

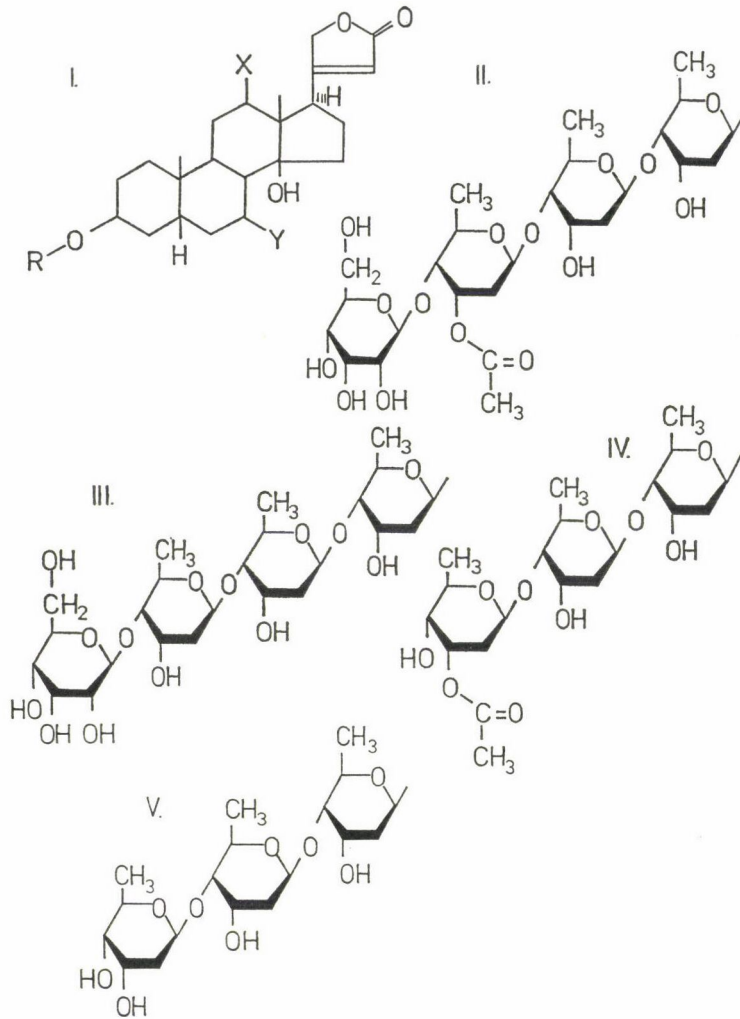
# IPARILAG HASZNOSÍTHATÓ BIOAKTÍV VEGYÜLETEKET TERMELŐ BAKTÉRIUMOK RENDSZERES KITENYÉSZTÉSE A BALATON TÉRSÉGÉNEK BIOTÓPJAIBÓL

