

1. Любченко Т.А. Імунобіологічна активність фактора переносу імунної реактивності індукованого бактеріальними антигенами: Дис. канд. біол. наук: 14.03.02. – К., 1999. – 150 с. 2. J. Borvak, V. Mayer, L. Moravek. Amino acid analysis of selected reversed-phase high performance liquid chromatographic peaks of crude and partially purified lysed human leukocyte ultrafiltrate // Acta. Virol. – 1990. – Vol.34, №1. – P.11-18. 3. Холодна Л.С. Вплив стафілококового білка А та його різних форм на імунну відповідь: Дис. д-ра біол. наук: 14.03.02. / Л.С. Холодна. – К., 2001. – 345 с. 4. H.S. Lawrence, W. Borkowsky. Transfer factor – current status and future prospects // Biotherapy. – 1996. – Vol.9, № 1-3. – P.1-5. Д.П.Артемченко, В.А.Бурый, И.А.Владимирова и др. Модификация метода одинарного сахарозного мостика // Физиол.журн. – 1982. – т.14,

№3. – С.374-380.6.Burdyga Th.V., Kosterin S.A. Kinetic analysis of smooth muscle relaxation // Gen. Physiol. Biophys. 1991. №10. P. 589–598. 7. K. Horiguchi, G.S. Semple, K.M. Sanders et al. Distribution of pacemaker function through the tunica muscularis of the canine gastric antrum // J Physiol. – 2001. – Vol.537, Pt 1. – P.237-250. 8.H. Suzuki, S.M. Ward, Y.R. Bayguinov et al. Involvement of intramuscular interstitial cells in nitrgic inhibition in the mouse gastric antrum // J Physiol. – 2003. – Vol. 546, Pt 3. – P.751-763. 9.Н.В. Меленевська, М.С. Мірошніченко, І.Б. Філіппов та ін. Фактор переносу імунної реактивності до дифтерійно-правцевого ана-токсину модулює дію нейромедаторів на гладенькі м'язи кишечника // Фізіологічний журнал. – 2007. – т.53, №1. – С.24-32.

Надійшла до редколегії 15.09.11

УДК 587.871.1:8.04.615.28

О. Радченко, канд. біол. наук, Л. Степура, канд. тех. наук,
П. Зелена, зав. уч. лаб.

ВПЛИВ ДОДЕЦИЛСУЛЬФАТУ НАТРІЮ НА ФІЗІОЛОГО-БІОХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ БАКТЕРІЙ РОДУ *CORYNEBACTERIUM*

Порівняно фізіолого-біохімічних властивостей вихідних штамів *Corynebacterium glutamicum* 22Л, *C.glutamicum* УКМ Ас-733, *C.variabilis* УКМ Ас-717 та їх варіантів, що впродовж 4 пасажів культивували на МПА з аніонною поверхнево-активною речовиною (ПАР) додецилсульфатом натрію (ДСН). Показано, що дія ДСН супроводжується появою у бактерій низки нових ферментів і збільшенням спектру субстратів.

Physiological and biochemical characteristics of the initial strains *Corynebacterium glutamicum* 22Л, *C.glutamicum* УКМ Ас-733, *C.variabilis* УКМ Ас-717 and 4 times recultivated on nutrient agar with anionic surfactant sodium dodecyl sulfate variants have been compared. It was shown that under influence of this compound bacteria acquired some enzymes and ability to use some additional substrates.

Вступ. Додецилсульфат натрію (ДСН) або натрію ларілсульфат ($C_{12}H_{25}NaO_4S$) – найбільш розповсюджена аніонна поверхнево-активна речовина (ПАР), яка входить до складу миючих засобів, шампуней, косметичних кремів, зубних паст як піноутворювач, а отже часто контактує з нормофлорою організму людини. За тривалого контакту завдяки мутагенним властивостям ці ксенобіотики здатні змінювати геном мікроорганізмів таким чином, що у останніх спочатку виникає стійкість до цих сполук, а згодом і здатність включати їх у свій метаболізм [2]. Разом з тим наслідки впливу ПАР на мікроорганізми й досі залишаються недостатньо вивченими.

Відомо, що *Enterobacter cloacae* під впливом катіонної ПАР бензалконій хлориду (1г/л) синтезував більше клітинних ліпідів, а за концентрації 0,1% утворював 1,3 – 1,5 мг/мл кислого полісахариду [6]. *Pseudomonas aeruginosa*, що була резистентною до бензалконій хлориду в концентрації 1 мг/мл, втрачала рухливість та здатність окиснювати глюкозу, давала негативну цитохромоксидазну реакцію, збільшувався час генерації [4].

