

В. П. Широбоков, В. А. Понятовський

Антифунгальна активність стрептоміцетів, що ізольовані з бентонітових глин

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна

Ключові слова: стрептоміцети, бентоніт, протигрибковий антибіотик.

Мета роботи – дослідження біологічної активності стрептоміцетів, що ізольовані з бентонітових глин України.

Матеріали та методи. Для ідентифікації дослідних мікроорганізмів використані загальноприйняті методи дослідження морфо-культуральних, біохімічних властивостей і секвенування 16S рРНК продуцента. Антагоністичну активність штаму визначали методом дифузії в агар і методом агарових блоків із використанням грамположитивних, грамнегативних мікроорганізмів і грибів.

Результати. Дослідження автохтонної мікрофлори бентонітових глин України різних родовищ довело наявність у них стійких політаксономічних прокаріото-еукаріотичних консорціумів. Особливо цікавими виявились ізольовані мікроорганізми, що проявляли яскраво виражені антагоністичні властивості щодо грибів. Під час мікробіологічного вивчення ця культура була ідентифікована як представник роду *Streptomyces*.

Бентонітовий стрептоміцет, що названий як *Streptomyces SVP-71*, на агаризованих середовищах (метод агарових блоків) пригнічував ріст грибів (дріжджоподібних і пліснявих); зони затримки росту становили 11–36 мм, і не впливав на ріст бактерій. Досліджено інгібуючу дію супернатанту культуральної рідини, етанольного та бутанольного екстрактів біомаси стрептоміцета щодо музейних і клінічних штамів грибів, які патогенні для людини (*Candida albicans*, *C. krusei*, *C. utilis*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. kefir*, *C. glabrata*, *C. lusitaniae*, *Aspergillus niger*, *Mucor pusillus*, *Fusarium sporotrichioides*). Показано, що дослідний протигрибковий фактор володіє 100% інгібуючою дією щодо всіх використаних у досліді грибів *in vitro*. Паралельно з цим встановлено, що спиртові екстракти абсолютно не впливали на ріст грамположитивних і грамнегативних бактерій. Показано також, що супернатант культуральної рідини та спиртові екстракти біомаси володіють однаковим антагоністичним ефектом, але з різним ступенем прояву. Це свідчить про ідентичність антимікотичних речовин, що виділяються у бульйонну рідину та знаходяться в біомасі бактерій.

Висновки. Вторинні метаболіти з антифунгальними властивостями накопичуються як у біомасі *Streptomyces SVP-71*, так і в культуральній рідині. Екстракти, що одержали, можуть бути використані для створення антифунгальних препаратів.

Запорізький медичний журнал. – 2016. – №6 (99). – С. 82–87

Антифунгальная активность стрептомицетов, изолированных из бентонитовых глин

В. П. Широбоков, В. А. Понятовский

Цель работы – исследование биологической активности стрептомицетов, изолированных из бентонитовых глин Украины.

Материалы и методы. Для идентификации исследованных микроорганизмов были использованы общепринятые методы исследования морфо-культуральных, биохимических свойств и секвенирования 16S рРНК продуцента. Антагонистическую активность штамма определяли методом диффузии в агар и методом агаровых блоков с использованием грамположительных, грамотрицательных микроорганизмов и грибов.

Результаты. Исследование автохтонной микрофлоры бентонитовых глин Украины различных месторождений показало существование в них устойчивых политаксономических прокаріото-еукаріотических консорциумов. Особенно интересными оказались изолированные микроорганизмы, которые проявляли ярко выраженные антагонистические свойства по отношению к грибам. При микробиологическом исследовании эта культура была идентифицирована как представитель рода *Streptomyces*.

Бентонитовые стрептомицеты, названные *Streptomyces SVP-71*, на агаризованных средах (метод агаровых блоков) подавляли рост грибов (дрожжеподобных и плесневых); зоны задержки роста составляли 11–36 мм, и не влияли на рост бактерий. Исследовано ингибирующее действие супернатанта культуральной жидкости, этанольного и бутанольного экстрактов биомассы стрептомицетов против музейных и клинических штаммов грибов, патогенных для человека (*Candida albicans*, *C. krusei*, *C. utilis*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. kefir*, *S. glabrata*, *C. lusitaniae*, *Aspergillus niger*, *Mucor pusillus*, *Fusarium sporotrichioides*). Показано, что опытный противогрибковый фактор владеет 100% ингибирующим действием в отношении всех использованных грибов *in vitro*. Параллельно с этим было установлено, что спиртовые экстракты абсолютно не влияли на рост грамположительных и грамотрицательных бактерий. Показано также, что супернатант культуральной жидкости и спиртовые экстракты биомассы обладают одинаковым антагонистическим эффектом, но с разной степенью проявления. Это свидетельствует об идентичности противогрибковых веществ, которые выделяются в бульонную жидкость и находятся в биомассе бактерий.

