

Л.О. Михальський¹, І.М. Фуртат¹, О.С. Радченко², Л.Г. Степура²

¹Національний університет "Києво-Могилянська Академія",
вул. Григорія Сковороди, 2, Київ, 04070, Україна

²Київський національний університет імені Тараса Шевченка,
вул. Володимирська, 64, Київ, 01033, Україна

ВПЛИВ СИНТЕТИЧНИХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ
РЕЧОВИН НА ДЕЯКІ БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ
НЕПАТОГЕННИХ ВИДІВ РОДУ
CORYNEBACTERIUM

*Досліджено вплив катіонних, аніонних і неіоногенних синтетичних поверхнево-активних речовин (ПАР) на деякі біологічні властивості представників видів *Corynebacterium glutamicum*, *C. ammoniagenes*, *C. vitaeeruminis*, *C. variabile* і штаму *Corynebacterium sp.* (*Brevibacterium stationis*) У КМ Ас-719. Встановлено, що дія ПАР супроводжується зміною морфології клітин у представників деяких видів коринебактерій, втратою їх здатності зафарбовуватися за Грамом, а також істотними змінами антигенних властивостей та антибіотикочутливості досліджених штамів коринебактерій. Разом з тим не встановлено зв'язку між класом ПАР та змінами досліджених біологічних властивостей. Не виявлено також, кореляції між зміною здатності коринебактерій зафарбовуватися за Грамом після дії на них ПАР і зміною їх антигенних властивостей та чутливості до антибіотиків.*

Ключові слова: *непатогенні коринебактерії, синтетичні поверхнево-активні речовини, забарвлення за Грамом, антигенність, антибіотикочутливість.*

Відомо, що більшість синтетичних поверхнево-активних речовин (ПАР) належить до речовин, яким властива виражена антимікробна дія. Ці сполуки, що входять до складу косметичних, миючих і дезінфікуючих засобів, часто контактують з мікрофлорою організму людини. Зокрема, створені на основі ПАР, насамперед четвертинних амонійних сполук (ЧАС), дезінфектанти нового покоління широко застосовують для знезараження обладнання медичних установ і харчової промисловості, дезінфекції рук, санації ротоглотки тощо. Невпинне накопичення синтетичних ПАР у навколишньому середовищі призводить до того, що дедалі більша кількість мікроорганізмів контактує і зазнає впливу зазначених сполук [15, 16]. Під час тривалого контакту завдяки мутагенним властивостям вказані ксенобіотики здатні впливати на геном мікроорганізмів таким чином, що у останніх спочатку формується стійкість до цих сполук, а згодом здатність включати їх до власного метаболізму [1]. Разом із тим вплив ксенобіотиків на мікроорганізми й досі залишається недостатньо вивченим. У літературі трапляються поодинокі дані стосовно впливу ПАР на біологічні властивості мікроорганізмів, насамперед грамнегативних бактерій. Відомо, що формування стійкості останніх до ПАР часто супроводжується істотними змінами морфологічних, фізіологічних властивостей та ультраструктури клітин цих штамів. Зокрема, у штамів *Pseudomonas aeruginosa* і *Enterobacter cloacae*, що набули резистентності до ЧАС, спостерігали зміни ліпідного складу клітин, зокрема клітинної стінки (КС), зменшення розміру клітин і зміну форми та пігментації колоній, порушення розходження клітин під час поділу, втрату рухливості та здатності окиснювати глюкозу, підвищену чутливість до антибіотиків і аніонних ПАР, крім того, у таких клітин подовжувався час генерації [1,4,8,13]. Водночас у літературі практично відсутні дані щодо дії ПАР на грампозитивні бактерії, зокрема коринебактерії, які значно поширені у природі: вони є складовою нормальної мікрофлори людини і тварин, входять до складу природних біоценозів, а також використовуються у мікробіологічних виробництвах як продуценти амінокислот.

З урахуванням вищенаведеного метою цієї роботи було дослідження впливу синтетичних ПАР на деякі біологічні властивості непатогенних коринебактерій, зокрема на їхні морфологічні й антигенні властивості, а також чутливість до антибіотиків.

