь в процесс большое число здоровых людей в течение короткого периода времени [4, 6-8]. Эта проблема носит междисциплинарный характер в силу особенностей эпидемиологии данных заболеваний, разнообразия их нозологических форм и клинических проявлений, а также своеобразия этиологии, патогенеза и спектра возбудителей указанной патологии.

Наиболее часто выделяемыми нозокомиальными патогенными микроорганизмами являются *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* [1-3]. Примерно в каждом десятом случае нозокомиальных инфекций возбудителем выступает один из самых опасных оппортунистических патогенов *Pseudomonas aeruginosa*. Реже встречаются микроорганизмы *Candida albicans* и *Klebsiella pneumoniae* [5].

В настоящее время резко снизилось количество эффективных в отношении перечисленных микроорганизмов антибиотиков, что связано, в первую очередь, с распространением среди возбудителей антибиотикорезистентности, вероятно ассоциированной с явлением сцепления генов устойчивости к антибиотикам с другими детерминантами резистентности. В связи с этим по-

иск новых антимикробных препаратов имеет первостепенное значение.

Цель настоящей работы – исследование новых химических соединений, отобранных с помощью репортерной конструкции pDualrep2, на предмет активности в отношении клинически значимых микроорганизмов *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* и *Candida albicans*.

Материалы и методы

В исследование были включены 166 разнородных по химическому строению соединений с неизвестным механизмом действия. Отбор активных веществ проводился с использованием репортерной конструкции pDualrep2 в штамме *E. coli* ΔtolC [9]. Данная система позволяет определять антибактериальное действие соединения по механизму ингибирования процесса трансляции, биосинтеза белка, либо по механизму индукции SOS-ответа в ответ на многочисленные повреждения ДНК. Экспериментальную группу нашего исследования составили соединения (n=166), для которых механизм действия таким образом определить не удалось.

Далее проводили количественную оценку цитотоксичности антибиотиков с использованием 3 типов клеток: HEK293, A549, MCF7. Результаты оценки, полученные в данном исследовании *in vitro*, позволили проследить различную степень цитотоксичности данных препаратов и исключить из дальнейшего исследования 9 различных по химическому строению соединений, обладающих цитотоксическим действием, близким к пороговому значению в 50% выживаемости клеток.

Для анализа антимикробной активности химических соединений были использованы следующие тест-штаммы микроорганизмов: *Escherichia coli* (№25922 ATCC), *Klebsiella pneumoniae*(№181210171-2), *Pseudomonas aeruginosa* (№27853 ATCC), *Staphylococcus aureus* (№206 ATCC USA) и *Candida albicans* (№181210169-1). Чувствительность микроорганизмов к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом на агаре Мюллера-Хинтона («HiMedia», Индия). Исследуемые химические соединения растворяли в диметилсульфоксиде (ДМСО) (конечная концентрация 100 мМ) и закапывали по 1 мкл на поверхность питательной среды с нанесенной культурой микроорганизма. Чашки Петри инкубировали при 37°C в течение 18-24 часов, затем фотографировали на фотодокументационной системе GelDoc™ XR+GelDocumentationSystem (Bio-Rad).

Результаты и обсуждения

Исследование антимикробной активности отобранных химических соединений в отношении условно-патогенных микроорганизмов *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* и *C. albicans* проводили с помощью диско-диффузионного метода.

Проведённый нами мониторинг чувствительности к антимикробным препаратам перечисленных микроорганизмов позволил констатировать общие тенденции нарастания антибиотикорезистентности изученных патогенов. Все изученные нами штаммы обладали разными антибиотикограммами к традиционным препаратам и значительной вариабельностью по чувствительности к современным антибиотикам с выраженной полирезистентностью у *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Candida albicans*. Стоит отметить, что 4,8% химических соединений проявляли активность в отношении всех исследуемых микроорганизмов. Остальные соединения обладали менее выраженной активностью и действовали только в отношении единичных штаммов микроорганизмов, либо вовсе не проявляли антимикробную активность (10,2%) в отношении тестируемых штаммов.