HERPAY MÁRIA, SZABÓ ZSUZSA, PALIK PÁLNÉ, TIMKÓ MÁRIA,  
FARKAS ISTVÁN és SZABÓ ISTVÁN MIHÁLY

ELTE Mikrobiológiai Tanszék, Budapest

Az ELTE Mikrobiológiai Tanszékén már hosszú évek óta foglalkozunk antibiotikum-termelő baktériumtörzsek utáni kutatással, értékes ipari törzsek szabadalmi leírásával és a hasznosnak bizonyult izolátumok gyakorlatilag kiaknázható variabilitásának felderítésével. Részt vettünk többek között, a gentamicin C-komplex és a paromomicin előállítására benyújtott szabadalom kidolgozásában (Bérdy, J., Gyimesi, J., Horváth, I., Koczka, I., Boromissza, É., Gadó, I., Szabó, I., M., Zsadányi, J., Horváth, M., Bittera, V., Tölgyesi, L., Radnay, I., Scholtz, V., Igloy, M. és Szaika, L.: Magyar Szab. 161 093, 1974) a primicin-termelő „*Streptomyces primicini*” tényleges taxonómiai helyzetének (*Thermomonospora galeriensis*) tisztázásában, sziszomicintermelő új fajok (*Micromonospora rosea*, *M. danubiensis*, *M. purpureonigra*) leírásában és ezekkel nemzetközi szabadalmak biztosításában stb. Szabadalmi tevékenységünkben nagy segítséget jelentett számunkra a nemzetközi baktérium-típustörzs gyűjteményekkel kiépített kapcsolatrendszerünk, továbbá részvételünk az ICSB Subcommittee on the Taxonomy of the Actinomycetales kooperatív munkáiban. E Bizottság elnöke Prof. E. Küster (J. Liebig Univ., Giessen, BRD) Tanszékünkön 1981 őszen tartott összefoglaló előadást a patent-célokot is szolgáló actinomiceta-taxonómiai kutatások jelen helyzetéről. Küster előadásának anyaga az Annal. Univ. Sci. Eötvös (Budapest), Sect. Biol. legközelebbi kötetében (Nos 24—25) jelenik majd meg.

Tanulmányaink során a legkülönbözőbb természeti szubsztrátokból sok ezer aktinomiceta törzset izoláltunk és vizsgáltuk azokat részben — a Gyógyszerkutató Intézet munkatársaival együttműködésben — aktivitásra és/vagy szabadalmi célú taxonómiai pozicionálhatóságra. 1977-től a Balaton térségében széleskörű bakteriológiai munkálatokat kezdeményeztünk. A kiindulási pont a Keszthelyi Agrártudományi Egyetem Burgonyanemesítő Intézetének kísérleti gazdasága volt, melynek barna erdőtalajából extrém típusgazdag és biokémiailag különösen aktív *Streptomyces*-flórát tártunk fel. Ez a terület valóságos „bakteriológiai aranymezőnek” tűnt. Innen került elő a *Streptomyces vinaceus-drappus* egy KC-6 számjelzésű törzse, mely széles hatóspektrumú,



I. ábra. A szabadalmi eljárás lehetővé teszi, hogy valamely I általános képletű kardenolidot az *S. purpurascens* törzsek sülyesztett tenyészetében egy lépésben 12  $\beta$ -hidroxil-csoportot tartalmazóvá átalakítsák. X = H vagy OH; Y = H; R = H vagy II, III, IV, ill. V képletű csoport

Neisseria-kra és penicillináz enzimet termelő törzsekre is aktív, de egerekre toxikus, peptidkarakterű antibiotikum-komplexet termel. A Gyógyszerkutató Intézetben nagy tisztaságban előállított (8000 E/mg aktivitás) hatóanyag ma beható kutatások tárgyát képezi. Ugyancsak e talajokból izoláltuk a *Streptomyces purpurascens* KA-26 (MNG 179), KA-43 (MNG 178), KA-82 (MNG 177) és KC-157 (MNG 176) jelzésű törzseit is, melyek különösen értékeseknek bizonyultak primér sorbeli 12-dezoxi-kardenolidok átalakításában. A növényi eredetű kardenolidok egy része (pl. a lanatozid-C és a digoxin) gyógyszerként.