Выводы. Вторичные метаболиты с антифунгальными свойствами накапливаются как в биомассе *Streptomyces SVP-71*, так и в культуральной жидкости. Полученные экстракты могут быть использованы для создания антифунгальных препаратов.

Ключевые слова: стрептомицеты, бентонит, противогрибковый антибиотик.

Запорожский медицинский журнал. – 2016. – №6 (99). – С. 82–87

Antifungal activity of streptomycetes isolated bentonite clay

V. P. Shirobokov, V. A. Poniatovskiy

Aim. To investigate the biological activity of streptomycetes, isolated from Ukrainian bentonite clay.

Methods. For identification of the investigated microorganisms there were used generally accepted methods for study of morpho-cultural and biochemical properties and sequencing of 16S rRNA producer. Antagonistic activity of the strain was determined by agar diffusion and agar block method using gram-positive, gram-negative microorganisms and fungi.

Results. Research of autochthonous flora from bentonite clay of Ukrainian various deposits proved the existence of stable politaxonomic prokaryotic-eukaryotic consortia there. It was particularly interesting that the isolated microorganisms had demonstrated clearly expressed



antagonistic properties against fungi. During bacteriological investigation this bacterial culture was identified like representative of the genus *Streptomyces*.

Bentonite streptomycetes, named as *Streptomyces SVP-71*, in agar mediums (agar block method) inhibited the growth of fungi (yeast and mold); zones of growth retardation constituted of 11–36 mm, and did not affect the growth of bacteria. There were investigated the inhibitory effects of supernatant culture fluid, ethanol and butanol extracts of biomass streptomycetes on museum and clinical strains of fungi that are pathogenic for humans (*Candida albicans*, *C. krusei*, *C. utilis*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. kefir*, *S. glabrata*, *C. lusitaniae*, *Aspergillus niger*, *Mucor pusillus*, *Fusarium sporotrichioides*). It has been shown that research antifungal factor had 100 % of inhibitory effect against all fungi used in experiments in vitro. In parallel, it was found that alcohol extracts hadn't influence to the growth of gram-positive and gram-negative bacteria absolutely. It was shown that the cultural fluid supernatant and alcoholic extracts of biomass had the same antagonistic effect, but with different manifestation. This evidenced about identity of antifungal substances synthesized into the broth and present in bacterial biomass.

Conclusions. Secondary metabolites from antifungal properties are accumulated both in *Streptomyces SVP-71* biomass and in the culture fluid. The obtained extracts can be used to create antifungal drugs.

Key words: *Streptomyces*, Bentonite, Antifungal Antibiotic.

Zaporozhye medical journal 2016; №6 (99): 82–87

Актиноміцети – вільно-живучі сапрофітні бактерії, що широко поширені в довкіллі, є потенційними продуцентами багатьох біологічно-активних сполук. До 80% відомих антибактеріальних речовин продукують представники роду *Streptomyces* [9]. Серед різноманіття лікарських препаратів, що представлені сьогодні на фармацевтичному ринку, частка протигрибкових антибіотиків дуже мала, але вони відіграють надзвичайно важливу роль під час лікування грибкових інфекцій різної локалізації. Потреба в нових, безпечних та ефективніших протигрибкових антибіотиках постійно зростає. Це передусім пов'язано зі збільшенням ролі умовно-патогенних інфекцій у людей з ослабленим імунітетом [5]. Так, наприклад, у ВІЛ-інфікованих людей мікози становлять значну небезпеку та зустрічаються в 50–80% випадків [18]. Серед грибкових інфекцій особливе місце посідають гриби роду *Candida*. Ще донедавна найпоширенішим представником цього роду був вид *Candida albicans*. Нині все частіше реєструються представники так званої групи *non-albicans* (*Candida krusei*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*) [3,12,16].

Streptomyces виділені зі всіх відомих ґрунтів світу, але їхня чисельність, роль в біоценозах, біохімічна активність значно змінюються залежно від еколого-географічних умов. Стрептоміцети ізолюють також із глибоководних екосистем, морських водоростей, лишайників, з атмосферних опадів, рослин тощо. Показано, що вони володіють широким антагоністичним спектром, зокрема протигрибковим [13,1,7].

Мета роботи

Дослідження біологічної активності стрептоміцетів, що ізолювані з бентонітових глин України [19].

Матеріали і методи дослідження

Виділення культури. Культура бактерій *Streptomyces SVP-71* була ізолювана зі зразка бентонітового гелю з використанням поживного агару для культивування мікроорганізмів (виробництво HiMedia).

