

Формулы Фармации. 2023. Т. 5, № 2. С. 60–64

АКТУАЛЬНАЯ ПРОБЛЕМА: ДИСКУССИОННАЯ ТРИБУНА

Краткое сообщение

УДК 579.64

DOI: <https://doi.org/10.17816/phf352543>

# Антимикробная активность пробиотического штамма *Enterococcus faecium* 1-35

© 2023. Е. А. Бражник<sup>1,2</sup>, С. Н. Биконя<sup>1,2</sup>, Г. Ю. Лаптев<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Волгоградский государственный аграрный университет, Волгоград, Россия

<sup>2</sup>Научно-производственная компания «БИОТРОФ», Санкт-Петербург, Пушкин, Россия

<sup>3</sup>Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Санкт-Петербург, Пушкин, Россия

Автор, ответственный за переписку: Евгений Александрович Бражник, [bea@biotrof.ru](mailto:bea@biotrof.ru)

**АННОТАЦИЯ.** В исследовании рассматривается поиск альтернативных решений по замене кормовых антибиотиков для птицеводства. В ходе изучения пробиотического штамма *Enterococcus faecium* 1-35 были установлены его антимикробные свойства по отношению к некоторым патогенным микроорганизмам. С использованием биоинформатического подхода в геноме *Enterococcus faecium* 1-35 были обнаружены гены нерибосомных пептид-синтетаз. Продукт синтеза которых предположительно обладает биологической активностью. Штамм *Enterococcus faecium* 1-35, способный синтезировать активные пептидные продукты, может быть расценен как альтернативное решение при замене кормовых антибиотиков. Полученные результаты нуждаются в дополнительных исследованиях практического применения для подтверждения ожидаемого эффекта.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** антимикробная резистентность; альтернатива антибиотикам; нерибосомные пептиды; *Enterococcus* sp.

## СОКРАЩЕНИЯ:

НРП – нерибосомные пептиды; НРПС – нерибосомные пептид-синтетазы; АДЕР-1 (ADER-1) – Ацил-депси-пептид; NGS – методы секвенирования нового поколения.

## ВВЕДЕНИЕ

Для сохранения здоровья сельскохозяйственных животных и птиц активно используют кормовые антибиотики. В настоящее время в РФ принимаются меры по недопущению распространения антимикробной резистентности. Поиск возможных решений по замене антибиотиков является одной из главных задач для птицеводства.

Для каждого класса антибиотиков свойственен основной каркас. Большинство известных химических каркасов, из которых получают современные антимикробные соединения, были изучены в период с середины 1930-х до начала 1960-х годов. Наиболее известны четыре из них – цефалоспорины, пенициллины, хинолоны и макролиды, представляющие 73% новых антибактериальных химических соединений, зарегистрированных в период с 1981 по 2005 годы [1].

Целью исследования стало изучение антимикробных свойств штамма *Enterococcus faecium* 1-35. Данный штамм входит в состав кормовых добавок для сельскохозяйственных животных и птиц разработанных и выпускаемых компанией ООО «БИОТРОФ» – Целлобактерин® и Профорт® [2].

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В данном эксперименте использовался метод NGS (Секвенирование нового поколения) для полногеномного определения нуклеотидной последовательности штамма *Enterococcus faecium* 1-35. Для этого, после секвенирования, короткие последовательности были собраны в более длинные контиги при помощи программы SPAdes [3]. Анализ контигов проводился с использованием программы antiSMASH версии 5.0.0 и базы Norine для поиска генных кластеров, отвечающих за синтез вторичных метаболитов, включая нерибосомные пептиды (НРП) [4, 5]. Нерибосомными пептидами называют

продуцируемые бактериями и грибами вторичные метаболиты, которые обладают разнообразной биологической активностью (антибиотики, противоопухолевые средства, иммуносупрессоры), например, бацитрацин, циклоспорин и др. Нерибосомные пептиды синтезируются синтетазой нерибосомных пептидов, которые не нуждаются в мРНК [6].