Раніше нами було показано, що промисловий штам *Corynebacterium glutamicum* 22Л, після кількох пересівів на середовище з ДСН збільшував секрецію лізину в культуральну рідину у 1,5 рази, ставав резистентним до антибіотиків пеніцилінового і тетрациклінового рядів, змінював антигенність і склад поверхневих білків клітинної стінки, а дисоціація його клітин на грампозитивні і грамнегативні зростала з 0,1% (рівень природної дисоціації) до 40%, суттєво змінювалася морфологія клітин [3, 1]. Інші штами *Corynebacterium*, а саме

C.variabile УКМ Ас-717 і *C.glutamicum* УКМ Ас-733 під впливом ДСН несуттєво змінювали антигенні властивості, рівень дисоціації клітин за Грамом становив відповідно 8,9 і 8,2%, однак ці штами набували підвищеної чутливості до низки антибіотиків [1].

Оскільки зміни біологічних властивостей бактерій під дією ПАР, і зокрема ДСН, можуть створювати проблеми для їх ідентифікації, метою даної роботи було порівняти фізіолого-біохімічні властивості вихідних штамів *Corynebacterium* з їх варіантами, отриманими шляхом чотириразових пересівів на середовище з ДСН.

Об'єкт та методи досліджень. Об'єктами дослідження були три штами непатогенних бактерій роду *Corynebacterium*, а саме: *C.glutamicum* 22Л, *C.glutamicum* УКМ Ас-733, *C.variabilis* УКМ Ас-717 та їх варіанти, які отримували після 4 пасажів на МПА, в яке додавали додецилсульфат натрію до 50 мг/л. Фізіолого-біохімічні властивості вихідних штамів і їх варіантів визначали за допомогою мікробіологічного аналізатора Vitek 2 Compact (Biomerieux, Франція) [5]. Суспензії 72 годинних культур, що виростили на МПА і МПА з ДСН, у 3мл стандартного сольового розчину готували в умовах ламінарного боксу за 5-10 хв. до початку аналізу. Щільність суспензій за стандартом Мак Фарланда доводили до 2,70-3,30 McF за допомогою денситометра. У роботі використовували АНС-картки.

Результати та їх обговорення. Фізіолого-біохімічні властивості вихідних штамів та їх варіантів, що культивувалися на середовищі з ДСН, наведено у табл.1.

Таблиця 1. Фізіолого-біохімічні властивості вихідних штамів бактерій роду *Corynebacterium* та після культивування на середовищі з додецилсульфатом натрію

№ лунки	Тест	<i>Corynebacterium glutamicum</i> 22Л		<i>Corynebacterium glutamicum</i> 733		<i>Corynebacterium variabilis</i> 717	
		вихідний	після ДСН	вихідний	після ДСН	вихідний	після ДСН
4	D-Галактоза	-	-	-	-	-	-
5	Лейцинаріламідіаза	+	+	+	+	-	+
6	Виділення меркаптанів (Реакція з реактивом Еллмана)	+	+	+	+	-	-
7	Фенілаланінаріламідіаза	-	+	+	+	-	+
8	L-пролін-аріламідіаза	+	+	+	+	+	+
10	L-пірролідоніл-аріламідіаза	-	-	-	-	-	-
11	D-целобіоза	-	-	-	-	-	-
13	Тирозинаріламідіаза	-	-	-	(+)	-	(+)