Матеріали і методи. Об'єктом дослідження були непатогенні коринебактерії та їх

варіанти^{Var}, що отримували після 4 пасажів на середовищі № 53 для культивування коринебактерій [9], в яке додавали різні синтетичні ПАР концентрацією 50 мг/л. У роботі використані штами *Corynebacterium glutamicum* УКМ Ас-733, *C. glutamicum* 22Л, *C. ammoniagenes* УКМ Ас-732^{Тип}, *C. vitaeruminis* УКМ Ас-718^{Тип}, *C. variabile* УКМ Ас-717^{Тип}, *Corynebacterium* sp. (*Brevibacterium stationis*^{Тип}) УКМ Ас-719, що підтримуються в Українській колекції мікроорганізмів (УКМ) Інституту мікробіології і вірусології ім. Д.К. Заболотного НАН України. У дослідах застосовували такі ПАР: катіонні — гіамін 2389 (бензалконіум хлорид), гіамін 1622 (бензетоніум хлорид), алкамон ДС (алкоксиметилметилдіетиламоній метасульфат), о-АДМА (оксид алкілдиметиламіну); аніонні — ДСН (додецилсульфат натрію), генопол LRO (лаурилсульфат натрію), уфарол АМ70 (лаурилсульфат амонію), АБС (алкілбензолсульфонат натрію) та неіоногенні — емпіген ОВ (оксид диалкілдиметиламіну), синтанол АСЦС12 (моноалкілові ефіри поліетиленгліколю на основі первинних жирних спиртів), лутензол АО10 (етоксильований довголанцюговий аліфатичний спирт), 3-ЕА (триетаноламін) і міранол (динатрій амфоацетат кокосової олії).

Фарбування за Грамом проводили за модифікацією Бюрка [10]. Фіксовані препарати переглядали та фотографували за допомогою цифрової фотокамери компанії "Olympus O.K.Ltd", модель С4040 на мікроскопі ВХ-31. Чутливість до антибіотиків визначали диск-дифузійним методом на середовищі АГВ за загальноприйнятою методикою [10]. У роботі досліджені такі антибіотики: бензилпеніцилін, карбеніцилін, ампіцилін, оксацилін, стрептоміцин, неоміцин, канаміцин, гентаміцин, тетрациклін, доксициклін, олеандоміцин, еритроміцин, левоміцетин, лінкоміцин, ристоміцин, поліміксин М, фузидин і рифампіцин.

Порівняння антигенних властивостей вихідних штамів коринебактерій та їх варіантів^{Var} проводили за допомогою імуноферментного аналізу (ELISA), як антиген застосовували інтактні клітини бактерій. У роботі використовували охарактеризовані раніше імунні сироватки, специфічні до *C. ammoniagenes* УКМ Ас-732^{Тип}, *C. vitaeruminis* УКМ Ас-718^{Тип}, *C. variabile* УКМ Ас-717^{Тип}, *Corynebacterium* sp. УКМ Ас-719, *C. glutamicum* УКМ Ас-733 і 22Л, що відповідно позначали як: анти-732, анти-718, анти-717, анти-719, анти-733 і анти-22Л [2, 5]. Для порівняльного аналізу застосовували комп'ютерну програму, за допомогою якої обчислювали коефіцієнт R, що характеризує ступінь антигенної подібності штамів^{Var} до вихідного штаму-імуногена [3]. За показниками коефіцієнта антигенної подібності (R) будували гістограми, точкою відліку в яких було значення R, розраховане для гомологічної системи антиген-антитіло.

Результати та їх обговорення. У попередніх дослідженнях ми встановили, що навіть короточасний вплив синтетичних ПАР на окремих представників виду *C. glutamicum*, а саме: на промисловий штам — продуцент лізину *C. glutamicum* 22Л, призводив до істотних змін деяких біологічних властивостей. Зокрема, після контакту з синтетичними ПАР у штамів 22Л^{Var} порівняно з вихідним у 1,5 — 3,0 рази підвищувалась здатність до секреції лізину в культуральну рідину. Крім того, дія ПАР на *C. glutamicum* 22Л супроводжувалась змінами інших біологічних ознак, наприклад таких, як чутливість до антибіотиків, антигенність та склад поверхневих білків КС [6]. У цій роботі ми вважали за доцільне розширити спектр штамів — представників роду *Corynebacterium*, оскільки, як ми показали раніше [7], непатогенні коринебактерії суттєво різняться за чутливістю до деяких ПАР. Серед представників кожного виду були виявлені як резистентні, помірно чутливі, так і чутливі до певних ксенобіотиків культури.

Відомо, що здатність забарвлюватися за Грамом може змінюватися у коринебактерій залежно від віку культури. Ми встановили, що природна дисоціація культур за цією ознакою дорівнює 0 — 0,1 % загальної кількості клітин, тоді як при культивуванні на середовищі з ПАР — від 0,3 до 100 % (табл. 1). Зокрема, клітини, що втрачали здатність забарвлюватися за Грамом, спостерігали після культивування *C. glutamicum* 22Л на середовищі, яке містило емпіген ОВ, триетаноламін, уфарол АМ70, ДСН, синтанол АСЦС12 і міранол. Найбільший ефект виявляли за наявності міранолу (25 %) і ДСН (40 %), причому у варіанта 22Л^{ДСН} не лише змінювалась здатність забарвлюватися за Грамом, а й відбувалася помітна зміна морфології клітин.

