

Л.П.ТРЕНОЖНИКОВА, А.Х.ХАСЕНОВА, Г. Д.УЛТАНБЕКОВА,
С.Ш.ШАКИЕВ, Г.К.ТАУБЕКОВА

РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ПРИРОДНЫХ АНТИБИОТИКОВ, ОБРАЗУЕМЫХ АКТИНОМИЦЕТАМИ ЮЖНОГО КАЗАХСТАНА

Аннотация

Природные антибиотики проявили разную активность, как против грамположительных, так и грамотрицательных тест-микроорганизмов. Уровень антибиотической активности препаратов изменялся в пределах от 0 до 200000 ед.разведения/мл. Наиболее высокую активность (100000 - 200000 ед.разведения/мл) против грамположительных бактерий (*S. aureus* 209 P, мутантов стафилококка УФ-2 и УФ-3, *Bacillus subtilis* ATCC 6633) проявили антибиотики КА003А, КА010L, КА015А, КА015В, КА027Е, КА087ВКА031С, КА030С, КА049А; против *Escherichia coli* J53 pMG223 – антибиотики КА003А, КА015А КА015В, КА031С, КА049А.

Ключевые слова: природные антибиотики, актиномицеты

Резистентность к антимикробным препаратам имеет огромное социально-экономическое значение и в развитых странах мира рассматривается как угроза национальной безопасности. На протяжении последних лет отмечается, как увеличение распространения резистентных возбудителей инфекций, так и возрастание уровня их резистентности к антибактериальным препаратам [1-3]. Список "проблемных" возбудителей нозокомиальных инфекций постоянно расширяется. Тяжелые инфекции (сепсис, менингит, пневмония), вызванные устойчивыми штаммами, сопровождаются более высокой частотой летальных исходов [4]. В случае заболеваний, вызванных полирезистентной флорой, общая стоимость лечения увеличивается в несколько раз за счет большей длительности пребывания больного в стационаре, использования дорогостоящих антибиотиков второго или третьего ряда, длительности их применения, увеличения числа диагностических и лечебных процедур [1,3]. Среди грамотрицательных микроорганизмов к наиболее «проблемным» следует отнести таких представителей семейства *Enterobacteriaceae*, как *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.* [6]. Из неферментирующих микроорганизмов основное значение имеют *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacte spp.* [7]. Среди грамположительных микроорганизмов множественная лекарственная устойчивость наиболее распространена у *Staphylococcus aureus* и коагулазонегативных стафилококков, а также *Enterococcus spp.* [8-9]. Лечение инфекций, вызванных этими возбудителями, является одной из самых сложных проблем клинической химиотерапии из-за тяжести этих заболеваний и множественности механизмов устойчивости у микроорганизмов.

Антибиотикорезистентность возбудителей нозокомиальных инфекций является в настоящее время глобальной проблемой, существенно лимитирующей эффективность стандартных режимов эмпирической терапии и определяющей необходимость изыскания новых высокоэффективных природных антибиотиков, активных в отношении проблемных полирезистентных микроорганизмов [10-12].

Целью данных исследований являлось изучение антибактериального действия природных антибиотиков, выделенных из актиномицетов почв Южного Казахстана, в отношении грамположительных и грамотрицательных тест-микроорганизмов.

Материалы и методы

Для получения спорового материала штаммы актиномицетов выращивали в течение 10 дней при температуре 28° на агаре № 1 Гаузе или овсяном агаре. Биосинтез антибиотиков осуществляли в колбах Эрленмейера вместимостью 750 мл в объеме питательной среды 100 мл на круговой качалке (180-200 об/мин) при температуре 28° С в течение 96 часов.

При изучении биосинтеза антибиотиков использовали известные питательные среды следующего состава (%):

Среда соевая А4: глюкоза-1,5; соевая мука-1,5; NaCl-0,5; CaCO₃ - 0,2; pH 7,2-7,4.

Среда гороховая: гороховая мука-1,5; сахароза-2,1; крахмал-0,85; NaNO₃ -0,5; CaCO₃ -0,5; NaCl-0,5; pH 7,5-7,7.

Среда с дрожжевым экстрактом: дрожжевой экстракт-0,5; пептон-1,0; глюкоза-2,0; CaCO₃ -0,2; pH 7,3.