Закінчення табл. 1

№ п/п	Тест	<i>Corynebacterium glutamicum</i> 22Л		<i>Corynebacterium glutamicum</i> 733		<i>Corynebacterium variabilis</i> 717	
		вихідний	після ДСН	вихідний	після ДСН	вихідний	після ДСН
15	Ala-Phe-Pro-ариламідаза	-	-	-	+	-	-
18	D-глюкоза	-	-	+	+	-	+
20	D-маноза	-	-	+	+	-	-
22	D-мальтоза	-	-	(-)	-	-	-
28	Сахароза	-	-	+	+	-	+
30	Арбутин	-	-	-	-	-	-
33	N-ацетил-D-глюкозамін	-	-	-	-	-	-
34	5-Бромо-4-хлоро-3-індоксил-бета-глюкозид	-	-	-	-	-	-
36	Уреаза	+	+	+	+	(+)	+
37	5-Бромо-4-хлоро-3-індоксил-бета-глюкуронід	-	-	+	+	-	+
39	Бета-галактопіранозидаза Індоксил	-	-	-	-	-	-
41	Альфа-арабінозидаза	-	-	-	-	-	-
42	5-Бромо-4-хлоро-3-індоксил-альфа-галактозид	-	-	-	-	-	-
43	Бета-манозидаза	-	-	-	-	-	-
44	Аргінін GР	-	-	-	-	-	-
45	Піруват	+	+	+	+	+	+
51	Мальтотріоза	-	-	+	+	-	+
53	Гідроліз ескуліна	-	-	-	-	-	-
54	Бета-D-Фукозидаза	-	-	-	-	-	-
55	5-Бромо-4-хлоро-3-індоксил-бета-N-ацетилглюкозамід	-	-	-	-	-	-
56	5-Бромо-4-хлоро-3-індоксил-альфа-манозид	-	-	-	-	-	-
57	Альфа-Фукозидаза	-	-	-	-	-	-
59	Фосфотаза	-	-	-	-	-	-
60	L-арабіноза	-	-	-	-	-	-
61	d-Рибоза 2	-	-	+	-	-	+
62	Фенілфосфонат	-	-	-	-	-	-
63	Альфа-L-арабінофуранозид	-	-	-	-	-	-
64	D-ксилоза	-	-	-	-	-	-

Позначення: "+" – реакція позитивна; "(+)" – реакція слабо позитивна; "-" – реакція негативна; "(-)" – реакція слабо негативна.

Як видно з таблиці, вихідні штами коринебактерій під впливом ДСН змінювали деякі свою фізіолого-біохімічні властивості. Так, у *C. glutamicum* 22Л з'являвся фермент фенілаланінамідаза. *C. glutamicum* УКМ Ас-733 набував тирозинамідазу (реакція змінилася з негативної на слабо позитивну) та Ala-Phe-Pro-ариламідазу, але втратив здатність розщеплювати d-рибозу 2 і D-мальтозу, показник окиснення якої змінився зі слабконегативної на негативну.

Найбільші зміни відбулися з *C. variabilis* УКМ Ас-717. Цей штам не втратив жодного ферменту, але набув 9 нових властивостей: у нього з'явилися лейцинамідаза, фенілаланінамідаза, тирозинамідаза (реакція змінилася з негативної на слабо позитивну), уреаза (реакція змінилася зі слабо позитивної на позитивну), і він почав розщеплювати d-рибозу 2, D-глюкозу, сахарозу, 5-бромо-4-хлоро-3-індоксил-бета-глюкуронід, мальтотріозу.

Висновки. Таким чином, було показано, що короткотривале (впродовж 4 пасажів) культивування бактерій роду *Corynebacterium* на МПА з незначним вмістом (50 мг/л) аніонної поверхнево-активної речовини додецилсульфату натрію призводить до зміни низки їх фізіолого-біохімічних властивостей, а саме: появи нових ферментів (лейцинамідази, фенілаланінамі-

дази, тирозинамідази, уреази) та розширення спектру субстратів.

1. Михальський Л.О., Фуртат І.М., Радченко О.С., Степура Л.Г. Вплив синтетичних поверхнево-активних речовин на деякі біологічні властивості непатогенних видів роду *Corynebacterium* // Мікробіол. журн. – 2006. – Т.68, №3. – С.52-61. 2. Ставская С. С., Удод В. М., Таранова Л. А., Кривец І. А. Микробиологическая очистка воды от поверхностно-активных веществ. – К., 1988. 3. Фуртат І.М., Ногіна Т.М., Михальський Л.О. та ін. Вплив поверхнево-активних речовин на деякі біологічні властивості *Corynebacterium glutamicum* // Національний університет "Києво-Могилянська Академія" Наукові записки. – 2002. – 20, 2. – С.435-438. 4. Adar F.W., Geflic S.G., Geiser J. Resistance of *Pseudomonas* to quaternary ammonium compounds. II. Cross resistance character ristics of a mutant of *Pseudomonas aeruginosa* // Appl. Microbiol. – 1971. – 21. – P.1058-1063. 5. David H. Pincus D.H. Microbial Identification Using the bioMérieux VITEK® 2 System in M.J.Miller Encyclopedia of Rapid Microbiological Methods, 2006. – V.2. – Co-Published PDA Book. 6. Nishikawa K., Oi S., Yamamoto T. Induced production of acidic polysaccharide by benzalkonium chloride in a bacterium and some properties of the acidic polysaccharide produced // Agr.and.Biol.Chem. – 1979. – 43, N11. – P.2305-2310.

Надійшла до редколегії 05.09.11