Таблиця 1

Вплив ПАР на здатність коринебактерій забарвлюватися за Грамом

Середовище з ПАР	Кількість клітин, у яких змінювалася здатність забарвлюватися за Грамом, %					
	<i>C. variabile</i> УКМ Ас-717	<i>C. vitaeruminis</i> УКМ Ас-718	<i>Corynebacterium</i> sp. УКМ Ас-719	<i>C. ammoniagenes</i> УКМ Ас-732	<i>C. glutamicum</i> УКМ Ас-733	<i>C. glutamicum</i> 22Л
Контроль (середовище без ПАР)	0,1	0,1	0,1	0	0,1	0
Емпіген ОВ	0,5	0	0	1,3	100 **	5,0
АБС	—	0	—	—	15	—
о-АДМА	—	0,1	12	—	15	—
Триетаноламін	0,5	0	3,3	0,5	0,1	1,6
Уфарол АМ70	7,4	0,3	1	0	0	3,2
ДСН	8,9	2,8	0,1	3,6	8,2	40*
Лутензол АО10	0,1	0,1	0	0	100**	—
Синтанол АСЦС12	0,1	0	0,1	0,1	0,1	15
Міранол	25 *	0	0,1	0	0,5	25
	75 **	0	0,1	0	0,5	25
Генопол LRO	—	0	0	0	—	—

Примітка. Тут і у табл. 2: " — " — на середовищі з відповідною ПАР культура не росла.

* Зміна морфології клітин. ** "Перехідна" форма (клітини, що частково забарвлені у рожевий, а частково — у фіолетовий колір).

Порівняно з контролем клітини збільшувалися у розмірах і набували округлої неправильної форми. У іншого представника цього виду — *C. glutamicum* УКМ Ас-733 — практично не спостерігали змін у здатності забарвлюватися за Грамом після контакту з уфаролом АМ70, триетаноламіном, синтанолом АСЦС12 і міранолом (табл. 1). Однак у разі культивування на середовищі з АБС або о-АДМА у препаратах виявляли до 15 % клітин зі зміненою ознакою. У *C. glutamicum* УКМ Ас-733^{лутензол АО10} і УКМ Ас-73^{емпіген ОВ} також спостерігали зміни забарвлення у 100 % клітин, причому в препаратах виявляли бактерії, що були частково забарвлені у рожевий, а частково у фіолетовий колір — надалі таку форму забарвлення ми визначали як "перехідну".

У варіантів штаму *C. variabile* кількість клітин, що втрачала здатність забарвлюватися за Грамом, була меншою порівняно з представниками виду *C. glutamicum*. Такі зміни були зареєстровані у 7,4 % клітин *C. variabile* УКМ Ас-717^{уфарол АМ70} і 8,9 % *C. variabile* УКМ Ас-717^{ДСН}. Суттєвіше на штам *C. variabile* впливав міранол — до 25 % клітин штаму УКМ Ас-717^{міранол} втрачали здатність позитивно забарвлюватися за Грамом. Крім того, у цього варіанта спостерігали істотні зміни морфології клітин: вони зменшувалися у розмірах, набували кокоподібної форми, а у 75 % клітин виявляли "перехідну" форму забарвлення.

У штаму *Corynebacterium* sp. УКМ Ас-719 найсуттєвіші зміни спостерігали у варіанта УКМ Ас-719^{о-АДМА} — 12 % клітин втрачали здатність позитивно забарвлюватися за Грамом, тоді як у варіантів УКМ Ас-719^{уфарол АМ70} і УКМ Ас-719^{3-ЕА} цей показник становив лише 1,0 і 3,3 % відповідно. Водночас досліджені ПАР практично не впливали на цю ознаку штамів *C. vitaeruminis* УКМ Ас-718 і *C. ammoniagenes* УКМ Ас-732. При культивуванні на середовищі з ДСН 2,8 і 3,6 % клітин варіантів цих культур відповідно втрачали здатність забарвлюватися за Грамом позитивно. Емпіген ОВ виявляв незначну дію лише на *C. ammoniagenes* УКМ Ас-732. Отже, одержані результати засвідчують, що різні класи синтетичних ПАР навіть за короткочасного контакту з клітинами коринебактерій можуть спричинити істотні зміни морфологічних ознак цих мікроорганізмів. Утім як і при визначенні чутливості коринебактерій до різних синтетичних ПАР [7] ми не встановили чіткої залежності між класом ПАР та їх впливом на вивчені ознаки представників роду *Corynebacterium*.