közvetlenül is alkalmazható, másokat — így a digitoxint, lanatozid-A-t — ahhoz, hogy gyógyászatilag alkalmazható legyen, mikrobiológiailag át kell alakítani. Az ilyen átalakítások elsősorban is a primér glükózid glükóz-, ill. acetil-csoportjának lehasítására, vagy a 12-dezoxiglükózidok hidroxilezésére irányulnak. A KA-26, KA-43, KA-82 és KC-157 törzsekkel benyújtott szabadalom (Albrecht, K., Szelezky, Z., Udvardy Nagy, I., Herpay, M. és Szabó, I. M.: Verfahren zur Herstellung von 12  $\beta$ -Hydroxycardenolidderivaten auf mikrobiologischem Wege. Swiss Patent Office, Bern, 9625/79, 1979) olyan eljárást biztosít, mely a primér sorbeli 12-dezoxi-kardenolidok átalakítását szekundér sorbeli 12  $\beta$ -hidroxil-csoportot tartalmazó kardenolidokká egyetlen fermentációs lépésben teszi lehetővé (1. ábra). Ennek révén a digitálisz növény feldolgozásakor melléktermékként nyert, főként primér A-sorbeli glükózidok előnyösen alakíthatók át gyógyászatilag hasznos termékekké. Az ilyen kifogástalanul identifikálható, egyébként tipikus (kék  $\rightarrow$  vörös indikátor pigment; elektronmikroszkópos megfigyelések szerint tüskésen ornamentált spórák; spirális spóratartók; melanoid pozitivitás; D-glükóz, L-arabinóz, D-xilóz, i-inozit, D-mannit, D-fruktóz, szacharóz, ramnóz és raffinóz értékesítés stb.) *S. purpurascens* törzsek szélesen elterjedtek a Keszthely környéki talajokban.

A felderítő munkát a Gyógyszerkutató Intézet munkatársaival később a Balaton egész régiójára kiterjesztettük, szubhidrikus és teresztrikus talajokra egyaránt. Így az *S. rishiriensis* VFB-25 törzs (balatonarácsi vörösföld) neomicin csoportba tartozó hatóanyaga Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumokra nagyon hatásosnak bizonyult. Apatogén *Mycobacterium* ellen is aktív volt a *Streptomyces* sp. VFA-45 vörösföld-izolátum, melynek kevésbé toxikus gátlóanyaga Gram-negatívakra már nem tűnt elég hatékonynak. A VFBM-38 jelzésű *Streptomyces*-törzs a Balaton környéki talajokban elterjedt polién antibiotikumot termelők képviselője. A Balaton fenéküledékéből tenyésztettük ki azt a TI-3-P-27 jelzésű *Streptomyces* törzset, mely rendkívül széles hatóspektrumú, még gombák és élesztők ellen is hatékony, állatkísérletekben biztatónak mutakozó antibiotikumot termel. Alacsony töménységben gátolja a *Mycoplasma pneumoniae*-t és szájon át adagolva nem toxikus. Számos más hatékony iszapizolátum vizsgálatára támaszkodva állítható, hogy a Balaton fenéküledéke igen gazdag antagonistá szervezetekben. Ezek a mikrobák a halak bélcsatornájába is bekerülhetnek, ahonnan pl. antibiotikus hatású *Streptomyces ochroleucus* vagy *S. diastatochromogenes* törzseket Márialigetinek (ELTE, Mikrobiológiai Tanszék) sikerült is izolálnia. A tó partszegélyének talajából a K-36 jelzésű *Streptomyces* törzset tenyésztettük ki, mely antraciklin-típusú antibiotikum komplexet termel. Ennek 3 fő és 5 minor komponensét már izolálták is. A főkomponensek savas hidrolízisekor kapott aglükon a  $\gamma$ -rodomicinonhoz hasonlít. A hidrolizátumból rodozamin és dezoxifukózt nyertek (Gyógyszerkutató Int.). Mind az iszapból, mind a tó környéke teresztrikus talajaiból és a tóba beömlő vizekből sok száz antagonistá *Streptomyces* és

Micromonospora került még elő, de ezek többsége gyógyszeripari szempontból vagy érdektelennek bizonyult vagy egértesztekben toxikusnak mutatkozott. Megállapíthattuk azonban, hogy a balatoni miliók antibakteriális és antifungális bioaktivitása jelentős.

