

Bdellovibrio bacteriovorus – уникальный биологический объект с возможной перспективой использования

П.В.Слукин, З.М.Ермоленко, Э.А.Светоч, Н.К.Фурсова

ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»,
Оболенск, Московская область, Российская Федерация

Обзор содержит сведения об истории открытия, свойствах и таксономическом положении хищных бактерий вида *Bdellovibrio bacteriovorus*. У *B. bacteriovorus* описаны две формы существования: зависимая от хозяина – хищническая, и сапротрофная, когда микроб растет и делится вне зависимости от клеток хозяина. Спектр бактериолитической активности *B. bacteriovorus* очень широк. Потенциально он включает практически все грамтрицательные бактерии. Отсутствие патогенности *B. bacteriovorus* для эукариотических организмов было продемонстрировано *in vivo* на ряде животных моделей. Показана возможность использования *B. bacteriovorus* в качестве альтернативного антибактериального агента против *Salmonella enterica*, *Aeromonas hydrophila*, *Proteus penneri*, *Pseudomonas glycinea*, *Pseudomonas tolaasii*.

Ключевые слова: *Bdellovibrio bacteriovorus*, хищные бактерии, бактериолитическое действие, альтернативный антибактериальный агент

Для цитирования: Слукин П.В., Ермоленко З.М., Светоч Э.А., Фурсова Н.К. *Bdellovibrio bacteriovorus* – уникальный биологический объект с возможной перспективой использования. Бактериология. 2018; 3(3): 38–45. DOI: 10.20953/2500-1027-2018-3-38-45

Bdellovibrio bacteriovorus is the unique biological object with possible perspective for use

P.V.Slugin, Z.M.Ermolenko, E.A.Svetoch, N.K.Fursova

State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology, Obolensk, Moscow region, Russian Federation

The review contains information concerning the history of discovery, properties and taxonomic position of predatory bacteria *Bdellovibrio bacteriovorus*. *B. bacteriovorus* exist in two forms: the first is host-dependent predatory form, the second is saprotrophic host-independent form. *B. bacteriovorus* has a very wide spectrum of bacteriolytic activity, including almost all Gram-negative bacteria. *B. bacteriovorus* is not pathogenic for eukaryotic organisms, as it was demonstrated *in vivo* in animal models. It was shown in some studies that *B. bacteriovorus* may be used as an alternative antibacterial agent against *Salmonella enterica*, *Aeromonas hydrophila*, *Proteus penneri*, *Pseudomonas glycinea*, and *Pseudomonas tolaasii*.

Keywords: *Bdellovibrio bacteriovorus*, predatory bacteria, bacteriolytic activity, alternative antibacterial agent

For citation: Slugin P.V., Ermolenko Z.M., Svetoch E.A., Fursova N.K. *Bdellovibrio bacteriovorus* is the unique biological object with possible perspective for use. Bacteriology. 2018; 3(3): 38–45. (In Russian). DOI: 10.20953/2500-1027-2018-3-38-45

В современной биологии «хищничество» определяется как форма трофических взаимоотношений между организмами разных видов, при которых один из них (хищник) атакует другого (жертву) и питается его «плотью», то есть обычно присутствует «акт умерщвления жертвы» [1]. Явление хищничества описано среди животных, растений, протистов, грибов, а также (относительно недавно) у бактерий.

Для корреспонденции:

Слукин Павел Владимирович, научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский район, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967)36-0079
E-mail: slukin@obolensk.org

Статья поступила 23.06.2018 г., принята к печати 29.10.2018 г.

История открытия хищных бактерий и их систематическое положение

Хищные бактерии впервые были обнаружены Stolp & Petzold в 1962 г. при поиске почвенных бактериофагов и описаны ими как активно движущиеся мелкие бактерии. В отличие от бактериофагов, эти бактерии демонстрировали медленно проявляющуюся литическую активность против испытуемых тест-культур вида *Pseudomonas fluorescens* [2].

For correspondence:

Pavel V. Slugin, researcher of Antimicrobial Agents Laboratory, Molecular Microbiology Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology

Address: SRCAMB, 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation. Phone: (4967) 36-0079
E-mail: slukin@obolensk.org

The article was received 23.06.2018, accepted for publication 29.10.2018

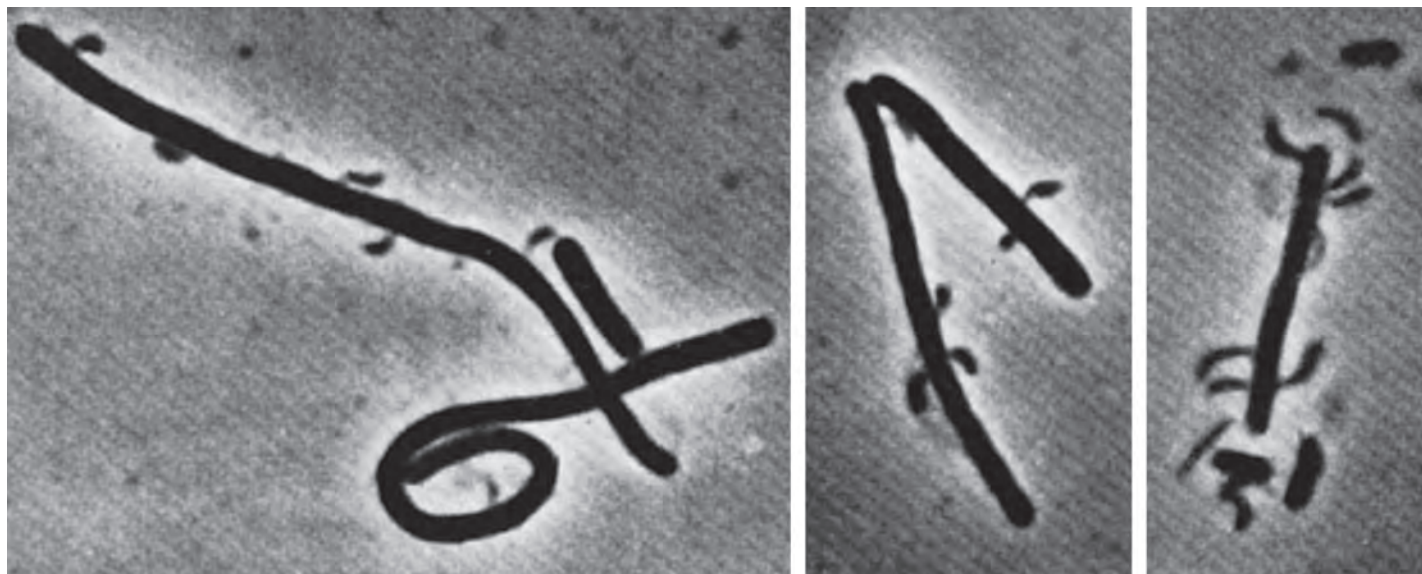


Рис. 1. Взаимодействие клеток штамма *Bdellovibrio bacteriovorus* Bd.A3.12 в смешанной культуре с клетками штамма *Pseudomonas fluorescens* A3.12. Zeiss Photomicroscope; 100× Neofluar Ph 3, фазово-контрастный объектив с масляной иммерсией, на 1,32; фазово-контрастный конденсор V Z на 1,40. Финальная магнификация ×2060 [3].