Антибиотики извлекали из культуральной жидкости экстракцией н-бутанолом при pH 7,0. Бутанольный экстракт упаривали на ротационном испарителе, и активное вещество переводили в 50% этанол.

Антимикробную активность препаратов антибиотиков изучали методом двукратных серийных разведений на питательном бульоне [13]. Антибиотическую активность выражали в условных единицах: 1 условная единица была равна минимальному количеству антибиотических веществ, препятствующих росту тест-микроорганизмов при засеве из расчета 10⁵ спор на 1мл среды. Микроорганизмы инкубировали при температуре 37° С в течение 24 часов.

Результаты и их обсуждение

Проведено изучение антибактериальных свойств 26 препаратов-сырцов природных антибиотиков в отношении грамположительных и грамотрицательных лабораторных тест-микроорганизмов. Антимикробная активность антибиотиков изучена против грамположительных (*S. aureus* 209 P, мутантов стафилококка УФ-2 и УФ-3, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus anthracis* (I вакцина Ценковского), *Bacillus anthracoides*, *Pasteurella multocida*) и грамотрицательных (*Comamonas terrigena* ATCC 8461, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*) лабораторных тест-микроорганизмов. Данные по антибактериальным свойствам препаратов антибиотиков приведены в таблицах 1-2.

Таблица 1 - Антибактериальные свойства природных антибиотиков в отношении грамположительных тест-микроорганизмов

Номер антибиотика	Антибиотическая активность, ед.разведения/мл						
	<i>S. aureus</i> 209 P	Мутант стафилококка УФ-2	Мутант стафилококка УФ-3	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Bacillus anthracis</i> , (I вакцина Ценковского)	<i>Bacillus anthracoides</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
1	2	3	4	5	6	7	8
КА003А	200000	200000	200000	200000	200000	40000	40000
КА004/6	20000	20000	20000	20000	20000	2000	200
КА005А	16000	16000	16000	6000	6000	4000	100
КА008А	16000	20000	20000	20000	16000	1000	800
КА010F	20000	24000	24000	20000	20000	16000	16000
КА010L	200000	200000	160000	200000	20000	20000	20000
КА015А	200000	160000	160000	200000	40000	24000	24000
КА015В	160000	160000	160000	160000	100	100	16000
КА015F	8000	2000	2000	4000	1000	4000	4000
КА022D	8000	4000	4000	4000	4000	4000	2000
КА024А	80000	80000	80000	80000	8000	8000	8000
КА027Е	160000	160000	160000	160000	4000	0	0
КА030А	40000	80000	80000	40000	80000	0	0
КА030С	100000	100000	100000	100000	80000	20000	100

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5	6	7	8
КА031А	160000	80000	80000	160000	24000	24000	4000
КА031В	80000	80000	80000	160000	200000	24000	4000
КА031С	160000	100000	100000	160000	800	100	800
КА035Е	24000	160000	160000	100000	40000	8000	4000
КА038В	20000	100000	100000	100000	40000	100	0
КА049А	100000	100000	100000	100000	160000	100	0
КА068В	4000	4000	2000	4000	2000	0	0
КА075С	160000	80000	80000	160000	4000	0	0
КА087В	160000	160000	160000	160000	100	0	0
КА094А	40000	80000	80000	80000	24000	800	100
КА094В	8000	10000	8000	4000	4000	0	0
КА094Е	800	4000	2000	2000	200	0	0

Наиболее высокую активность против *S. aureus* 209 Р, мутантов стафилококка УФ-2 и УФ-3, *Bacillus subtilis* АТСС 6633 проявили антибиотики КА003А (200000 ед.разведения/мл); КА010L, КА015А (160000-200000 ед.разведения/мл); КА015В, КА027Е, КА087В (160000 ед. разведения /мл); КА031С (100000-160000 ед. разведения /мл); КА030С, КА049А (100000 ед. разведения /мл); КА031А, КА031В, КА075С (80000-160000 ед. разведения /мл), КА035Е (24000-160000 ед. разведения /мл); КА038В (20000-100000 ед.разведения/мл). Высокой активностью против *Bacillus anthracis* (I вакцины Ценковского) обладали препараты антибиотиков КА003А, КА031В (200000 ед.разведения/мл) и КА049А (160000 ед.разведения/мл). В отношении *Bacillus anthracoides* и *Pasteurella multocida* антибиотики были значительно менее активны, самой высокой активностью обладали препараты КА003А (40000 ед. разведения /мл), КА015А (24000 ед. разведения /мл), КА010L (20000 ед. разведения /мл), КА031А, КА031В (4000-24000 ед. разведения /мл). Антибиотики КА027Е, КА030А, КА038В, КА049А, КА068В, КА075С, КА087В, КА094В, КА094Е были неактивны против *Pasteurella multocida*.