Молекулярна характеристика стрептоміцетів. ПЛР ампліфікацію гена 16S рРНК здійснювали з використанням універсальних праймерів: 5'->AGAGTTTGATCMTGGCTCAG<3' та 1492R (s) 5'->GGTTACCTTGTTACGACTT<3' [8]. Екстракцію ДНК здійснили з чистої культури, що вирощена на МПА протягом 72 годин. ДНК виділяли шляхом сорбції її на силікагелі за Boom et al. [2]. Програма ПЛР-ампліфікації специфічного фрагмента ДНК містила тривалу денатурацію протягом 5 хв

при 95 °С; 30 циклів: 95 °С – 30 с, 55 °С – 40 с, 72 °С – 50 с; фінальну елонгацію 72 °С – 7 хв. Загальний об'єм проби становив 25 мкл. Суміш містила: 2 мкл ізолюваної ДНК, 1ОД. Taq DNA Polymerase, 0,2 мМ кожного дНТФ, 1-х ПЦР буфер з 2,5 мМ MgCl₂, 10 пмоль кожного праймера.

Аналіз ампліфікованих фрагментів ДНК здійснили методом розділення фрагментів ДНК в агарозному 1,5% гелі у присутності інтеркалюючого агента – бромистого етидію. Виділення ДНК з агарозного гелю здійснювали з використанням пакета реагентів «Gel-Out izolacja DNA z żeli agarozowych» (© Kucharczyk. Techniki Elektroforetyczne, Poland) відповідно до інструкції виробника.

Пошук нуклеотидних послідовностей у базі даних GenBank здійснювали за допомогою програми BLAST. Також використана база EMBL.

Накопичення та виділення антибіотика. Дослідні штами культивували у флаконах Ерленмеєра об'ємом 500 мл із 100 мл поживного бульйону для культивування мікроорганізмів (виробництво HiMedia) при температурі 30 °С протягом трьох днів. Біомасу стрептоміцетів відділяли шляхом центрифугування при 3000 об/хв протягом 20 хв. Для отримання спиртових екстрактів до осадженої біомаси культури окремо додавали по 10 мл бутанолу-1 та 96% етанолу, інтенсивно струшували протягом 20 хв і залишали при кімнатній температурі на 2–3 год, після чого відділяли біомасу шляхом центрифугування (3000 об/хв, 20 хв).

Тест-штами бактерій та грибів. Для перевірки антагоністичних властивостей ізолюваних мікроорганізмів у роботі використали тест-мікроорганізми, що отримані з ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб імені Л. В. Громашевського НАМН України» та Інституту мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Aspergillus niger* (ATCC 704), *Candida albicans* (ATCC 10231), *Candida krusei* (№ RN 71062), *Enterococcus faecalis* (ATCC 67873), *Proteus mirabilis* (ГИСК № 3172), *Candida utilis* (УКМ Y-1597), *Candida krusei* (УКМ Y-61), *Saccharomyces cerevisiae* (УКМ Y-2519), *Candida parapsilosis* (УКМ Y-73), *Candida tropicalis* (УКМ Y-2502), *Candida kefir* (УКМ Y-60), *Candida glabrata* (№ 199), *Candida lusitaniae* (№ 168), *Mucor pusillus* (УКМ 1943), *Fusarium sporotrichioides* (УКМ 50582) та клінічні ізоляти грибів роду *Candida* (40 штамів).



Визначення антагоністичної активності. Для дослідження антимікробних властивостей використовували супернатант культуральної рідини та етанольний і бутанольний екстракти біомаси. Визначення здійснювали методом дифузії в агар, активність визначали за діаметром зон затримки росту тест-культур біля лунок. З метою скринінгу використовували також метод агарових блоків [15,17].

Результати та їх обговорення

Під час багаторічного дослідження біоценозів глинистих екосистем окремих родовищ бентоніту України (Дашуківське, Горбське, Курцівське родовища) вдалося встановити, що глинисті мікроорганізми представлені дивовижним різноманіттям [20]. Досліджувані глини були інтенсивно заселені різноманітними політаксономічними прокаріото-еукаріотичними консорціумами. Особливо цікавими виявилися ізольовані з бентоніту представники актиноміцетів, котрі проявляли яскраво виражені антагоністичні властивості щодо грибів.

На поверхні щільних органічних середовищ дослідні штами актиноміцетів формували відособлені, щільні колонії з гладкою поверхнею, що міцно вросли в агар. Пізніше поверхня колонії покривалася порошкоподібним білуватим повітряним міцелієм (рис. 1а). Дослідна культура також проявляла ознаки росту з утворення міцелію на агаризованих мінеральних середовищах, що не містили органічних компонентів (Гаузе-1, СР-1, гліцерин-нітратний агар, сахарозо-нітратний агар, ISP 4, ISP 5).