Бактериям было присвоено родовое название *Bdellovibrio* (βδέλλα – пиявка, греч.). Они проникали внутрь атакуемой клетки-хозяина, размножались в ней и лизировали ее, за что и были названы «хищными и бактериолитическими» (predatory and bacteriolytic) [3]. Позже хищные бактерии были обнаружены в сточных, пресных и морских водах, а также в кишечнике человека и животных [4]. В 1980-х годах были описаны хищные бактерии родов *Micavibrio* и *Vampirovibrio*, которые не проникали внутрь клеток хозяев, а только прикреплялись к их поверхности [5].

По современной систематике бактерий, основанной на анализе первичных последовательностей генов 16S рРНК и генов «домашнего хозяйства», хищные бактерии отнесены к трем классам: *Alphaproteobacteria* (виды *Micavibrio aeruginosavorus* и *Micavibrio admirandus*); *Deltaproteobacteria* (виды *Bdellovibrio bacteriovorus*, *Bacteriovorax starrii* и *Bacteriovorax stolpii*) и *Melainabacteria* (вид *Vampirovibrio chlorellavorus*) [6–10]. Бактерии, сходные с *Bdellovibrio bacteriovorus* по типу питания, объединяют в несистематическую группу – BALO (*Bdellovibrio and like organisms*, *Bdellovibrio* и подобные организмы). Наиболее изученным и охарактеризованным на сегодняшний день видом хищных бактерий является *Bdellovibrio bacteriovorus*, которому и посвящен настоящий обзор литературы.

Культурально-морфологические свойства

Морфология клеток и характер их взаимодействия с клетками штаммов-хозяев были визуализированы с помощью фазово-контрастной и электронной микроскопии (рис. 1, 2). Это мелкие грамтрицательные бактерии длиной до 1 мкм и толщиной ~0,3 мкм. Они имеют один полярный жгутик, благодаря которому активно двигаются со скоростью около 160 мкм/с, являясь «рекордсменами» по скорости передвижения среди бактерий [3, 11]. В верхнем слое питательной среды при культивировании методом двуслойного агара *B. bacteriovorus* на фоне штамма-хозяина формирует негативные бляшки [2].

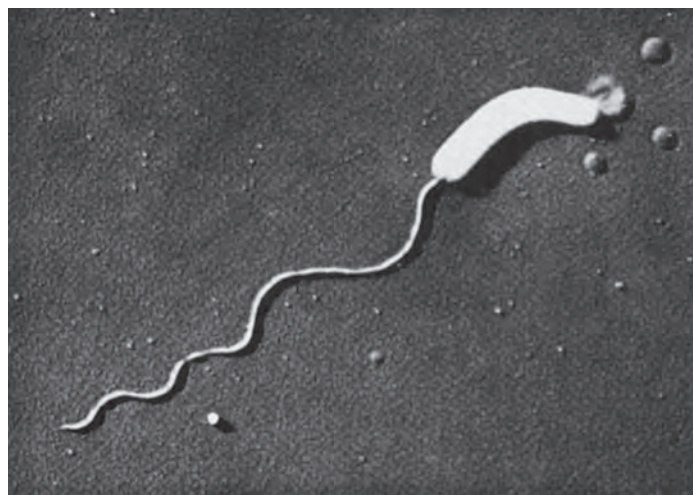


Рис. 2. Микрофотография клетки *Bdellovibrio bacteriovorus* при увеличении ×14 000 [3].

Установлено, что клетки *B. bacteriovorus* проявляют положительный хемотаксис в отношении одних веществ (аминокислоты, соли органических кислот, D-глюкозо-6-фосфат, ацетил коэнзим А) и катионов (аммония, бария, марганца и калия) и отрицательный – в отношении других. Спектры хемотаксиса различаются для разных штаммов *B. bacteriovorus*. Для всех штаммов вида характерен азотаксис – положительный хемотаксис к источнику кислорода [12, 13].

Показано, что клеточная стенка бактерий рода *Bdellovibrio* имеет строение, типичное для грамтрицательных бактерий [14]. Для *B. bacteriovorus* описано специфическое строение ЛПС, липиды которого содержат α-D-маннозу вместо остатков фосфатных групп [15]. Для *B. stolpii* описано наличие во внешней мембране сфингофосфолипидов, редко встречающегося у бактерий [16].

В ранних исследованиях показана высокая чувствительность хищной формы *B. bacteriovorus* к ультрафиолетовому излучению длинноволнового диапазона (ультрафиолет А)

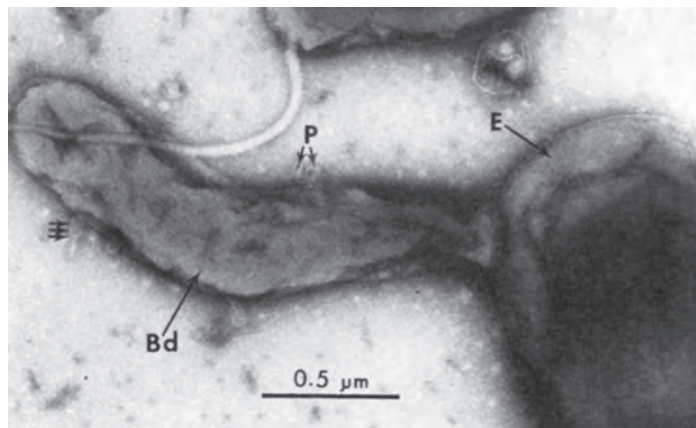


Рис. 3. Электронная микрофотография взаимодействия бактериофага MAC-3 (P) с клеткой штамма *Bdellovibrio bacteriovorus* 114 (Bd), атакующей клетку *Escherichia coli* ATCC 15144 (E) [23].