При оценке результатов определения чувствительности изученных нами штаммов грамотрицательных бактерий к действию антибиотиков обращает на себя внимание тот факт, что наиболее эффективными в отношении *E. coli* были 46,4% всех соединений, однако диаметр зон подавления бактериального роста в таком случае не превышал 4 мм (рис. 1 и 2).

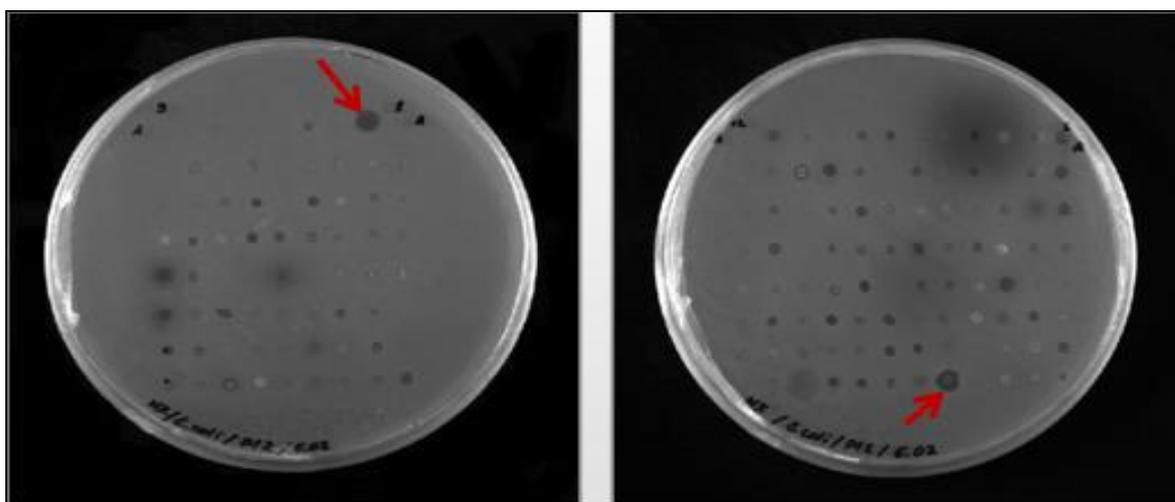


Рис. 1 и 2. Результат анализа 166 образцов при помощи тест-штамма *Escherichia coli* ATCC 25922.

Иная картина наблюдалась при оценке антимикробной активности молекул-антибиотиков в отношении *P. aeruginosa*. Наиболее выраженный характер наблюдался при культивировании этих бактерий в присутствии 13 веществ, причем 2 вещества обладали достаточно выраженным антибактериальным действием – зона подавления роста от 16 до 20 мм (рис. 3 и 4).