Використання світлопольної, фазово-контрастної, електронної мікроскопії дало змогу дослідити, що на кінцевих гілках повітряного міцелію формуються спеціальні утворення – спораносці. В ізольованих мікроорганізмів спораносці мали моноподіальний характер, а за формою – прямі, довгі та розтягнуті. Спори нерухомі, циліндричної форми, довжиною ≈ 1 мкм, діаметром $\approx 0,5$ мкм. Оболонка спор гладенька, не покрита шипами та волосками, кількість спор у ланцюжках понад 20 (рис. 1б).

Детальне дослідження морфо-культуральних і біохімічних особливостей дало змогу віднести дослідні мікроорганізми до представників роду *Streptomyces*. Штам був названий *Streptomyces SVP-71*.

Здійснений молекулярно-генетичний аналіз нуклеотидної послідовності гена 16S рРНК *Streptomyces SVP-71* підтвердив приналежність дослідних мікроорганізмів до представників роду *Streptomyces*. Порівняння отриманої нуклеотидної послідовності з базами даних NCBI GenBank database та EMBL database показало їхню ідентичність в 99% з такими варіантами стрептоміцетів, як *Streptomyces albidoflavus* (EM_PRO:LN626361), *Streptomyces coelicolor* (EM_PRO:KX139480), *Streptomyces exfoliatus* (EM_PRO:KU350524), *Streptomyces flavofungini* (KT274748.1), *Streptomyces violascens* (KP636799.1), *Streptomyces sampsonii* (CP016824.1), *Streptomyces albus* (CP014485.1). Відповідно до літературних даних [1,11,4,10,6], представлені стрептоміцети характеризуються високою антагоністичною активністю.

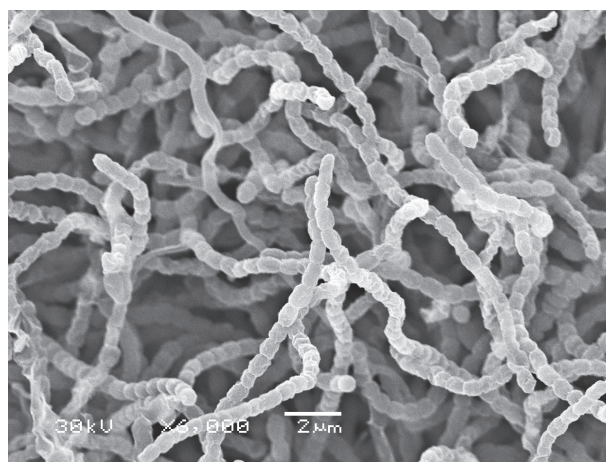
Зважаючи на викладене вище, наступні дослідження були спрямовані на встановлення антагоністичних властивостей виділених мікроорганізмів.

На першому етапі здійснено скринінгове дослідження з використанням методу агарових блоків. Спосіб, що застосували, дав змогу встановити: *Streptomyces SVP-71* не інгібував ріст бактерій як грампозитивних (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*), так і грамнегативних (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*). Дослідний штам пригнічував із різною інтенсивністю ріст дріжджоподібних і пліснявих грибів (рис. 2). Зони інгібування росту становили 11–36 мм залежно від використаних тест-культур.

Як відомо, супернатанти рідких середовищ та екстракти із міцелію можуть проявляти різну антагоністичну активність, що пояснюється неоднаковим складом зовнішніх і внутрішньоклітинних метаболітів [14]. Відтак наступним етапом дослідження було встановлення можливості використання рідких поживних середовищ для накопичення вторинних метаболітів, що володіють антифунгальними властивостями. Здійснили перевірку антагоністичних властивостей надосаду культуральної рідини етанольного та бутанольного екстрактів із біомаси при вирощуванні культури на поживному бульйоні для культивування мікроорганізмів (табл. 1).



а



б

Рис. 1. Морфологія культури *Streptomyces SVP-71*: а – макроскопічний вигляд колонії на МПА; б – сканувальна електронна мікроскопія. $\times 6000$.

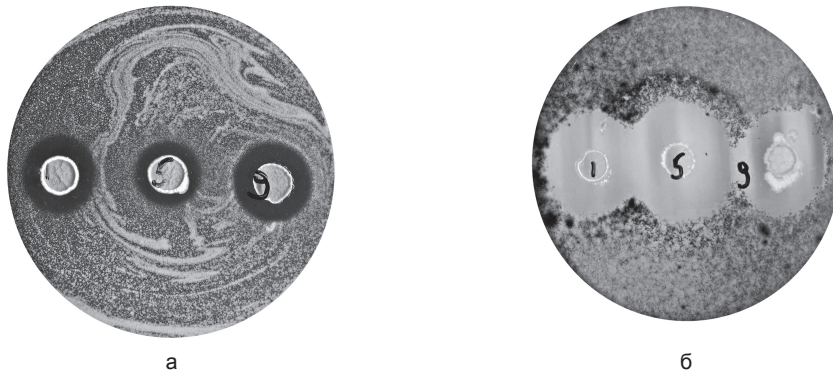


Рис. 2. Метод агарових блоків.