Рис. 4. Электронная микрофотография взаимодействия клеток штамма *Bdellovibrio bacteriovorus* Bd.100 с клеткой штамма-хозяина *Erwinia amylovora* 100 при увеличении $\times 26\ 200$ [3].

и низкая чувствительность к нему сапротрофной формы, что объясняется наличием специфического пигмента у последней [17].

B. bacteriovorus – облигатный аэроб, однако может в течение нескольких дней сохранять жизнеспособность и размножаться в бескислородных и микроаэрофильных условиях [18, 19]. Проявление хищнической активности *B. bacteriovorus* зафиксировано в диапазоне температур от 19 до 42°C с оптимумом при 28°C [18, 20], при высоком содержании солей Mg^{2+} и Ca^{2+} в окружающей среде и при pH от 5,6 до 8,6. Показана возможность хищнического роста *B. bacteriovorus* на клиническом изоляте *Klebsiella pneumoniae* EARSSU271, устойчивом к карбапенемам, *in vitro* в сыворотке человеческой крови, дополненной плазмой АВ [21].

Для культивирования как сапротрофной, так и хищной форм бактерий рода *Bdellovibrio* используют богатые плотные и жидкие питательные среды на основе среды Nutrient broth с добавлением $MgCl_2$ и $CaCl_2$ до конечных концентраций 2 и 3 мМ соответственно [22].

Для *B. bacteriovorus* описана чувствительность к литическим бактериофагам, выделенным из сточных вод на сапротрофной форме этих бактерий-хищников [23], причем

чувствительность как сапротрофной, так и хищной форм *B. bacteriovorus* (рис. 3).

Для BALO описана штаммоспецифичная чувствительность к антибактериальным препаратам: бета-лактамам, ванкомицину, колистину, аминогликозидам, полимиксинам, налидиксовой кислоте и стрептомицину. У *B. bacteriovorus* «дикого» типа зафиксирована способность к формированию стрептомицин-устойчивых мутантов [3, 24].

Показано, что бактерии *B. bacteriovorus* и BALO сохраняют способность к размножению и хищническому образу жизни после хранения в течение месяца в виде негативных колоний на двухслойном агаре и в жидкой питательной среде при температуре 5°C, а также после длительного хранения в лиофильно высушенном виде совместно с клетками штамма-хозяина [3, 4].

Жизненный цикл

У бактерий *B. bacteriovorus* выявлены две формы существования: хищная – зависимая от хозяина (host dependent, HD) и сапротрофная – независимая от хозяина (host independent, HI). Хищная форма включает в себя фазу атаки (вне бактерии-хозяина) и фазу размножения внутри периплазматического пространства бактерии-хозяина. Для некоторых представителей рода *Bdellovibrio*, кроме того, описано существование покоящихся форм, устойчивых к высушиванию [25]. В течение фазы атаки клетки *B. bacteriovorus* активно двигаются во внешней среде, на большой скорости сталкиваются с клетками грамотрицательных бактерий. *B. bacteriovorus* прикрепляется к наружной мембране клетки-хозяина (рис. 4) и проникает в ее периплазматическое пространство, где теряет жгутик и выделяет большое количество гидролитических ферментов, «переваривающих» внутреннее содержимое бактерии-добычи. В течение фазы размножения *B. bacteriovorus* растет без деления внутри бактерии-хозяина, образуя асепатную нитевидную клетку. Затем происходит септация нити на 2–7 частей, каждая из которых превращается в бактериальную клетку с одним жгутиком. Новые клетки *B. bacteriovorus* лизируют внешнюю мембрану «переваренной» клетки-хозяина и выходят во внешнюю среду. Продолжительность HD-цикла составляет ~100 минут [3, 26].

В популяции клеток *B. bacteriovorus* спонтанно, с частотой 10^{-6} – 10^{-7} , появляются мутанты HI, способные к сапротрофному питанию и образующие после 7-дневной инкубации при температуре 30°C на плотной питательной среде колонии диаметром от едва заметного до ~3 мм. Обратно, в популяции HI-мутантов *B. bacteriovorus* спонтанно, с частотой 10^{-6} , появляются мутанты HD, способные к хищническому образу жизни [3]. HI-мутанты обладают сниженной способностью к росту в периплазматическом пространстве бактерий и образуют негативные бляшки мельче по размеру и менее прозрачные, чем образованные HD-штаммами *B. bacteriovorus* дикого типа [27]. В отличие от HD-формы, HI-мутанты могут представлять собой клетки различной формы и иметь от одного до трех жгутиков различной толщины [3].

Бактериолитическая активность

Спектр бактериолитической активности *B. bacteriovorus* очень широк и потенциально включает практически все гра-

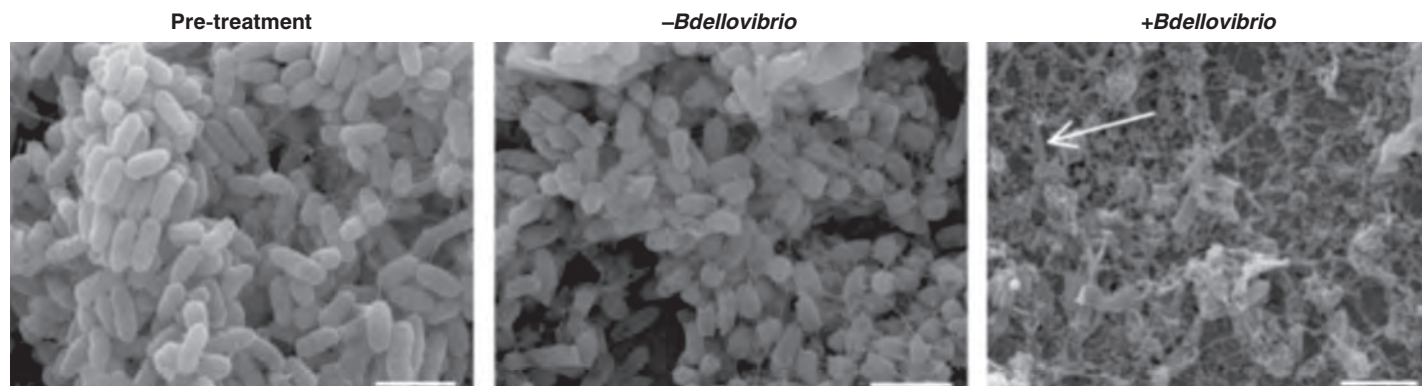


Рис. 5. Электронная микрофотография воздействия хищных бактерий штамма *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J на биопленку штамма *Escherichia coli* ZK2686 на разделе фаз (интерфейсе) воздух-жидкость. Стрелкой указана прикрепленная клетка *Bdellovibrio bacteriovorus*. Размер деления шкалы 2 нм. Магнификация $\times 10\,000$ [38].