1978-tól a gyógyszeripar számára hasznosítható törzsek felkutatásában tervszerűen kidolgozott rendszert igyekeztünk megvalósítani. Az izolátumokat ismert antibiotikumot termelő autentikus törzsekkel szimultán vizsgálatok keretében hasonlítottuk össze, és rajtuk számítógépes analíziseket végeztünk. Így sikerült kimutatni, hogy a Balaton iszapjában rendkívül értékes, gentamicintermelő *Micromonospora*-k egész populációja létezik. 1978-ban már 3 gentamicintermelő törzset tenyésztettünk ki: a *Micromonospora sagamiensis* 2-K-10 törzset (a parttól 300 m-re; kitin agaron), az *M. echinospora* 3-K-7 és az *M. purpurea* 3-K-13 törzseket (ezeket 50 m-re a parttól, ugyancsak kitin agaron). A 3-K-13 sajnos később kipusztult, de helyette 1981-ben, keményítő-pepton-húskivonat agaron a parttól 300 m-re vett mintából újabb hatékony gentamicin pozitív törzsre (10/4 törzs) bukkantunk. Valamennyi balatoni törzs gentamicin C-komplexet termel. A 10/4 törzs pl. 40–50  $\gamma$ /ml koncentrációban.

Ugyancsak 1981 nyarán izoláltuk azt az 5/12-jelzésű és rosamicint (rosaramicint) termelő *Micromonospora*-törzset, melynek ugyan a Balaton anyagcseréjében vitt szerepéről még nem sokat tudunk, de az márbizonyos, hogy nem azonosítható ezt a fontos és különösen a gonokokkuszok ellen hatékonyan alkalmazható antibiotikumot termelő, szabadalmilag védett *Micromonospora rosaria* és *M. capillata* fajokkal. Reményeink vannak tehát e törzs ipari értékesítésére. 1981 őszén a keszthelyi öbölből vett iszapmintákban amino-glikozid típusú antibiotikumokat termelő *Streptomyces* és *Micromonospora* törzseket találtunk. Két ilyen *Micromonospora*-törzs (No 190 és 206), melyek egyébként egymás között nagyfokú hasonlóságot mutattak (pl. mindkettő glukóz-, laktóz-, galaktóz-, melibióz-, raffinóz-, arabinóz- és ramnóz-pozitív, továbbá glicerin és inulin negatív) és két *Streptomyces*-törzs (No 181 és 83) jelenleg beható vizsgálatok tárgyát képezik.

Nyílt kérdés még, hogy a Balaton iszapja tartalmaz-e mérhető mennyiségű gentamicint, és hogy ezek a szervezetek mennyiben járulnak hozzá az iszap állítólagos gyógyhatásához. Érdemes megjegyezni, hogy pillanatnyilag a Balaton az egyetlen, most már nyilvántartott európai lelőhely, ahol gentamicintermelő szervezetekre eredménnyel lehet „vadászni”. Fernandez 1980-ban a Hévízi-tó gyógyhatású iszapjából Magyarországon elsőnek *Streptomyces streptomycini*-t tenyésztett ki. Más, ugyancsak antagonistá aktinomiceták egyidejű gyakori előfordulása a hévízi iszapban felhívja a figyelmet az iszapterápia bakteriológiai hatótényezőinek kutatására is. Suman ugyancsak 1980-ban 160, a Zala fenéküledékéből izolált *Streptomyces*-törzs között 100-at talált aktívnek a *B. subtilis*-re és 23-at az *E. coli*-ra, az *Aspergillus niger*-re 32 hatott, míg a *Saccharomyces cerevisiae*-re csak 18.

Érdekes, hogy bár mint láttuk gentamicintermelők a Balatonban gyakoriak, mégis igaz, hogy a Zalából izolált *Streptomyces*-ek között egyetlen gentamicin-rezisztens sem volt. Közöttük a penicillin-rezisztancia azonban 87% felett jelentkezett.

Jóllehet a Balaton „bakteriológiai hasznosítása” terén még csak a kezdet kezdetén vagyunk, mégis úgy tűnik, különleges biokémiai aktivitású, iparilag értékesíthető törzsek e régióban igen nagy számban fordulnak elő és felkutatásukat feltétlenül érdemesnek látszik összekötni a tó általános bakteriológiai dinamikájának tisztázására irányuló hidrobiológiai vizsgálatokkal.