Наиболее высокую активность против лабораторных штаммов грамположительных тест-микроорганизмов проявили антибиотики КА003А, КА010L, КА010F, КА015А, КА031А, КА031В. Наименее активными в отношении лабораторных штаммов грамположительных тест-микроорганизмов были антибиотики КА015F, КА022D, КА068В, КА094В, КА094Е.

Таблица 2 - Антибактериальные свойства природных антибиотиков в отношении грамотрицательных тест-микроорганизмов

Номер антибиотика	Активность, ед.разведения/мл		
	<i>Commamonas terrigena</i> АТСС 8461	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
1	2	3	4
КА003А	100000	200000	16000
КА004/6	16000	16000	0
КА005А	2000	16000	8000
КА008А	1000	1000	0
КА010F	16000	40000	2000
КА010L	80000	80000	2000
КА015А	24000	100000	2000
КА015В	10000	200000	0
КА015F	2000	8000	0
КА022D	40000	24000	80
КА024А	10000	8000	800
КА027Е	1000	20000	100
КА030А	100	24000	100
КА030С	10000	80000	0
КА031А	40000	160000	2000
КА031В	40000	80000	2000
КА031С	80000	160000	2000
КА035Е	20000	40000	0

Продолжение таблицы 2

1	2	3	4
КА038В	2000	40000	16000
КА049А	0	100000	100
КА068В	0	2000	0
КА075С	16000	8000	0
КА087В	24000	40000	800
КА094А	2000	80000	0
КА094В	2000	20000	0
КА094Е	200	400	0

В отношении грамотрицательных тест-микробов исследуемые природные антибиотики также проявили высокую активность. Наиболее активными против лабораторного штамма *Commamonas terrigena* ATCC 8461 были антибиотики КА003А (100000 ед.разведения/мл), КА010L и КА031С (80000 ед.разведения/мл), против лабораторного штамма *Escherichia coli* – антибиотики КА003А, КА015В (200000 ед.разведения/мл); КА031А, КА031С (160000 ед.разведения/мл), КА049А (100000 ед.разведения/мл). Наименее активными природные антибиотики были против *Proteus mirabilis*, самую высокую активность проявили препараты КА003А и КА038В (16000 ед.разведения/мл), КА005А (8000 ед.разведения/мл), остальные были слабоактивными или неактивными.

Наиболее высокую активность против лабораторных штаммов грамотрицательных тест-микробов проявили антибиотики КА003А, КА015А, КА031А, КА031С, КА049А. Наименее активными в отношении грамотрицательных тест-микробов были природные антибиотики КА08А, КА015F, КА024А, КА068В, КА094Е.

Антибиотики КА003А, КА015А, КА015В, КА031С, КА049А проявили высокую активность против грамположительных бактерий (*S.aureus* 209 P, мутантов стафилококка УФ-2 и УФ-3, *Bacillus subtilis* ATCC 6633) и, одновременно, против *Escherichia coli* J53 pMG223 – 100000 - 200000 ед.разведения/мл.

Таким образом, исследуемые природные антибиотики проявили активность, как против грамположительных, так и грамотрицательных тест-микробов и могут быть охарактеризованы как антибактериальные антибиотики широкого спектра действия.

Литература:

- 1 Козлов Р.С., Стецюк О.У., Андреева И.В. Современные тенденции антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ России: что нас ждет дальше? // Журнал интенсивной терапии. - 2007. - №4. – С.43-49.
- 2 Cardo D., Horan T., Andrus M. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. A report from the NNIS System // AmJ Infect Control. - 2004. –Vol.32. –P.470-485.
- 3 Сидоренко С.В. Исследования распространения антибиотикорезистентности: практическое значение для медицины // Инфекции и антимикробная терапия. - 2002. – Т. 4, №2. – С.38-41.
- 4 Tumbarello M., Sanguinetti M., Montuori E. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: importance of inadequate initial antimicrobial treatment // Antimicrob Agents Chemother. – 2007. - Vol.51. – P.1987-1994.
- 5 Peralta G., Sanchez M.B., Garrido J.C. Impact of antibiotic resistance and of adequate empirical antibiotic treatment in the prognosis of patients with *Escherichia coli* bacteraemia // J Antimicrob Chemother. - 2007. –Vol. 60. - P.855-863.
- 6 Schwaber M.J., Carmeli Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis // J Antimicrob Chemother. - 2007. – Vol.60.- P.913-920.
- 7 Решедько Г.К., Рябкова Е.Л., Кречикова О.И. Антибиотикорезистентность грамотрицательных возбудителей нозокомиальных в отделениях реанимации и интенсивной терапии России // Клинический микробиологический журнал. – 2008. – Т.10, №1. - С.28-35.
- 8 Страчунский Л.С., Дехнич А.В., Эдельштейн И.А. Эпидемиология антибиотикорезистентности нозокомиальных штаммов *Staphylococcus aureus* в России: результаты

многоцентрового исследования // Клин Микробиол Антимикроб Химиотер. – 2002. – Т. 4, № 4. – С.325-336.

9 Alvarez-Lerma F., Grau S., Gracia-Arnillas M.P. Gram-positiv ecocci infection sinintensivicare: guidetoantibacterial selection // Drugs. – 2006. –Vol.66. – P.751-768.

10 Talbot G.H., Bradley J., Edwards J.E. Jr.Bad bugs need drugs: an update on the development pipeline from the Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America //Clin Infect Dis. - 2006. –Vol. 42, № 5.– P.657-668.

11 Newman D.J., Cragg M.G. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years // J. Nat. Prod. - 2007. - Vol.70, P.461-477.

12 Demain A.L. Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms // Appl. Microbiol. Biotechnol. - 1999. –Vol.52. – P.455–63.

13 МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2004. – Т.6, №4. - С. 306-359.

Түйін

ТРЕНОЖНИКОВА Л.П., ХАСЕНОВА А.Х., УЛТАНБЕКОВА Г. Д.,
ШӘКИЕВ С.Ш., ТАУБЕКОВА Г.К.

ЕМК«Микробиология және вирусология институты» ҒКБҒМҚР, Алматы

ОҢТҮСТІК ҚАЗАҚСТАНДАҒЫ АКТИНОМИЦЕТТЕР ТҮЗЕЛЕТІН ТАБИҒИ АНТИБИОТИКТЕРДЫҢ АНТИБАКТЕРИАЛДЫҚ ҚАСИЕТТЕРІ.

Грам-оң және грам-терістест-микроорганизмдерге қарсы табиғи антибиотиктер әр түрлі белсенділік көрсетті. Препараттардың антибиотикалық белсенділік деңгейі 0-200000 аралықта өзгеріп тұрады. КА003А, КА010L, КА015А, КА015В, КА027Е, КА087В, КА031С, КА030С, КА049А антибиотиктер грам-оң бактерияларға (*S. aureus* 209 P, мутантов стафилококка УФ-2 и УФ-3, *Bacillus subtilis* ATCC 6633) қарсы ең жоғары белсенділік көрсетті (100000 - 200000 ед.разведения/мл).КА003А, КА015А, КА015В, КА031С, КА049А антибиотиктер *Escherichia coli* J53 pMG223 қарсы жоғары белсенділік көрсетті.

TRENOZHNIKOVA L.P., KHASENOVA A.H., ULTANBEKOVAG.D.,
SHAKIEV S.SH., TAUBEKOVA G.K.

Institute of Microbiology and Virology, Committee of Science, Ministry of Education and
Science, Republic of Kazakhstan

ANTIBACTERIAL PROPERTIES OF NATURAL ANTIBIOTICS PRODUCED BY ACTINOMYCETES OF THE SOUTH KAZAKHSTAN

Summary

Natural antibiotics revealed varied activity against both gram-positive and gram-negative test organisms. The level of antibiotic activity of the preparations changed from 0 to 200,000 dilution unit/ml. The highest activity (100,000-200,000 dilution unit/ml) against gram-positive bacteria (*S. aureus* 209 P, UF-2 and UF-3 staphylococcal mutants, *Bacillus subtilis* ATCC 6633) was exhibited by antibiotics КА003А, КА010L, КА015А, КА015В, КА027Е, КА087В, КА031С, КА030С, КА049А; against *Escherichia coli* J53pMG223 – by antibiotics КА003А, КА015А, КА015В, КА031С, КА049А.