## РЕЗУЛЬТАТЫ

В результате NGS-секвенирования были обнаружены гены нерибосомных пептид-синтетаз (НРПС). Предполагаемый пептидный продукт имеет определенную долю сходства с АДЕП-1 (ADEP-1) – Ацил-де-пси-пептид, который изначально был обнаружен у бактерий *Streptomyces hawaiiensis* (патент, 1982 г.). Данный пептидный продукт представляет собой класс потенциальных антибактериальных веществ, отличающихся высокой антимикробной активностью по отношению к грамположительным патогенам и действующий путем нарушения регуляции протеазы ClpP [7]. Исследования, проведенные с использованием методов классической микробиологии, подтвердили антимикробную активность по отношению к некоторым видам бактерий.

## ВЫВОДЫ

В результате секвенирования и последующего биоинформатического анализа штамма *Enterococcus faecium* 1-35, удалось идентифицировать гены нерибосомных пептид-синтетаз ответственных за продуцирование биологически активного продукта. Предполагаемой продукт синтеза *Enterococcus faecium* 1-35, имеет определенную долю сходства с АДЕП-1, что позволяет расценивать штамм бактерий, как потенциальный биологически активный компонент кормовых добавок. Кормовые добавки с пробиотическими бактериями *Enterococcus faecium* 1-35 могут стать альтернативным решением при замене кормовых антибиотиков в птицеводстве.

## СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Fischbach M. A., Walsh C. T. Antibiotics for emerging pathogens. *Science* (New York, N.Y.). 2009 Aug;325(5944):1089–1093. DOI: 10.1126/science.1176667.

2. Околелова Т. М., Егорова Т. В. и др. Руководство по использованию биопрепаратов и кормовых добавок для обеспечения здоровья и повышения продуктивности бройлеров. Методические рекомендации // Сергиев Посад. – 2013.

3. Prjibelski A., Antipov D., Meleshko D., Lapidus A., & Korobeynikov, A. (2020). Using SPAdes de novo assembler. *Current Protocols in Bioinformatics*, 70, e102. DOI: 10.1002/cpbi.102.

4. Blin K. [et al.]. antiSMASH 5.0: updates to the secondary metabolite genome mining pipeline // *Nu-*

*cleic Acids Res.* – 2019. – Vol. 47, № W1. – P. W81-W87. DOI: 10.1093/nar/gkz310.

5. Flissi A, Dufresne Y, Michalik J, Tonon L, Janot S, Noé L, Jacques P, Leclère V, Pupin M. Norine, the knowledgebase dedicated to non-ribosomal peptides, is now open to crowdsourcing. *Nucleic Acids Res.* 2016 Jan 4;44(D1):D1113–8. DOI: 10.1093/nar/gkv1143.

6. Орлова Т. И., Булгакова В. Г., Полин А. Н. Биологические активные нерибосомальные пептиды. III. Механизм биосинтеза нерибосомальных пептидов // *Антибиотики и химиотерапия.* 2012, № 7–8 (57). С. 43–54.

7. Kirstein J, Hoffmann A, Lilie H, Schmidt R, Rübsamen-Waigmann H, Brötz-Oesterhelt H, Mogk A, Turgay K. The antibiotic ADEP reprogrammes ClpP, switching it from a regulated to an uncontrolled protease. *EMBO Mol Med.* 2009 Apr;1(1):37–49. DOI: 10.1002/emmm.200900002.

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Евгений Александрович Бражник** – аспирант кафедры «Кормление и разведение с.-х. животных» Волгоградского государственного аграрного университета, Волгоград, Россия контролер по качеству научно-производственной компании «БИОТРОФ», Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, bea@biotrof.ru

**Светлана Николаевна Биконя** – аспирант кафедры «Кормление и разведение с.-х. животных» Волгоградского государственного аграрного университета, Волгоград, Россия; заместитель главного технолога научно-производственной компании «БИОТРОФ», Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, svetlana@biotrof.ru

**Георгий Юрьевич Лаптев** – доктор биологических наук, заведующий кафедрой «Биотехнология кормов» Санкт-Петербургского государственного аграрного университета; директор научно-производственной компании «БИОТРОФ», Санкт-Петербург, Пушкин, Россия, laptev@biotrof.ru

**Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.**

Статья поступила в редакцию 27.04.2023 г., одобрена после рецензирования 15.05.2023 г., принята к публикации 30.05.2023 г.