мотрицательные бактерии [3], в том числе возбудителей госпитальных и внегоспитальных инфекций: *Acinetobacter spp.*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter spp.*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Morganella morganii*, *Proteus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Salmonella enterica*, *Serratia marcescens*, *Shigella spp.*, *Vibrio spp.*, *Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Burkholderia cepacia*, *Helicobacter pylori*, *Campylobacter jejuni*, *Legionella spp.* и др. [28–31]. Особый интерес представляет литическая активность клеток *B. bacteriovorus* против бактериальных возбудителей инфекций ротовой полости и стоматологических заболеваний человека: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Eikenella corrodens* и *Fusobacterium nucleatum* [32–35]. Показано губительное действие *B. bacteriovorus* на цианобактерии *Microcystis aeruginosa*, загрязнители водоемов, участвующие в «цветении» воды [36]. Спектры бактериолитической активности значительно различаются для разных штаммов *B. bacteriovorus* [30].

Важным свойством клеток *B. bacteriovorus* является их способность проявлять бактериолитическую активность не только против планктонных форм грамотрицательных бактерий, но и против бактериальных биопленок (рис. 5), а также способность поражать гипермукоидные клетки бактерий, покрытые толстым слоем капсульного вещества (рис. 6) [37–39].

Чувствительность к бактериолитическому действию *B. bacteriovorus* у штаммов грамотрицательных бактерий связана с отсутствием у них или повреждением S-слоев клеточной поверхности, которые представляют собой паракристаллические двумерные массивы белков или гликопротеинов, покрывающих клеточную поверхность некоторых штаммов и видов бактерий [40].

Бактериолитическая активность *B. bacteriovorus* зависит от окружающей среды: показано, что ряд веществ (глюкоза, глицерин, аскорбиновая кислота, тиогликолят натрия, цистеин и глутатион) в высоких концентрациях снижают эту активность [3, 41].

Молекулярно-генетические особенности

В 2004 г. геном штамма *B. bacteriovorus* HD100 был секвенирован и аннотирован в базе данных GenBank (NC_005363.1) (таблица). Особенностью генома *B. bacteriovorus* является большое количество генов гидролаз: пептидаз и протеиназ ($n = 150$), ДНКаз ($n = 20$), липаз ($n = 15$), гликаназ ($n = 10$),

РНКаз ($n = 9$) и других гидролитических белков ($n = 89$). Большинство продуктов этих генов участвуют в переваривании бактерии-хозяина [42].

Сопоставление морфофункциональных свойств *B. bacteriovorus* и результатов анализа их генома позволило создать модель хищнической формы существования, состоящей из 8 стадий.

Стадия I (фаза атаки) – движение с большой скоростью с помощью полярного жгутика – обеспечивается наличием 6 кластеров генов подвижности и 6 копий генов флагеллина [43].

Стадия II – обратимый контакт с клеткой добычи, переходящий в необратимое закоривание – пассивное белок-белковое и ЛПС-ЛПС взаимодействие между компонентами внешних мембран; активная адгезия с помощью пилей IV типа (гены *pil*) и белков флагеллина (гены *tadA* и *tadB*).

Стадия III – *B. bacteriovorus* генерирует небольшое отверстие во внешней мембране и пептидогликановом слое клетки-хозяина, проникает в периплазматическое пространство, теряет жгутик и запечатывает отверстие во внешней мембране; этот процесс осуществляется смесью протеолитических ферментов (136 генов протеиназ), которые растворяют пептидогликан и другие компоненты клетки-добычи.

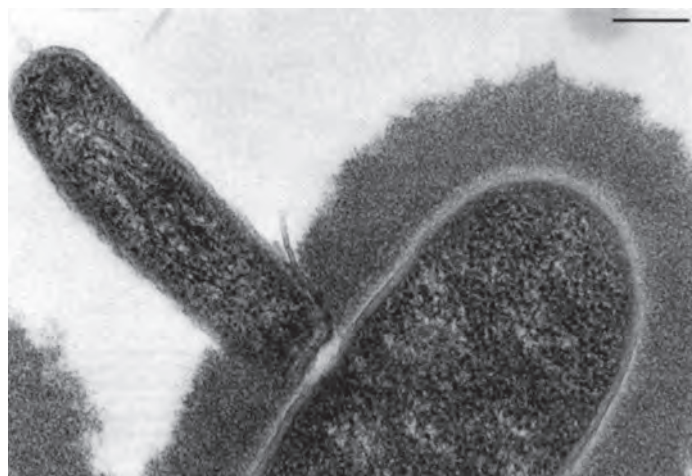


Рис. 6. Микрофотография взаимодействия клетки штамма *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J с капсулированной клеткой штамма *Escherichia coli* K29. Размер деления шкалы 200 нм [39].

Таблица. Основные геномные характеристики штамма *Bdellovibrio bacteriovorus* HD100 [42]

Вид	<i>Bdellovibrio bacteriovorus</i>
Штамм	HD100 (Deutsche Sammlung Mikroorganismen DSM50701)
Размер генома, п.н.	3782950
содержание ГЦ	50,7%
содержание ГЦ в кодирующих областях	50,4%
Количество открытых рамок считывания нуклеотидных последовательностей, подобных генам известных белков	1995
консервативных гипотетических белков	382
гипотетических белков	1207
кодирующий потенциал	93%
средняя длина нуклеотидных последовательностей генов, п.н.	982
Количество оперонов рРНК	2
Количество генов тРНК	36
Мобильные генетические элементы	1 IS элемент 4 транспозазы
Четыре области, отличающиеся по ГЦ составу	оперон синтеза ЛПС вставка профага в ген тРНК ^{met} кластер рибосомных генов оперон системы рестрикции-модификации
	150 протеаз/пептидаз 20 ДНКаз
Нуклеотидные последовательности, кодирующие гипотетические ферменты	9 РНКаз 10 гликаназ 15 липаз 89 прочих
Примечание: п.н. – пар нуклеотидов; ГЦ – гуанин, цитозин; рРНК – рибосомная РНК; тРНК – транспортная РНК; тРНК ^{met} – транспортная РНК метионина; IS – insertion sequence.	

Стадия IV – репликация ДНК и синтез клеточных биополимеров *B. bacteriovorus*; интересно, что в геноме бактерии-хищника присутствуют гены, кодирующие синтез 11 аминокислот, и гены «деградации» только 10 аминокислот [37], но при этом присутствует полный набор генов ферментов для образования пуриновых и пиримидиновых оснований; большинство структур бактерии-хозяина гидролизуются до мономеров, однако есть данные об использовании *B. bacteriovorus* отдельных мембранных белков организма хозяина – OmpF [44].