Тест-культура:

а – *Candida albicans* (ATCC 10231);

б – *Curvularia inaequalis* (УКМ 3002).

Культура вирощувалася при температурі 30 °С протягом трьох діб. Основними тест-мікроорганізмами були обрані представники роду *Candida*, які мають найбільше медичне значення: *Candida albicans*, а з числа *non-albicans*: *C. krusei*, *C. utilis*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. kefir*, *C. glabrata*, *C. lusitaniae*. Додатково використані деякі представники пліснявих грибів.

Культуральна рідина, бутанольний, етанольний екстракти не володіли інгібуючими властивостями як до грампозитивних, так і грамотригативних бактерій. Усі десять музейних штамів грибів роду *Candida* були чутливими до дії речовин, що досліджували. Інгібуючий ефект спостерігався у 100%, хоча був різної інтенсивності. Так, зони затримки росту під дією культуральної рідини коливалися від 9,0 до 12,7 мм, під дією етанольного екстракту – від 11,7 до 18,3 мм, бутанольного екстракту – від 11,7 до 18,67 мм. Це явище вказує на різну чутливість представників роду *Candida* до досліджуваного протигрибкового фактора. Також спостерігався антифунгальний ефект щодо пліснявих грибів, що використали в досліді (*Aspergillus niger*, *Mucor pusillus*, *Fusarium sporotrichioides*).

На третьому етапі здійснили визначення чутливості клінічних ізолятів грибів роду *Candida* до культуральної рідини, бутанольного, етанольного екстрактів із міцелію *Streptomyces SVP-71*. Усього використали 40 ізолятів (табл. 2).

Супернатант культуральної рідини та спиртові екстракти проявляли дію пригнічення щодо всіх використаних клінічних ізолятів грибів роду *Candida*. Як і в попередньому випадку, спостерігалася різниця в інтенсивності дії супернатанту та екстрактів. Так, під час використання культуральної рідини середнє значення зони затримки росту становило 13,2±1,97 мм, а під час застосування етанольного екстракту – 18,12±2,41 мм. Встановили, що клінічні ізоляти також володіють різною чутливістю до дослідного антифунгального фактора. Зони затримки росту при дії супернатанту становили від 9 до 18 мм, етанольного та бутанольного екстрактів – від 14 до 23 мм.

Таблиця 1

Антагоністична активність *Streptomyces SVP-71* при культивуванні на рідких поживних середовищах

№ з/п	Тест-мікроорганізми	Зона затримки росту тест-мікроорганізмів, мм		
		Надосад культуральної рідини	Бутанольний екстракт біомаси	Етанольний екстракт біомаси
Бактерії				
1	<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0
2	<i>Escherichia coli</i>	0	0	0
3	<i>Bacillus subtilis</i>	0	0	0
4	<i>Enterococcus faecalis</i>	0	0	0
5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0	0	0
6	<i>Proteus mirabilis</i>	0	0	0
Дріжджі та дріжджоподібні гриби				
7	<i>Candida albicans</i>	12,7±0,47	16±0,82	16,3±0,47
8	<i>Candida krusei</i> (№ RN 71062)	12,3±0,47	16,7±0,47	15,7±0,47
9	<i>Candida krusei</i> (УКМ Y-61)	13±0,82	17±0,82	15,3±0,47
10	<i>Candida utilis</i>	12,3±0,47	17,3±0,47	16,3±0,47
11	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	11,7±0,47	14,3±0,47	15±0
12	<i>Candida parapsilosis</i>	8,3±0,47	12±0	11,7±0,47
13	<i>Candida tropicalis</i>	9±0	11,7±0,47	11,7±0,47
14	<i>Candida kefir</i>	12,7±0,47	15±0	15±0
15	<i>Candida glabrata</i>	14±0	18,3±0,47	18,67±0,94
16	<i>Candida lusitaniae</i>	9,7±0,47	13,3±0,47	13±0
Плісняві гриби				
17	<i>Aspergillus niger</i>	9±0	11±0	12±0
18	<i>Mucor pusillus</i>	0	12±0	12,7±0,47
19	<i>Fusarium sporotrichioides</i>	11,3±0,47	14,7±0,47	15,3±0,47