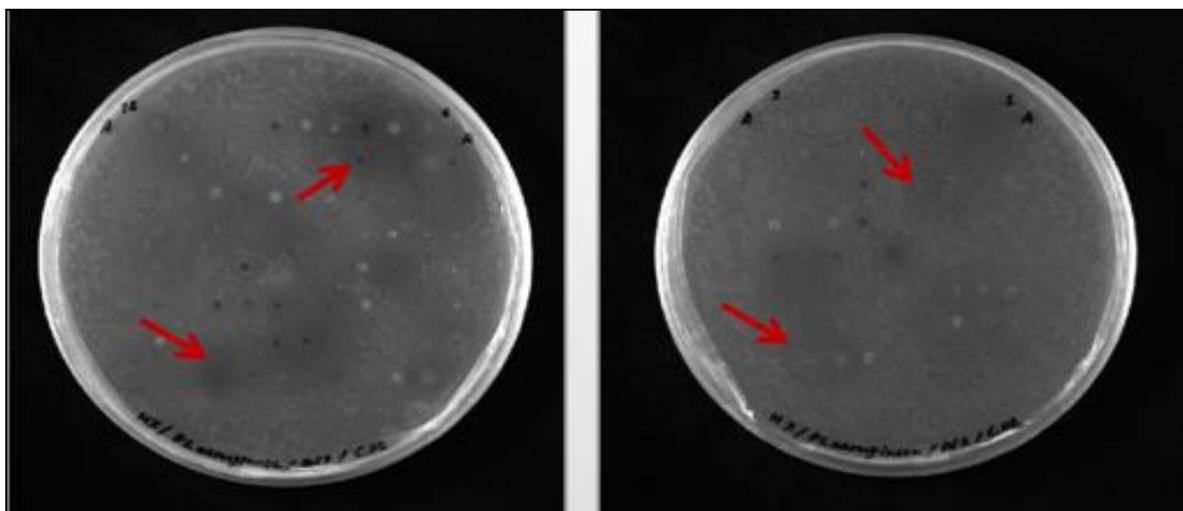


Рис. 3 и 4. Результат анализа 166 образцов при помощи тест-штамма *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

Как было указано выше, музейный штамм *K. pneumoniae* проявлял выраженную полирезистентность в отношении исследуемых антибиотиков (рис. 5 и 6). Всего активностью обладали 62 соединения, однако полученная картина была схожа с результатами, полученными для *E. coli*, и диаметр зоны подавления роста не превышал 4 мм.

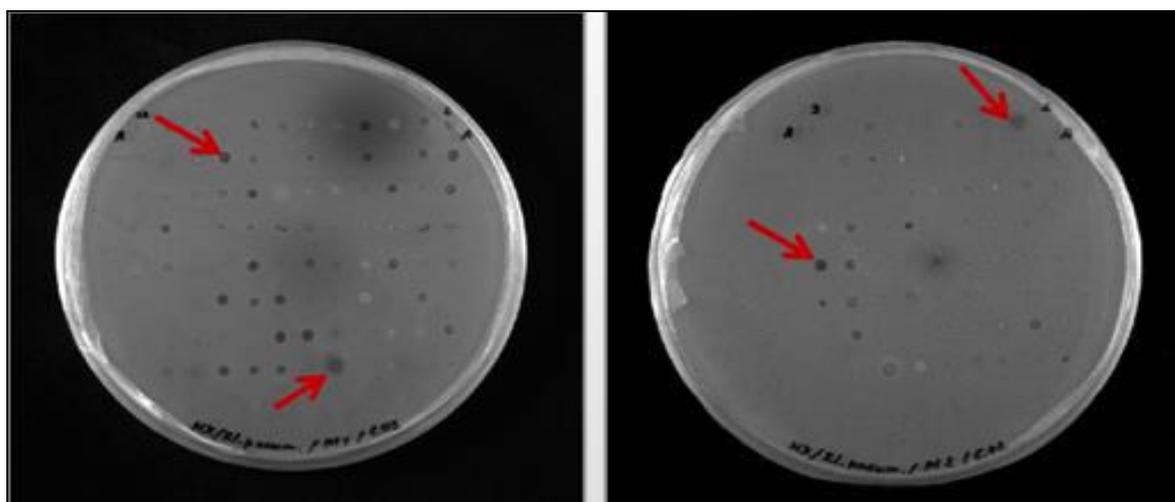


Рис. 5 и 6. Результат анализа 166 образцов при помощи тест-штамма *Klebsiella pneumoniae* 181210171-2.

Аналогичная ситуация наблюдалась и в отношении грибов рода *Candida* spp. В общей сложности лишь 16,9% из всех соединений проявляли минимальную активность в отношении штамма (рис. 7 и 8).