Стадия V – изменение формы клетки-добычи и образование совместной структуры бделлопласта – в геноме *B. bacteriovorus* обнаружено 9 генов, кодирующих гликан-модифицирующие ферменты (растворимые и мембранно-связанные литические трансгликозилазы, эффлектор гидролиза муреина); при этом активируются эффлюксные насосы (147 ABC-семейства и 97 MFS-суперсемейства) [45].

Стадия VI – филаментозная клетка *B. bacteriovorus*, которая в несколько раз превышает исходный размер клетки, начинает септироваться (контролируется генами, гомологичными *mreB*, *mbi*, *ftsZ* и *smc*).

Стадия VII – формирование жгутиковых клеток *B. bacteriovorus* во всем объеме клетки-хозяина.

Стадия VIII – продукция гидролитических ферментов для растворения оставшегося слоя пептидогликана и наружной мембраны клетки-добычи для высвобождения потомства *B. bacteriovorus* [42].

Удивительной особенностью генома *B. bacteriovorus* является наличие в нем не только гена цитохромоксидазы *CYTaа3* (необходимой для аэробного дыхания клетки), но и

генов нитратредуктазы и редуказы оксида азота, что указывает на возможность использования этой бактерией в качестве конечных акцепторов электронов не только кислорода, но и других соединений [46].

Патогенность *B. bacteriovorus* для эукариотических организмов и клеточных культур

Вопрос о патогенности *Bdellovibrio* по отношению к эукариотическим организмам является важным с точки зрения дальнейшего возможного использования этого биологического объекта в ветеринарии и медицине. Отсутствие патогенности *B. bacteriovorus* для эукариотических организмов было продемонстрировано *in vivo* на ряде животных моделей.

В эксперименте *in vivo* на модели двухсуточных цыплят показано отсутствие у экспериментальных животных каких-либо симптомов заболеваний (летаргии, потери веса, сгорбленной осанки, взъерошенных перьев, поникших крыльев, аномальных выделений и др.) в течение 4 нед после перорального введения им суспензии *B. bacteriovorus* в дозе $1,9 \times 10^6$ БОЕ/особь [18].

На «глазной модели» кроликов *in vivo* после нанесения на глазное яблоко кролика 100 мкл суспензии клеток *B. bacteriovorus* в концентрации 10^9 БОЕ/мл было показано отсутствие симптомов кератоконъюнктивита (воспаления роговицы и конъюнктивы, усиленного слезоотделения, гнойных и слизистых выделений, отека конъюнктивы) [47].

Не обнаружено негативного воздействия клеток *B. bacteriovorus* HD100 на организмы личинок восковой моли *Galleria mellonella*, т. к. через 11 сут после инъекции им $1,1 \times 10^7$ БОЕ/особь клеток хищных бактерий жизнеспособность сохранили 100% особей [30].

В экспериментах *in vitro* при сокультивировании бактерий *B. bacteriovorus* с первичными культурами клеток печени мыши, почек хомяка и молочных желез крупного рогатого скота было показано, что в течение 10 ч клетки *B. bacteriovorus* не прикреплялись к эукариотическим клеткам и не проникали внутрь этих клеток. Через 6–18 ч эксперимента численность клеток *B. bacteriovorus* снизилась на 20–40% по сравнению с исходным уровнем [48].

При совместной инкубации клеток *B. bacteriovorus* с кроличьими и бычьими эритроцитами через 30 мин отмечали прикрепление 10–30 клеток бактерий-хищников к 3% эритроцитов и проникновение 1–3 клеток *B. bacteriovorus* внутрь некоторых эритроцитов. При этом размножения *B. bacteriovorus* в данных условиях не наблюдали [48].

При сокультивировании клеток *B. bacteriovorus* с неоплодотворенными яйцеклетками кролика в течение 2–12 ч показали обратимое присоединение бактерий-хищников к внешней части большинства яйцеклеток, но без проникновения внутрь клеток. При введении бактерий *B. bacteriovorus* в перивителлиновое пространство (*zona pellucida*) или цитоплазму неоплодотворенных яйцеклеток кролика внутриклеточного размножения *B. bacteriovorus* не отмечено [48].

Дополнительное доказательство отсутствия негативного воздействия *B. bacteriovorus* на эукариотические клетки получено при совместном культивировании клеток хищных бактерий с культурой клеток лимбального эпителия рогови-

цы человека: через 24 ч сокультивирования не зафиксировано увеличения продукции цитокинов (интерлейкина IL-8 и фактора некроза опухоли TNF- α) эукариотическими клетками [30].

Использование *B. bacteriovorus* в ветеринарии и сельском хозяйстве

В ряде исследований описано использование культур бактерий *B. bacteriovorus* в качестве антибактериального средства на экспериментальных моделях сельскохозяйственных животных, растений и грибной культуры.

Показано, что пероральное введение суспензии клеток *B. bacteriovorus* в желудочно-кишечный тракт двухсуточных цыплят приводило к частичному изменению бактериального микробиома (снижению численности анаэробов и лактобацилл, увеличению численности стрептококков, без изменения численности бифидобактерий и колибактерий), однако это не отражалось на состоянии здоровья птиц [18].

На модели сальмонеллезной инфекции у односуточных цыплят, вызванной пероральным введением $3,16 \times 10^7$ КОЕ на особь клеток высоковирулентного для цыплят штамма *Salmonella enterica* serovar *Enteritidis* P125109, был продемонстрирован лечебный эффект от введения цыплятам (на 10-е сутки после их заражения сальмонеллами) клеток штамма *B. bacteriovorus* HD100 в дозе $9,8 \times 10^6$ БОЕ на цыпленка: концентрация патогена в содержимом кишечника на 2-е сутки после введения препарата хищных бактерий снижалась на порядок [18].

Антибактериальное лечебное действие штамма *B. bacteriovorus* C-1 показано на модели прудовых рыб *Carassius gibelio* (Серебряный карась). Рыб с искусственными повреждениями субдермиса помещали в емкости с водой при температуре 25°C, содержащей культуру патогенной для рыб бактерии *Aeromonas hydrophila* в концентрации $5,0 \times 10^8$ КОЕ/мл. Внесение в воду хищных бактерий *B. bacteriovorus* в концентрации $5,0 \times 10^3$ и $5,0 \times 10^5$ БОЕ/мл снижало гибель рыб *C. gibelio* и составляло 35 и 5% соответственно, в то время как гибель рыб в воде, контаминированной *A. hydrophila* без хищных бактерий, достигала 80% [49].