Таблиця 2

Антагоністична активність *Streptomyces SVP-71* щодо клінічних ізолятів

Дослідні штами	Кількість штамів	Культуральна рідина		Етанольний екстракт міцелію		Бутанольний екстракт міцелію				
		Діаметр затримки росту	Кількість чутливих штамів		Діаметр затримки росту	Кількість чутливих штамів		Діаметр затримки росту	Кількість чутливих штамів	
			абс.	%		абс.	%		абс.	%
<i>Candida spp.</i>	40	13,2±1,97	40	100	18,12±2,41	40	100	17,8±2,1	40	100



Наявність інгібуючого впливу як культуральної рідини на ріст грибів, так і спиртових екстрактів вказує на ідентичність антимікотичних речовин, що виділяються в бульйонну рідину та перебувають у біомасі бактерій. Відзначимо також, що спиртові екстракти біомаси в усіх дослідах активніше пригнічували ріст дріжджоподібних і пліснявих грибів порівняно з супернатантом культуральної рідини.

Висновки

Експериментальні дані дали змогу зробити висновки:

1. Стрептоміцети, що ізольовані з бентонітових глин, проявляють виражені антагоністичні властивості щодо патогенних для людини грибів.

2. Вторинні метаболіти з антифунгальними властивостями накопичуються як у біомасі *Streptomyces SVP-71*, так і в культуральній рідині.

3. Отримані екстракти можуть використовуватися для створення антифунгальних препаратів.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Список літератури

1. Atmospheric Dispersal of Bioactive *Streptomyces albidoflavus* Strains Among Terrestrial and Marine Environments / A. Sarmiento-Vizcaino, A.F. Braca, V. Gonzalez et al. // *Microbial Ecology*. – 2016. – Vol. 71(2). – P. 375–86.
2. Rapid and simple method for purification of nucleic acids / R. Boom, C.J. Sol, M.M. Salimans et al. // *J. Clin. Microbiol.* – 1990. – Vol. 28. – P. 495–503.
3. Cannon R.D. Oral colonization by *Candida albicans* / R.D. Cannon, W.L. Chaffin // *Crit. Rev. Oral Biol.* – 1999. – Vol. 10(3). – P. 359–383.
4. Antifungal activity of volatile organic compounds from *Streptomyces albidoflavus* TD-1 / C. Wang, Z. Wang, X. Qiao et al. // *FEMS Microbiol Lett.* – 2013. – Vol. 341. – P. 45–51.
5. Dharumaduari Dhanasekaran. AN ANTIFUNGAL COMPOUND: 4' PHENYL -1-NAPHTHYL -PHENYL ACETAMIDE FROM *STREPTOMYCES* SP. DPTB16 / Dharumaduari Dhanasekaran, Nooruddin Thajuddin, Annamalai Panneerselvam // *FACTA UNIVERSITATIS Series: Medicine and Biology*. – 2008. – Vol. 15. – №1. – P. 7–12.
6. A new antifungal compound from *Streptomyces exfoliatus* / S.M. El-Sabbagh, H.A. Emará et al. // *Life Science Journal*. – 2013. – Vol. 10(4). – P. 2654–65.
7. Population Genetic Analysis of *Streptomyces albidoflavus* Reveals Habitat Barriers to Homologous Recombination in the Diversification of *Streptomyces* / K. Cheng, X. Rong, A.A. Pinto-Tomas et al. // *Applied and Environmental Microbiology*. – 2014. – Vol. 81. – № 3. – P. 966–975.
8. Lane D. J. 16S/23S rRNA sequencing, in *Nucleic acid techniques in bacterial systematics* / D. J. Lane ; Editors: E. Stackebrandt, M. Goodfellow. – Chichester, United Kingdom: John Wiley and Sons, 1991. – P. 115–175.
9. Miyadoh S. Research on antibiotic screening in Japan over the last decade: a producing microorganisms approach / S. Miyadoh // *Actinomycetologica*. – 1993. – Vol. 7. – P. 100–106.
10. Jain P.K. Isolation, characterization and antifungal activity of *Streptomyces sampsonii* GS 1322 / P.K. Jain, P.C. Jain // *Indian J. Exp. Biol.* – 2007. – Vol. 45(2). – P. 203–6.
11. Antibiotics produced by *Streptomyces* / R.E. de Lima Procópio, I.R. da Silva, M. K. Martins et al. // *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*. – 2012. – Vol. 16. – Issue 5. – P. 466–471.
12. Singhi S. Invasive Candidiasis in Pediatric Intensive Care Units / S. Singhi, A. Deep // *Indian Journal of Pediatrics*. – 2009. – Vol. 76. – P. 1033–1044.
13. Antimycin A18 produced by an endophytic *Streptomyces albidoflavus* isolated from a mangrove plant / L.L. Yan, N.N. Han, Y.Q. Zhang et al. // *J. Antibiot (Tokyo)*. – 2010. – Vol. 63. – P. 259–61.
14. Идентификация и антагонистические свойства почвенного стрептомицета *Streptomyces* sp. 100 / Л.А. Белявская, Т.А. Ефименко, О.В. Ефременкова та ін. // *Мікробіологічний журнал*. – 2016. – Т. 78. – №72. – С. 61–74.
15. Методы экспериментальной микологии / под. ред. В.И. Билай. – К. : Наукова думка, 1982. – 550 с.
16. Ивахнюк Т.В. Характеристика тканевых и культуральных форм *Candida species*, выделенных от новорожденных детей / Т.В. Ивахнюк Н.Н. Каплин // *Проблемы медицинской микологии*. – 2009. – Т. 11. – №3. – С. 34–38.
17. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках : учебник. – 6-е изд., перераб. и доп. / Н.С. Егоров. – М. : Изд-во МГУ : Наука, 2004. – 528 с.
18. Видовий склад та антибіотикорезистентність мікрофлори у ВІЛ-інфікованих осіб та хворих на позалікарняні опортуністичні інфекції / О.В. Покас, О.І. Поліщук, Л.В. Авдеева, Л.Г. Василенко // *Український хіміотерапевтичний журнал*. – 2005. – №3–4. – С. 48–52.
19. Ширококов В.П. Спосіб одержання гелю бентоніту для медичних цілей. Патент №45163 Україна (корисна модель) А 61 К 35/66, А 61 К 35/74. — Заявл. 02.06.2009/ В.П. Ширококов, Д.С. Янковський, Г.С. Димент // *Бюлетень*. – № 20, 2009 р.
20. Ширококов В.П. Микробы в биогеохимических процессах, эволюции биосферы и существовании человечества / В.П. Ширококов, Д.С. Янковский, Г.С. Дымент. – К. : Верес О.И., 2014. – 464 с.