Key words: antibacterial properties, antibiotics, actinomycet

Antimicrobial drug resistance is of great socio-economic importance, and in the developed countries of the world is regarded as a threat to national security. Over the past years there is both an increase in the spread of resistant pathogens and growth of their resistance level to antimicrobial drugs [1-3]. The list of “problematic” agents of nosocomial infections is constantly expanding. Severe infections (sepsis, meningitis, pneumonia) caused by resistant strains are accompanied by a higher rate of fatal outcomes [4]. In the case of diseases caused by multi-resistant flora, the total cost of treatment is increased by several times due to the longer duration of hospital stay, usage of expensive antibiotics of second or third row, duration of their administration, increasing the number of diagnostic and therapeutic procedures [1, 3]. Among gram-negative organisms, such members of the family *Enterobacteriaceae*, as *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, should be related to the most “problematic” [6]. Of the non-fermenting microorganisms *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter spp.* are of primary importance [7]. Among gram-positive bacteria, multidrug resistance is most common in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci, and *Enterococcus spp.* [8-9]. Treatment of infections caused by these pathogens is one of the most difficult problems of clinical chemotherapy due to the severity of these diseases and multiplicity of resistance mechanisms in microorganisms.

Antibiotic resistance of pathogens causing nosocomial infections is currently a global issue, significantly limiting the effectiveness of the standard modes in empirical therapy and determining the demand for new high-efficiency natural antibiotics active against problematic multi-resistant microorganisms [10-12].

The purpose of this research was to study the antibacterial activity of natural antibiotics, isolated from actinomycetes of the South Kazakhstan soil, against gram-positive and gram-negative test organisms.

Materials and methods

To produce spore material the actinomycetes strains were cultivated during 10 days at a temperature of 28⁰C on Gauze No. 1 agar or oatmeal agar. The antibiotic biosynthesis was carried out in the 750 ml Erlenmeyer flasks in the medium volume of 100 ml on a rotary shaker (180-200 rev/min) at 28⁰C for 96 hours.

While studying the antibiotic biosynthesis, the known nutritive media of the following composition (%) were used:

Soya medium A4 : glucose-1.5; soya flour -1.5; NaCl – 0.5; CaCO₃ - 0.2; pH 7.2-7.4.

Pea medium: pea flour-1.5; sucrose - 2.1; starch - 0.85; NaNO₃ –0.5; CaCO₃ -0.5; NaCl-0.5; pH 7.5-7.7.

Yeast extract medium: yeast extract - 0.5; peptone -1.0; glucose -2.0; CaCO₃ - 0.2; pH 7.3.

Antibiotics were extracted from the culture fluid with n-butanol at pH 7.0. The butanol extracts were evaporated in a rotary evaporator, and the active substance transferred to the 50% ethanol.

Antimicrobial activity of antibiotic preparations was studied using the two-fold serial dilution technique on nutrient broth [13]. The antibiotic activity was expressed in arbitrary units: 1 arbitrary unit is equal to the minimum amount of antibiotic substances that prevent the growth of the test organisms at inoculation rate of 10⁵ spores per 1 ml of medium. Microorganisms were incubated at 37⁰C for 24 hours.

Results and Discussion

A study on the antibacterial properties of 26 raw preparations of natural antibiotics was carried out against gram-positive and gram-negative laboratory test organisms. The antimicrobial activity of antibiotics was studied against gram-positive (*S. aureus* 209 P, UF-2 and UF-3 staphylococcal mutants, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Bacillus anthracis* (I Tsenkovsky's vaccine), *Bacillus anthracoides*, *Pasteurella multocida*) and gram-negative (*Commamonas*

terrigena ATCC 8461, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*) laboratory test organisms. Data on the antibacterial properties of antibiotic preparations are given in Tables 1-2.