Аналогичные результаты по антибактериальной защите с помощью хищных бактерий получены на модели королевских креветок *Penaeus vannamei*, инфицированных патогенными бактериями *Proteus penneri* в воде, содержащей $5,0 \times 10^6$ КОЕ/мл патогена. Обработку зараженных креветок хищными бактериями проводили, внося в воду клетки в разных концентрациях. На 7-й день после начала эксперимента были зафиксированы разные уровни смертности креветок в воде, содержащей *P. penneri* (100%) и *P. penneri* с *B. bacteriovorus* в концентрациях $5,0 \times 10^3$ и $1,0 \times 10^4$ БОЕ/мл (42,0 и 21,4 % соответственно) [50].

В другом исследовании продемонстрировано антибактериальное действие *B. bacteriovorus* против возбудителя бактериоза сои *Pseudomonas glycinea*. Сформированные 28-дневные растения сои сорта «Кларк 63» культивировали в стерильных условиях и обрабатывали путем протирания листьев марлевым тампоном, смоченным суспензиями, содержащими бактерии *P. glycinea* и *B. bacteriovorus* в соотношении 1:0 (контроль), 1:1, 1:9 и 1:99. На 10–14-й день после обработки оценивали площадь поражения листьев

бактериальным ожогом и системные симптомы болезни у растений. Показано, что площадь поражения листьев в контроле (*P. glycinea*) составила 100%, в то время как для бактериальных смесей (*P. glycinea* и *B. bacteriovorus*) в соотношении 1:1, 1:9 и 1:99 – 76–100, 1–25 и 1–25% соответственно. Системные патологические симптомы наблюдались у 100% растений в контроле и у 25, 5 и 5% растений в экспериментальных группах [51].

На модели грибной культуры шампиньона двуспорового *Agaricus bisporus* исследовано применение *B. bacteriovorus* против бактериальной пятнистости, вызываемой *Pseudomonas tolaasii*. Стерильную суточную грибницу *A. bisporus* инфицировали нанесением бактериальной суспензии *P. tolaasii* ($1,7 \times 10^6$ КОЕ), через 48 ч оценивали степень поражения грибницы по площади пятна бактериального повреждения. Антибактериальный эффект *B. bacteriovorus* против *P. tolaasii* определяли, нанося на грибницу смесь культур *P. tolaasii* ($1,7 \times 10^6$ КОЕ) и *B. bacteriovorus* ($2,9 \times 10^6$ БОЕ). Внесение хищных бактерий снижало в два раза (по площади) степень поражения грибницы бактериальной пятнистостью *P. tolaasii* [52].

Использование *B. bacteriovorus* в качестве биологического дезинфектанта

Показана эффективность использования суспензии хищных бактерий штамма *B. bacteriovorus* 45k ($5,0 \times 10^9$ БОЕ) в качестве биологического дезинфектанта в модельном эксперименте при обработке поверхностей (площадью $\approx 6,5$ см²) из нержавеющей стали, контаминированных бактериальными возбудителями ($1,0 \times 10^9$ КОЕ) пищевой инфекции: шига-токсин продуцирующими штаммами *E. coli* O157:H7 и *E. coli* O26:H11. Антибактериальную эффективность *B. bacteriovorus* оценивали через 24 ч, делая смыв с поверхности и высевая бактериальную суспензию на плотные питательные среды. Для поверхностей, обработанных хищными бактериями *B. bacteriovorus*, зафиксировано снижение показателя КОЕ шига-токсинпродуцирующих штаммов *E. coli* на три порядка по сравнению с аналогичным показателем для контрольных поверхностей (не обработанных *B. bacteriovorus*) [20].

Заключение

Хищные бактерии являются уникальным и малоизученным объектом в биологии. Исследования биологических и генетических особенностей данной группы бактерий представляют интерес как с точки зрения фундаментальных вопросов микробиологии, так и с точки зрения возможного их использования в качестве антибактериальных агентов в практике ветеринарии, медицине и пищевой промышленности.

Литература/References

1. Гиляров МС. Биологический энциклопедический словарь. М.: Советская энциклопедия, 1986, 893 с. / Gilyarov MS. Biologicheskii entsiklopedicheskii slovar'. Moscow: "Sovetskaya entsiklopediya" Publ., 1986, 893 p. (In Russian).
2. Stolp H, Petzold H. Untersuchungen fiber einen obligat parasitischen Mikroorganismus mit lytischer Aktivitat for *Pseudomonas*-Bakterien. Phytopathol Z. 1962;45:364-390.