Pharmacy Formulas. 2023. Vol. 5, no. 2. P. 60–64

ACTUAL PROBLEMS: DISCUSSION TRIBUNE

Short message

# Antimicrobial activity of probiotic strain *Enterococcus faecium* 1-35

© 2023. Evgenii A. Brazhnik<sup>1,2</sup>, Svetlana N. Bikonia<sup>1,2</sup>, Georgii Yu. Laptev<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>Volgograd State Agrarian University, Volgograd, Russia

<sup>2</sup>BIOTROPH Ltd, Saint Petersburg, Pushkin, Russia

<sup>3</sup>Saint Petersburg State Agrarian University, Saint Petersburg, Pushkin, Russia

Corresponding author: Evgenii A. Brazhnik, bea@biotrof.ru

**ABSTRACT.** The study examines the search for alternative solutions to replace feed antibiotics for poultry farming. During the study of the probiotic strain *Enterococcus faecium* 1-35, its antimicrobial properties against some pathogenic microorganisms were established. Using a bioinformatics approach, genes for non-ribosomal peptide synthetases were discovered in the genome of *Enterococcus faecium* 1-35. A synthesis product of which is believed to have biological activity. *Enterococcus faecium* strain 1-35, capable of synthesizing active peptide products, can be regarded as an alternative solution when replacing feed antibiotics. The results obtained require additional studies of practical application to confirm the expected effect.

**KEYWORDS:** antimicrobial resistance; alternative to antibiotics; non-ribosomal peptides; *Enterococcus* sp.

## REFERENCES

1. Fischbach M. A, Walsh C. T. Antibiotics for emerging pathogens. *Science (New York, N.Y.)*. 2009 Aug;325(5944):1089–1093. DOI: 10.1126/science.1176667.
2. Okolelova T. M., Egorova T. V. and others. Guidelines for the use of biological products and feed additives to ensure the health and increase the productivity of broilers. *Methodological recommendations // Sergiev Posad*. 2013. (In Russ).
3. Prjibelski A., Antipov D., Meleshko D., Lapidus A., & Korobeynikov A. (2020). Using SPAdes de novo assembler. *Current Protocols in Bioinformatics*, 70, e102. DOI: 10.1002/cpbi.102.
4. Blin K. [et al.]. antiSMASH 5.0: updates to the secondary metabolite genome mining pipeline // *Nucleic Acids Res.* – 2019. – Vol. 47, № W1. – P. W81–W87. DOI: 10.1093/nar/gkz310.
5. Flissi A, Dufresne Y, Michalik J, Tonon L, Janot S, Noé L, Jacques P, Leclère V, Pupin M. Norine, the knowledgebase dedicated to non-ribosomal peptides, is now open to crowdsourcing. *Nucleic Acids Res.* 2016 Jan 4;44(D1):D1113–8. DOI: 10.1093/nar/gkv1143.
6. Orlova T. I., Bulgakova V. G., Polin A. N. Biologically active non-ribosomal peptides. III. The mechanism of biosynthesis of non-ribosomal peptides // *Antibiotics and chemotherapy*. 2012, no. 7–8 (57). pp. 43–54. (In Russ).
7. Kirstein J, Hoffmann A, Lilie H, Schmidt R, Rübsamen-Waigmann H, Brötz-Oesterhelt H, Mogk A, Turgay K. The antibiotic ADEP reprogrammes ClpP, switching it from a regulated to an uncontrolled protease. *EMBO Mol Med.* 2009 Apr;1(1):37–49. DOI: 10.1002/emmm.200900002.

## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Evgenii A. Brazhnik** – graduate student of the department “Feeding and breeding of agricultural animals” Volgograd State Agrarian University, Volgograd, Russia; quality controller of BIOTROPH Ltd, Saint Petersburg, Pushkin, Russia, bea@biotrof.ru

**Svetlana N. Bikonia** – graduate student of the department “Feeding and breeding of agricultural animals” Volgograd State Agrarian University, Volgograd, Russia; deputy chief technologist of BIOTROPH Ltd, Saint Petersburg, Pushkin, Russia, svetlana@biotrof.ru

**Georgii Yu. Laptev** – Doctor of Biological Science, head of department “Biotechnology of feed” Saint Petersburg State Agrarian University; Director of BIOTROPH Ltd, Saint Petersburg, Pushkin, Russia, laptev@biotrof.ru

**The authors declare no conflicts of interests.**

The article was submitted April 27, 2023; approved after reviewing May 15, 2023; accepted for publication May 30, 2023.