Table 1 - Antibacterial properties of natural antibiotics against gram-positive test organisms

Number of antibiotic	Antibacterial activity, dilution unit/ml						
	<i>S. aureus</i> 209 P	<i>S. aureus</i> UF-2	<i>S. aureus</i> UF-3	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>Bacillus anthracis</i> , I (Tsenkovsky's vaccine)	<i>Bacillus anthracoides</i>	<i>Pasteurella multocida</i>
KA003A	200000	200000	200000	200000	200000	40000	40000
KA004/6	20000	20000	20000	20000	20000	2000	200
KA005A	16000	16000	16000	6000	6000	4000	100
KA008A	16000	20000	20000	20000	16000	1000	800
KA010F	20000	24000	24000	20000	20000	16000	16000
KA010L	200000	200000	160000	200000	20000	20000	20000
KA015A	200000	160000	160000	200000	40000	24000	24000
KA015B	160000	160000	160000	160000	100	100	16000
KA015F	8000	2000	2000	4000	1000	4000	4000
KA022D	8000	4000	4000	4000	4000	4000	2000
KA024A	80000	80000	80000	80000	8000	8000	8000
KA027E	160000	160000	160000	160000	4000	0	0
KA030A	40000	80000	80000	40000	80000	0	0
KA030C	100000	100000	100000	100000	80000	20000	100
KA031A	160000	80000	80000	160000	24000	24000	4000
KA031B	80000	80000	80000	160000	200000	24000	4000
KA031C	160000	100000	100000	160000	800	100	800
KA035E	24000	160000	160000	100000	40000	8000	4000
KA038B	20000	100000	100000	100000	40000	100	0
KA049A	100000	100000	100000	100000	160000	100	0
KA068B	4000	4000	2000	4000	2000	0	0
KA075C	160000	80000	80000	160000	4000	0	0
KA087B	160000	160000	160000	160000	100	0	0
KA094A	40000	80000	80000	80000	24000	800	100
KA094B	8000	10000	8000	4000	4000	0	0
KA094E	800	4000	2000	2000	200	0	0

The highest activity against *S. aureus* 209 P, UF-2 and UF-3 staphylococcal mutants, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 was revealed by antibiotics KA003A (200,000 dilution unit/ml), KA010L, KA015A (160,000-200,000 dilution unit/ml), KA015B, KA027E, KA087B (160,000 dilution unit/ml), KA031C (100,000-160,000 dilution unit/ml), KA030C, KA049A (100,000 dilution unit/ml), KA031A, KA031V, KA075C (80,000-160,000 dilution unit/ml), KA035E (24,000-160,000 dilution unit/ml), KA038B (20,000-100,000 dilution unit/ml). High activity against *Bacillus anthracis* (I Tsenkovsky's vaccine) was exhibited by antibiotic preparations KA003A, KA031V (200,000 dilution unit/ml) and KA049A (160000 dilution unit/ml). The antibiotics were significantly less active against *Bacillus anthracoides* and *Pasteurella multocida*, the highest activity was revealed by preparations KA003A (40,000 dilution unit/ml), KA015A (24,000 dilution unit/ml), KA010L (20,000 dilution unit/ml) KA031A, KA031V (4,000-24,000 dilution unit/ml). Antibiotics KA027E, KA030A, KA038B, KA049A, KA068B, KA075C, KA087B, KA094B, and KA094E were inactive against *Pasteurella multocida*.

The highest activity against laboratory strains of gram-positive test organisms was revealed by antibiotics KA003A, KA010L, KA010F, KA015A, KA031A, and KA031V. The antibiotics KA015F, KA022D, KA068B, KA094B, and KA094E were the least active against laboratory strains of gram-positive test organisms.

Table 2 - Antibacterial properties of natural antibiotics against gram-negative test organisms

Number of antibiotic	Antibacterial activity, dilution unit/ml		
	<i>Commamonas terrigena</i> ATCC 8461	<i>Escherichia coli</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
KA003A	100000	200000	16000
KA004/6	16000	16000	0
KA005A	2000	16000	8000
KA008A	1000	1000	0
KA010F	16000	40000	2000
KA010L	80000	80000	2000
KA015A	24000	100000	2000
KA015B	10000	200000	0
KA015F	2000	8000	0
KA022D	40000	24000	80
KA024A	10000	8000	800
KA027E	1000	20000	100
KA030A	100	24000	100
KA030C	10000	80000	0
KA031A	40000	160000	2000
KA031B	40000	80000	2000
KA031C	80000	160000	2000
KA035E	20000	40000	0
KA038B	2000	40000	16000
KA049A	0	100000	100
KA068B	0	2000	0
KA075C	16000	8000	0
KA087B	24000	40000	800
KA094A	2000	80000	0
KA094B	2000	20000	0
KA094E	200	400	0

The investigated natural antibiotics also revealed high activity against gram-negative test organisms. Antibiotics KA003A (100,000 dilution unit/ml), KA010L and KA031C (80,000 dilution unit/ml) were the most active against the laboratory strain *Commamonas terrigena* ATCC 8461, antibiotics KA003A, KA015B (200,000 dilution unit/ml), KA031A, KA031C (160,000 dilution unit/ml), KA049A (100,000 dilution unit/ml) - against the laboratory strain of *Escherichia coli*. The natural antibiotics were the least active against *Proteus mirabilis*, the highest activity was exhibited by the preparations KA003A and KA038B (16,000 dilution unit/ml), KA005A (8,000 dilution unit/ml), and the rest were weakly active or inactive.