3. Stolp H, Starr MP. *Bdellovibrio bacteriovorus* gen. et sp. n., a predatory, ectoparasitic, and bacteriolytic microorganism. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 1963;29:217-248.
4. Jurkevitch E. Predatory behaviors in bacteria-diversity and transitions. *Microbe-Amer Soc Microbiol*. 2007;2:67-73.
5. Guerrero R, Pedros-Alio C, Esteve I, Mas J, Chase D, Margulis L. Predatory prokaryotes: predation and primary consumption evolved in bacteria. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1986;83(7):2138-2142.
6. Davidov Y, Huchon D, Koval SF, Jurkevitch E. A new alpha-proteobacterial clade of *Bdellovibrio*-like predators: implications for the mitochondrial endosymbiotic theory. *Environ Microbiol*. 2006;8(12):2179-2188. DOI: 10.1111/j.1462-2920.2006.01101.x
7. Schwudke D, Strauch E, Krueger M, Appel B. Taxonomic studies of predatory bdellovibrios based on 16S rRNA analysis, ribotyping and the hit locus and characterization of isolates from the gut of animals. *Syst Appl Microbiol*. 2001; 24(3):385-394.
8. Snyder AR, Williams HN, Baer ML, Walker KE, Stine OC. 16S rDNA sequence analysis of environmental *Bdellovibrio*-and-like organisms (BALO) reveals extensive diversity. *Int J Sys. Evol Microbiol*. 2002;52(6):2089-2094. DOI: 10.1099/00207713-52-6-2089
9. Soo RM, Woodcroft BJ, Parks DH, Tyson GW, Hugenholtz P. Back from the dead; the curious tale of the predatory cyanobacterium *Vampirovibrio chlorellavorus*. *Peer J*. 2015;3:e968.
10. Wang Z, Kadouri DE, Wu M. Genomic insights into an obligate epibiotic bacterial predator: *Micavibrio aeruginosavorus* ARL-13. *BMC Genomics*. 2011 Sep 21;12: 453. DOI: 10.1186/1471-2164-12-453.
11. Rittenberg SC. *Bdellovibrio*: attack, penetration, and growth on its prey. *ASM News* 1983;49:435-439.
12. Straley SC, Conti SF. Chemotaxis in *Bdellovibrio bacteriovorus*. *J Bacteriol*. 1974;120(1):549-551.
13. Straley SC, LaMarre AG, Lawrence LJ, Conti SF. Chemotaxis of *Bdellovibrio bacteriovorus* toward pure compounds. *J Bacteriol*. 1979;140(2):634-642.
14. Thomashow MF, Rittenberg SC. Penicillin-induced formation of osmotically stable spheroplasts in nongrowing *Bdellovibrio bacteriovorus*. *J. Bacteriol*. 1978; 133(3):1484-1491.
15. Schwudke D, Linscheid M, Strauch E, Appel B, Zahringer U, Moll H, et al. The obligate predatory *Bdellovibrio bacteriovorus* possesses a neutral lipid A containing alpha-D-Mannoses that replace phosphate residues: similarities and differences between the lipid As and the lipopolysaccharides of the wild type strain *B. bacteriovorus* HD100 and its host-independent derivative HI100. *J Biol Chem*. 2003;278(30):27502-27512.
16. Watanabe Y, Nakajima M, Hoshino T, Jayasimhulu K, Brooks EE, Kaneshiro ES. A novel sphingophosphonolipid head group 1-hydroxy-2-aminoethyl phosphonate in *Bdellovibrio stolpii*. *Lipids*. 2001;36(5):513-519.
17. Friedberg D. Effect of light on *Bdellovibrio bacteriovorus*. *J Bacteriol*. 1977;131(2):399-404.
18. Atterbury RJ, Hopley L, Till R, Lambert C, Capeness MJ, Lerner TR, et al. Effects of Orally Administered *Bdellovibrio bacteriovorus* on the Well-Being and *Salmonella* Colonization of Young Chicks. *Appl Environ Microb*. 2011;77(16):5794-5803.
19. Schoeffield AJ, Williams HN, Turng BF, Falkler WA. A comparison of the survival of intraperiplasmic and attack phase *Bdellovibrios* with reduced oxygen. *Microbial Ecol*. 1996;32(1):35-46.
20. Fratamico PM, Cooke PH. Isolation of *Bdellovibrios* that prey on *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* species and application for removal of prey from stainless steel surfaces *J Food Saf*. 1996;16:161-173.
21. Baker M, Negus D, Raghunathan D, Radford P, Moore C, Clark G, et al. Measuring and modelling the response of *Klebsiella pneumoniae* KPC prey to *Bdellovibrio bacteriovorus* predation, in human serum and defined buffer. *Sci Rep*. 2017 Aug 21;7(1):8329. DOI: 10.1038/s41598-017-08060-4.
22. Fratamico PM, Whiting RC. Ability of *Bdellovibrio bacteriovorus* 109j to lyse gram-negative food-borne pathogenic and spoilage bacteria. *J Food Protect*. 1995; 58:160-164.
23. Althausen M, Samsonoff WA, Anderson C, Conti SF. Isolation and preliminary characterization of bacteriophages for *Bdellovibrio bacteriovorus*. *J Virol*. 1972;10(3):516-23.
24. Guether DL, Williams HN. AntibioGram characterization of aquatic and terrestrial *Bdellovibrio* isolates. Abstract Q-244 presented at the 93rd General Meeting of the American Society for Microbiology, Atlanta, Georgia, USA, 1993.
25. Burger A, Drews G, Ladwig R. Host range and infection cycle of a newly isolated strain of *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Arch Mikrobiol*. 1968;61(3): 261-279.
26. Sockett RE. Predatory lifestyle of *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Annu Rev Microbiol*. 2009;63:523-39. DOI: 10.1146/annurev.micro.091208.073346
27. Cotter TW, Thomashow MF. A conjugation procedure for *Bdellovibrio bacteriovorus* and its use to identify DNA sequences that enhance the plaque-forming ability of a spontaneous host-independent mutant. *J Bacteriol*. 1992;174(19): 6011-6017.
28. Dashiff A, Junka RA, Libera M, Kadouri DE. Predation of human pathogens by the predatory bacteria *Micavibrio aeruginosavorus* and *Bdellovibrio bacteriovorus*. *J Appl Microbiol*. 2011 Feb;110(2):431-44. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2010.04900.x
29. Markelova Nlu. Interaction of *Bdellovibrio bacteriovorus* with *Campylobacter jejuni* and *Helicobacter pylori*. *Mikrobiologija*. 2010;79:779-781.
30. Shanks RM, Davra VR, Romanowski EG, Brothers KM, Stella NA, Godbole D, et al. An eye to a kill: using predatory bacteria to control gram-negative pathogens associated with ocular infections. *PLoS One*. 2013 Jun 18;8(6):e66723. DOI: 10.1371/journal.pone.0066723.
31. Tomov A, Kassovsky V, Chorbadjiiska L, Tsvetkova E, Tsanev N, Vencheva Z. Lytic activity of *Bdellovibrio bacteriovorus* against bacteria of the family Legionellaceae. *Zentralbl Bakteriol Mikrobiol Hyg*. 1982;252(1):96-100.
32. Dashiff A, Kadouri DE. Predation of oral pathogens by *Bdellovibrio bacteriovorus* 109J. *Mol Oral Microbiol*. 2011 Feb;26(1):19-34. DOI: 10.1111/j.2041-1014.2010.00592.x.
33. Harini K, Ajila V, Hegde S. *Bdellovibrio bacteriovorus*: A future antimicrobial agent? *J Indian Soc Periodontol*. 2013;17(6):823-825.
34. Loozen G, Boon N, Pauwels M, Slomka V, Rodrigues HE, Quirynen M, et al. Effect of *Bdellovibrio bacteriovorus* HD100 on multispecies oral communities. *Anaerobe*. 2015 Oct;35(Pt A):45-53. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2014.09.011.
35. Van Essche M, Quirynen M, Sliepen I, Van Eldere J, Teughels W. *Bdellovibrio bacteriovorus* attacks *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*. *J Dent Res*. 2009 Feb;88(2):182-6. DOI: 10.1177/0022034508329693.
36. Caiola GM, Pellegrini S. Lysis of *Microcystis aeruginosa* by *Bdellovibrio* like bacteria. *J Phycol*. 1984;20:471-475.
37. Dwidar M, Monnappa AK, Mitchell RJ. The dual probiotic and antibiotic nature of *Bdellovibrio bacteriovorus*. *BMB Rep*. 2012 Feb;45(2):71-8. DOI: 10.5483/BMBRep.2012.45.2.71.
38. Kadouri D, O'Toole GA. Susceptibility of biofilms to *Bdellovibrio bacteriovorus* attack. *Appl Environ Microbiol*. 2005 Jul;71(7):4044-51. DOI: 10.1128/AEM.71.7.4044-4051.2005
39. Koval SF, Bayer ME. Bacterial capsules: no barrier against *Bdellovibrio*. *Microbiology*. 1997;143(3):749-753.
40. Gerbino E, Carasi P, Mobili P, Serradell MA, Gomez-Zavaglia A. Role of S-layer proteins in bacteria. *World J Microbiol Biotechnol*. 2015 Dec;31(12):1877-87. DOI: 10.1007/s11274-015-1952-9
41. Dashiff A, Keeling TG, Kadouri DE. Inhibition of Predation by *Bdellovibrio bacteriovorus* and *Micavibrio aeruginosavorus* via Host Cell Metabolic Activity in the Presence of Carbohydrates. *Appl Environ Microbiol*. 2011 Apr;77(7):2224-31. doi: 10.1128/AEM.02565-10