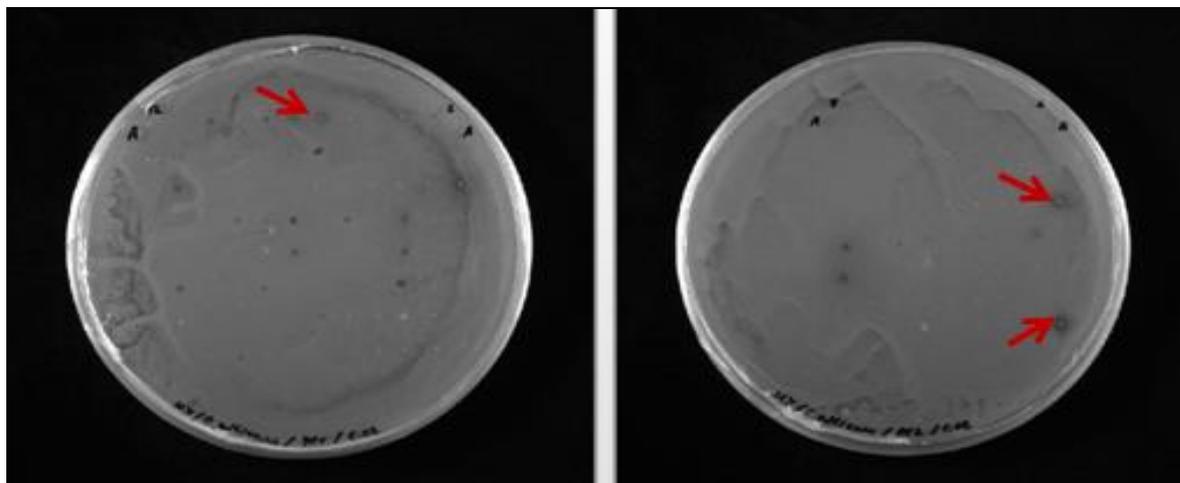


Рис. 7 и 8. Результат анализа 166 образцов при помощи тест-штамма *Candida albicans* 181210169-1.

Исследование чувствительности штамма *Staphylococcus aureus* к новым тестируемым антибиотикам показало достаточно высокую эффективность препаратов (рис. 9 и 10).

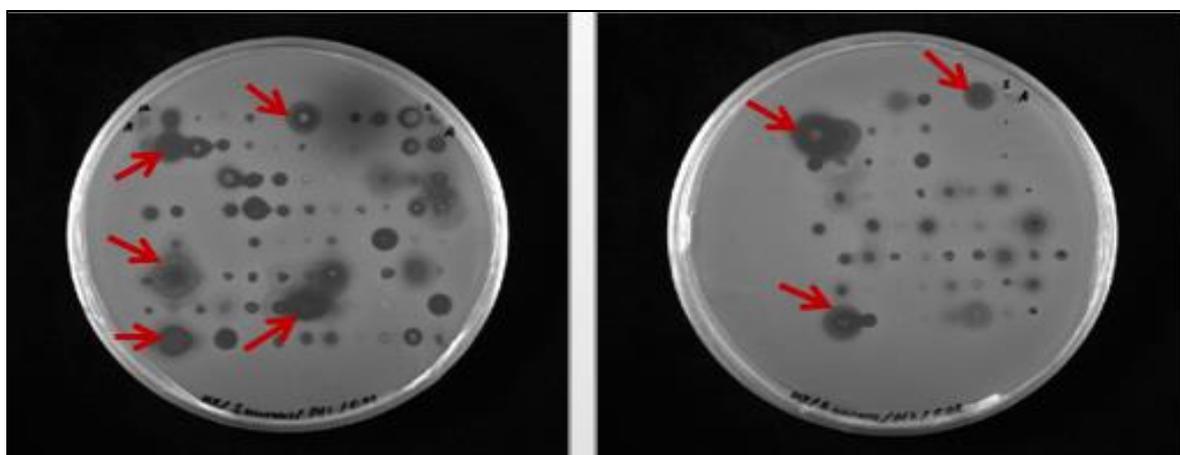


Рис. 9 и 10. Результат анализа 166 образцов при помощи тест-штамма *Staphylococcus aureus* ATCC USA 206.

Согласно полученным данным в отношении данного вида микроорганизма были активны 99 соединений (59,6%), причем 21% из этих соединений обладали выраженным действием в отношении штамма (зона подавления роста от 7 до 25 мм).