References

1. Sarmiento-Vizcaino, A., Braña, A., González, V., Nava, H., Molina, A., Llera, E., et al. (2016). Atmospheric Dispersal of Bioactive *Streptomyces albidoflavus* Strains Among Terrestrial and Marine Environments. *Microb Ecol*, 71(2), 375–386. doi: 10.1007/s00248-015-0654-z.
2. Boom, R., Sol, C. J., Salimans, M. M., Jansen, C. L., Wertheim-van Dillen, P. M., & van der Noordaa, J. (1990). Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *Clin. Microbiol.*, 28(3), 495–503.
3. Cannon, R., & Chaffin, W. (1999). Oral Colonization By *Candida Albicans*. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 10(3), 359–383. doi: 10.1177/10454411990100030701.
4. Wang, C., Wang, Z., Qiao, X., Li, Z., Li, F., Chen, M., et al. (2013). Antifungal activity of volatile organic compounds from *Streptomyces albidoflavus* TD-1. *FEMS Microbiology Letters*, 341(1), 45–51. doi: 10.1111/1574-6968.12088.
5. Dharumaduari, Dhanasekaran, Nooruddin, Thajuddin, & Annamalai, Panneerselvam (2008). AN ANTIFUNGAL COMPOUND: 4' PHENYL -1-NAPHTHYL -PHENYL ACETAMIDE FROM *STREPTOMYCES* SP. DPTB16. *FACTA UNIVERSITATIS Series: Medicine and Biology*, 15(1), 7–12.
6. El-Sabbagh, S. M., Emará, H. A., Metwally, A. M., & Saba, H. A. (2013). A new antifungal compound from *Streptomyces exfoliatus*. *Life Science Journal*. 10(4), 2654–65.
7. Cheng, K., Rong, X., Pinto-Tomás, A., Fernández-Villalobos, M., Murillo-Cruz, C., & Huang, Y. (2014). Population Genetic Analysis of *Streptomyces albidoflavus* Reveals Habitat Barriers to Homologous Recombination in the Diversification of *Streptomyces*. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(3), 966–975. doi: 10.1128/AEM.02925-14.
8. Lane, D. J. (1991). 16S/23S rRNA sequencing, in *Nucleic acid techniques in bacterial systematics* (Stackebrandt E. and Goodfellow M., Eds), (P. 115–176), Wiley, Chichester.
9. Miyadoh, S. (1993). Research on antibiotic screening in Japan over the last decade: a producing microorganisms approach. *Actinomycetologica*, 7, 100–106. doi: http://doi.org/10.3209/saj.7_100.
10. Jain, P. K., & Jain, P. C. (2007). Isolation, characterization and antifungal activity of *Streptomyces sampsonii* GS 1322. *Indian J. Exp. Biol*, 45(2), 203–6.