42. Rendulic S, Jagtap P, Rosinus A, Eppinger M, Baar C, et al. A predator unmasked: life cycle of *Bdellovibrio bacteriovorus* from a genomic perspective. *Science*. 2004;303(5658):689-692. DOI: 10.1126/science.1093027
43. Lambert C, Evans KJ, Till R, Hogley L, Capeness M, Rendulic S, et al. Characterizing the flagellar filament and the role of motility in bacterial prey-penetration by *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Mol Microbiol*. 2006;60(2):274-286. DOI: 10.1111/j.1365-2958.2006.05081.x
44. Diedrich DL, Duran CP, Conti SF. Acquisition of *Escherichia coli* outer membrane proteins by *Bdellovibrio* 109D. *J Bacteriol*. 1984;159(1):329-334.
45. Barabote RD, Rendulic S, Schuster SC, Saier MHJr. Comprehensive analysis of transport proteins encoded within the genome of *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Genomics*. 2007 Oct;90(4):424-46. DOI: 10.1016/j.ygeno.2007.06.002
46. Sockett RE, Lambert C. *Bdellovibrio* as therapeutic agents: a predatory renaissance? *Nat Rev Microbiol*. 2004;2(8):669-675. DOI: 10.1038/nrmicro959
47. Nakamura M. Alteration of *Shigella pathogenicity* by other bacteria. *Am J Clin Nutr*. 1972;25(12):1441-1451.
48. Lenz RW, Hespell RB. Attempts to grow *Bdellovibrios* micurgically-injected into animal-cells. *Arch Microbiol*. 1978;119:245-248.
49. Chu WH, Zhu W. Isolation of *Bdellovibrio* as biological therapeutic agents used for the treatment of *Aeromonas hydrophila* infection in fish. *Zoonoses Public Hlth*. 2010;57:258-264.
50. Cao H, He S, Lu L, Yang X, Chen B. Identification of a *Proteus penneri* isolate as the causal agent of red body disease of the cultured white shrimp *Penaeus vannamei* and its control with *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2014 Feb;105(2):423-30. DOI: 10.1007/s10482-013-0079-y.
51. Scherff RH. Control of bacterial blight of soybean by *Bdellovibrio bacteriovorus*. *Phytopathology*. 1973;63:400-402.
52. Saxon EB, Jackson RW, Bhumra S, Smith T, Sockett RE. *Bdellovibrio bacteriovorus* HD100 guards against *Pseudomonas tolaasii* brown-blotch lesions on the surface of post-harvest *Agaricus bisporus* supermarket mushrooms. *BMC Microbiol*. 2014 Jun 20;14:163. DOI: 10.1186/1471-2180-14-163

Информация об авторах:

Ермоленко Зинаида Михайловна, младший научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0079

Светоч Эдуард Арсеньевич, доктор ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ.
Телефон: (4967) 36-0079

Фурсова Надежда Константиновна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории антимикробных препаратов отдела молекулярной микробиологии ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора
Адрес: 142279, Московская область, Серпуховский р-н, п. Оболенск, ФБУН ГНЦ ПМБ
Телефон: (4967) 36-0079

Information about authors:

Zinaida M. Ermolenko, junior researcher of Antimicrobial Agents Laboratory, Molecular Microbiology Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: SRCAMB, 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079

Edward A. Svetoch, Dr. Sci. (Vet.), professor, Chief Researcher of Antimicrobial Agents Laboratory, Molecular Microbiology Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: SRCAMB, 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079

Nadezhda K. Fursova, Cand. Sci. (Biol.), Leading Researcher of Antimicrobial Agents Laboratory, Molecular Microbiology Department, State Research Center for Applied Microbiology and Biotechnology
Address: SRCAMB, 142279 Obolensk, Serpukhov district, Moscow region, Russian Federation
Phone: (4967) 36-0079

НОВОСТИ НАУКИ

Бактерии дезактивируют раковые лекарства

По данным ученых из Израиля, бактерии могут проникать внутрь опухолей и даже внутрь самих раковых клеток, а затем использовать свои собственные метаболические механизмы для разрушения противораковых лекарств и защиты опухоли. В частности, источником ингибирующего химиотерапию эффекта были бактерии *Mycoplasma hyorhinitis*, живущие в клетках кожи и на ней. По данным исследователей, эти и многие другие распространенные бактерии снабжены метаболическими путями, которые могут разрушить молекулу лекарственного противоракового средства гемцитабина и предотвращать его работу. Эти бактерии обладают геном, кодирующим фермент CDD-цитидиндезаминазу. Он переваривает гемцитабин, делая его безвредным для опухоли. Эти опыты были проведены на мышах. Существует ли подобное явление в организме человека, неизвестно, однако у 113 больных в раковых опухолях были обнаружены бактерии, способные разрушать гемцитабин. По мнению ученых, использование антибиотиков широкого спектра действия может принести больше вреда, чем пользы при определенных обстоятельствах. Лучшим подходом может стать разработка лекарств для избирательного блокирования бактериального метаболизма противораковых лекарств.



Bacteria deactivate cancer drugs

Science News. Naked Scientists [WWW Document], n.d. URL <https://www.thenakedscientists.com/articles/science-news/bacteria-deactivate-cancer-drugs> (accessed 10.3.18).