Заключение

Проведённый нами мониторинг чувствительности к антимикробным препаратам изученных микроорганизмов позволил констатировать общие

тенденции нарастания антибиотикорезистентности изученных патогенов. Все исследованные штаммы обладали вариабельной чувствительностью по отношению к современным антибиотикам с выраженной полирезистентностью к ним у *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Candida albicans*.

Часть химических соединений (4,8%) проявляли активность в отношении всех исследованных микроорганизмов. Остальные соединения обладали менее выраженной активностью и действовали только в отношении единичных штаммов микроорганизмов, либо вовсе не проявляли антимикробную активность (10,2%).

*(Работа выполнена при финансовой поддержке гранта РФФ (№17-74-30012)
"Новый рациональный подход к разработке антибактериальных и противоопухолевых лекарственных молекул с применением технологии ВПС")*

ЛИТЕРАТУРА

1. Мавзютова Г.А., Фазлыева Р.М., Мавзютов А.Р., Кузовкина О.З., Хасанова Г.Ф. Клинические и микробиологические особенности внебольничной пневмонии. Курский научно-практический вестник Человек и его здоровье. 2010. № 2: 96-101.
2. Файзуллина Г.А., Мавзютов А.Р. Особенности микрофлоры раневого отделяемого при фурункулезе челюстно-лицевой области. Инфекционные болезни. 2010. Т. 8. № 1: 335-336.
3. Хасанова Г.Ф., Хазеева Г.Д., Мавзютов А.Р., Жарикова Н.В., Хасанова С.Г., Шодиева Н.О. Этиология нозокомиальных инфекций мочевыводящих путей, вызванных неферментирующими грамотрицательными бактериями, антибиотикочувствительность выделенных штаммов. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2010. Т. 12. № 2: 53.
4. Chandy M., Bhattacharya S. The problem of multi-drugresistant Gram-negative Infections among Cancer patients in Eastern India. Book of Abstracts the 11th Indo-Australian Biotechnology conference on innovation in the immunology of infection, cancer and autoimmune diseases and vaccines. 2015: 39.
5. Kumar A., Ellis P, Arabi Y., Roberts D., Light B., Parrillo J.E., Dodek P., Wood G., Kumar A., Simon D., Peters C., Ahsan M., Chateau D. Cooperative Antimicrobial Therapy of Septic Shock Database Research Group. Initiation of in appropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septicshock. Chest. 2009. 136(5): 1237-1248.
6. Kuti J.L. Optimizing antimicrobial pharmacodynamics: a guidefor your steward ship program. Revista Médica Clínica Las Condes. 2016. 27(5): 615-624.
7. Marin H.K., Yoav G., Scott T.M., Andrew F.S., Marcos I.R., Appraising Contemporary Strategies to Combat Multidrug Resistant Gram-Negative Bacterial Infections—Proceedings and Data From the Gram-Negative Resistance Summit. Clin Infect Dis. 2011. 53(2): 33-55.
8. Martin E., Sanjay B., Bärbel C., Jürgen G., Peter G.B., Philippe H., Peter H., Carola I., Axel K., Elaine L., Wolfgang M., Martin M., Peter O., Birgit R., Manfred R., Ricarda M.S., Hans-Günther S., Matthias T. Antibioticresistance: What is sospecial about multidrug-resistant Gram-negative bacteria. GMS Hyg Infect Control. 2017. 12: 37-45.
9. Osterman I.A., Komarova E.S., Shiryaev D.I., Korniltsev I.A., Khven I.M., Lukyanov D.A., Tashlitsky V.N., Serebryakova M.V., Efremenkova O.V., Ivanenkov Y.A., Bogdanov A.A., Sergiev P.V., Dontsova O.A. Sorting out antibiotics' mechanisms of action: A double fluorescent protein reporter for high-throughput screening of ribosome and DNA biosynthesis inhibitors. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2016. 12: 7481-7489.