11. de Lima Procópio, R. E., da Silva, I. R., Martins, M. K., Azevedo, J. L., & Araújo, J. M. (2012). Antibiotics produced by *Streptomyces*. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 16, 466–471. doi: 10.1016/j.bjid.2012.08.014.
12. Singhi, S., & Deep, A. (2009). Invasive candidiasis in pediatric intensive care units. *The Indian Journal of Pediatrics*, 76(10), 1033–1044. doi: 10.1007/s12098-009-0219-6.
13. Yan, L., Han, N., Zhang, Y., Yu, L., Chen, J., Wei, Y., et al. (2010). Antimycin A18 produced by an endophytic *Streptomyces albidoflavus* isolated from a mangrove plant. *The Journal of Antibiotics*, 63(5), 259–261. doi:10.1038/ja.2010.21.
14. Belyavskaya, L. A., Efimenko, T. A., Efremenkova, O. V., Kozyrskaya, V. E., Yutinskaya, H. A. (2016). Identifikaciya y antagonistscheskie svoistva pochvennogo streptomiceta *Streptomyces* sp. 100 [Identification and antagonistic properties of the soil streptomycete *Streptomyces* sp. 100]. *Mikrobiologichnyi zhurnal*, 78(72), 61–74. [in Ukrainian].
15. Bilaj, V. I. (1982). *Metody e'ksperimentalnoj mikologii [Methods of Experimental Mycology]*. Kyiv: Naukova dumka. [in Ukrainian].
16. Ivakhnyuk, T. V., & Kaplin, N. N. (2009). Kharakteristika tkanevykh i kul'tural'nykh form *Candida* species, vydelennykh ot novorozhdennykh detej [The characteristic of *Candida* species tissue and cultural forms isolated from newborn children]. *Problemy medicinskoj mikologii*, 11(3), 34–38. [in Russian].
17. Egorov, N. S. (2004). *Osnovy ucheniya ob antibiotikakh [Fundamentals of theory of antibiotics]*. Moscow: MGU: Nauka. [in Russian].
18. Pokas, O. V., Polishchuk, O. I., Avdieieva, L. V., & Vasylenko, L. H., (2005). Vydovyi sklad ta antybiotykozystentnist mikroflory u VIL-infikovanykh osib ta khvorykh na pozalikarniani opurtunistychni infektsii [Spectrum and antibacterial resistance of pathogenic fungi in cases of community-acquired opportunistic infection and in HIV-positiv patients]. *Ukrainskyi khimioterapevtychnyi zhurnal*, 3–4, 48–52. [in Ukrainian].
19. Shyrobokov, V. P., Yankovskiy, D. S., & Dyment, H. S. (patente) (2009) Sposib oderzhannia heliu bentonitu dlia medychnykh tsilei Patent № 45163 Ukrayina (korysna model) A 61 K 35/66, A 61 K 35/74. [A method for producing bentonite gel for medical purposes. Patent №45163 Ukraine (utility model) A 61 K 35/66, A 61 K 35/74]. *Bulleten*, 20. [in Ukrainian].
20. Shyrobokov, V. P., Yankovskij, D. S., & Dyment, H. S. (2014). Mikroby v biogeokhimicheskikh processakh, e'volucii biosfery i sushchestvovanii chelovechestva [The microbes in biogeochemical processes, the evolution of the biosphere and the existence of mankind]. Kyiv: Veres O.I. [in Ukrainian].

Відомості про авторів:

Широбоков В. П., академік НАН і НАМН України, д-р мед. наук, професор, зав. каф. мікробіології, вірусології та імунології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна, E-mail: shirobokov-bent@rambler.ru.
 Понятовський В. А., канд. мед. наук, доцент каф. мікробіології, вірусології та імунології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, м. Київ, Україна, E-mail: vadpon@yandex.ru.

Сведения об авторах:

Широбоков В. П., академик НАН и НАМН Украины, д-р мед. наук, профессор, зав. каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина, E-mail: shirobokov-bent@rambler.ru.

Понятовский В. А., канд. мед. наук, доцент каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии, Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, г. Киев, Украина, E-mail: vadpon@yandex.ru.

Information about authors:

Shirobokov V. P., MD, PhD, DSci, Professor, Academician of NAN and NAMN of Ukraine, Head of the Department of Microbiology, Virology and Immunology, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine, E-mail: shirobokov-bent@rambler.ru.

Poniatovskiy V. A., MD, PhD, Associate Professor, Department of Microbiology, Virology and Immunology, Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine, E-mail: vadpon@yandex.ru.

Поступила в редакцию 01.11.2016 г.