The highest activity against laboratory strains of gram-negative test organisms was revealed by antibiotics KA003A, KA015A, KA031A, KA031S, and KA049A. The natural antibiotics KA08A, KA015F, KA024A, KA068B, and KA094E were the least active against gram-negative test organisms.

Antibiotics KA003A, KA015A, KA015V, KA031C, KA049A showed high activity against gram-positive bacteria (*S. aureus* 209, UF-2 and UF-3 staphylococcal mutants, *Bacillus subtilis* ATCC 6633), and simultaneously against *Escherichia coli* J53 pMG223 – 100,000-200,000 dilution unit/ml.

Thereby, the investigated natural antibiotics were active against both gram-positive and gram-negative test microorganisms, and may be characterized as broad spectrum antibacterial antibiotics.

References:

1 Козлов Р.С., Стецюк О.У., Андреева И.В. Современные тенденции антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ России: что нас ждет дальше? // Журнал интенсивной терапии. – 2007. - №4. – С. 43-49.

- 2 Cardo D., Horan T., Andrus M. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. Are port from the NNIS System // *Am J Infect Control*. - 2004. - Vol. 32. – P.470-485.
- 3 Сидоренко С.В. Исследования распространения антибиотикорезистентности: практическое значение для медицины // *Инфекции и антимикробная терапия*. – 2002. –Т.4, №2. – С. 38-41.
- 4 Tumbarello M., Sanguinetti M., Montuori E. Predictors of mortality in patients with bloodstream infections caused by extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: importance of inadequate initial antimicrobial treatment // *Antimicrob Agents Chemother*. – 2007. - Vol. 51. – P. 1987-1994.
- 5 Peralta G., Sanchez M.B., Garrido J.C. Impact of antibiotic resistance and of adequate empirical antibiotic treatment in the prognosis of patients with Escherichia coli bacteraemia // *J Antimicrob Chemother*. – 2007. –Vol. 60. – P.855-863.
- 6 Schwaber M.J., Carmeli Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum beta-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis // *J Antimicrob Chemother*. - 2007. –Vol. 60. – P.913-920.
- 7 Решедько Г.К., Рябкова Е.Л., Кречикова О.И. Антибиотикорезистентность грамотрицательных возбудителей нозокомиальных в отделениях реанимации и интенсивной терапии России // *Клин Микробиол Антимикроб Химиотер*. – 2008. –Т.10, № 1.- С 68-75.
- 8 Страчунский Л.С., Дехнич А.В., Эдельштейн И.А. Эпидемиология антибиотикорезистентности нозокомиальных штаммов Staphylococcus aureus в России: результаты многоцентрового исследования // *Клин Микробиол Антимикроб Химиотер*. - 2002. - Т.4, № 4.– С. 325-36.
- 9 Alvarez-Lerma F., Grau S., Gracia-Arnillas M.P. Gram-positive cocci infections in intensive care: guide to antibacterial selection // *Drugs*. – 2006. –Vol. 66. - С.751-768.
- 10 Talbot G.H., Bradley J., Edwards J.E. Jr. Bad bugs need drugs: an update on the development pipeline from the Antimicrobial Availability Task Force of the Infectious Diseases Society of America // *Clin Infect Dis*. - 2006. –Vol. 42, № 5.- С. 657-668.
- 11 Newman D.J., Cragg M.G. Natural products as sources of new drugs over the last 25 years // *J. Nat. Prod*. - 2007. - Vol. 70. - P. 461-477.
- 12 Demain A.L. Pharmaceutically active secondary metabolites of microorganisms // *Appl. Microbiol. Biotechnol*. - 1999. –Vol.52. – P. 455–63.
- 13 МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам // *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. - 2004. – Т.6, №4. - С. 306-359.