Поступила 29 августа 2019 г.

(Контактная информация: **Мавзютов Айрат Радикович** - д.м.н., профессор, зав. кафедрой фундаментальной и прикладной микробиологии Башкирского государственного медицинского университета; адрес: 450008, Республика Башкортостан, г. Уфа, ул. Ленина, д. 3; тел: 8 (347) 276-19-60; e-mail: ufalab@mail.ru).

LITERATURA

1. Mavzyutova G.A., Fazlyeva R.M., Mavzyutov A.R., Kuzovkina O.Z., Khasanova G.F. Clinical and microbiological features of community-acquired pneumonia. Kursk scientific and practical bulletin Man and his health. 2010. No. 2. S. 96-101.
2. Fayzullina G.A., Mavzyutov A.R. Features of the microflora of the wound discharge during furunculosis of the maxillofacial region. Infectious diseases. 2010. T. 8. No. S1. S. 335-336.
3. Khasanova G.F., Khazeyeva G.D., Mavzyutov A.R., Zharikova N.V., Khasanova S.G., Shodiyaeva N.O. Etiology of nosocomial urinary tract infections caused by non-fermenting gram-negative bacteria, antibiotic sensitivity of the isolated strains. Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy. 2010. V. 12. No. 2 S1. S.
4. Chandy M., Bhattacharya S. The problem of multi-drug resistant Gram-negative Infections among Cancer patients in Eastern India. Book of Abstracts the 11th Indo-Australian Biotechnology conference on innovation in the immunology of infection, cancer and autoimmune diseases and vaccines. 2015; 39.
5. Kumar A., Ellis P, Arabi Y., Roberts D., Light B., Parrillo J.E., Dodek P., Wood G., Kumar A., Simon D., Peters C., Ahsan M., Chateau D. Cooperative Antimicrobial Therapy of Septic Shock Database Research Group. Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. Chest. 2009; 136(5): 1237-1248.
6. Kuti J.L. Optimizing antimicrobial pharmacodynamics: a guide for your stewardship program. Revista Médica Clínica Las Condes. 2016;27(5):615-624.
7. Marin H.K., Yoav G., Scott T. M., Andrew F.S., Marcos I.R. Appraising Contemporary Strategies to Combat Multidrug Resistant Gram-Negative Bacterial Infections—Proceedings and Data From the Gram-Negative Resistance Summit, Clin Infect Dis. 2011; 53(2): 33–55.
8. Martin E., Sanjay B., Bärbel C., Jürgen G., Peter G. B., Philippe H., Peter H., Carola I., Axel K., Elaine L., Wolfgang M., Martin M., Peter O., Birgit R., Manfred R., Ricarda M. S., Hans-Günther S., Matthias T. Antibiotic resistance: What is so special about multidrug – resistant Gram – negative bacteria, GMS Hyg Infect Control. 2017; 12: 37-45.
9. Osterman I.A., Komarova E.S., Shiryaev D.I., Korniltsev I.A., Khven I.M., Lukyanov D.A., Tashlitsky V.N., Serebryakova M.V., Efremenkova O.V., Ivanenkov Y.A., Bogdanov A.A., Sergiev P.V., Dontsova O.A. Sorting out antibiotics' mechanisms of action: A double fluorescent protein reporter for high-throughput screening of ribosome and DNA biosynthesis inhibitors, Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 2016; 12: 7481-7489.

Образец ссылки на статью:

Швец К.Ю., Баймиев Ал.Х., Мавзютов А.Р., Баймиев А.Х., Матниязов Р.Т., Хабилова А.Д., Гарипова З.Р., Хасанова Г.Ф. Изучение антимикробной активности новых антибактериальных соединений в отношении условно-патогенных микроорганизмов. Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2019. №3. 7с. [Электр. ресурс] (URL: <http://elmag.uran.ru:9673/magazine/Numbers/2019-3/Articles/KYS-2019-3.pdf>).

DOI: 10.24411/2304-9081-2019-13016