Дослідження антигенних властивостей різних видів коринебактерій показало, що після

контакту з ПАР штами^{Var} за цією ознакою також відрізнялися від вихідних культур. Про неспецифічність змін антигенності коринебактерій при культивуванні на середовищах за наявності ПАР засвідчує той факт, що одні й ті самі сполуки у частини штамів^{Var} підвищували антигенну спорідненість до штаму-імуногена, тоді як у інших вона зменшувалась (рис. 1—3). Порівняно з вихідними культурами суттєві відмінності цієї ознаки виявляли у *S. glutamicum* 22Л^{Var} і *S. vitaeuminis* УКМ Ас-718^{Var}. Наприклад, у *S. vitaeuminis* УКМ Ас-718^{Var} незалежно від класу застосованих ПАР спостерігали зменшення антигенної подібності порівняно з вихідним штамом (рис. 1, а). На відміну від цього, у *S. glutamicum* 22Л^{Var} істотно зростала антигенна подібність до штаму-імуногена під дією триетаноламіну, уфаролу АМ70 і лутензолу АО10, АСЦС12 (рис. 1, б). Від'ємні значення коефіцієнта антигенної подібності ($i^?$) у цьому випадку засвідчують здатність клітин штамів^{Var} інтенсивніше реагувати з імунними сироватками, специфічними до клітин вихідного штаму. Зокрема, у варіантів 22Л^{3-ЕА}, 22Л^{уфарол АМ70} і 22Л^{лутензол АО10} значення коефіцієнта R відповідно становили R = -0,93, R = -0,95 і R = -0,91. Менш ефективно на антигенність цього штаму впливали емпіген О В (для 22Л^{генопол LRO} R = -0,54) і генопол LRO (для 22Л^{геншюл LRO} R = -0,58).

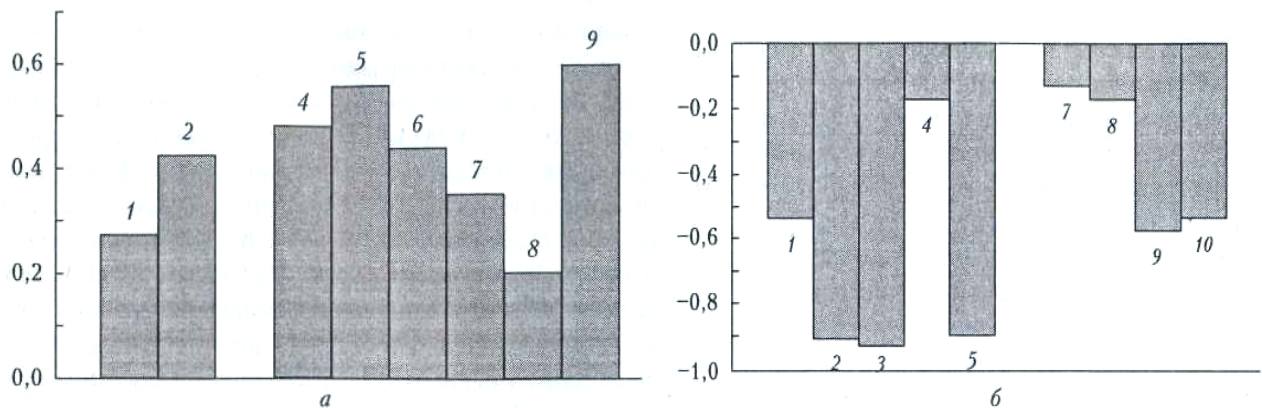


Рис. 1. Зміни антигенних властивостей *S. vitaeuminis* УКМ Ас-718^{Tun} (а) і *S. glutamicum* 22Л (б) під дією синтетичних ПАР. Тут і на рис. 2 і 3: 1 — емпіген ОВ, 2 — 3-ЕА, 3 — уфарол АМ70, 4 — ДСН, 5 — лутензол АО10, 6 — АВС, 7 — синтанол АСЦС12, 8 — міранол, 9 — генопол LRO, 10 — лутензол АТ80

Ефект підвищення антигенної подібності штамів^{Var} до вихідного штаму після контакту з синтанолом АСЦС12, міранолом і генополом LRO спостерігали також у *Corynebacterium* sp. УКМ Ас-719^{Var} і *S. glutamicum* УКМ Ас-733^{Var} (рис. 2, а, б). На відміну від зазначених сполук, ДСН, АВС і лутензол АО10 впливали на ці культури по-різному. У варіантів штаму *S. glutamicum* УКМ Ас-733, зокрема у УКМ Ас-733^{лутензол АО10} і УКМ Ас-733^{ДСН}, як і у іншого представника цього виду, зростала антигенна подібність до вихідного штаму. Коефіцієнт антигенної подібності також набував від'ємного значення і відповідно становив: R = -0,23 для УКМ Ас-733^{лутензол АО10} і R = -0,06 для УКМ Ас-733^{ДСН}. На відміну від представників виду *S. glutamicum*, у *Corynebacterium* sp. УКМ Ас-719^{Var} під дією зазначених ПАР подібність до вихідного штаму зменшувалась (рис. 2, а).

Разом з тим встановлено, що деякі з досліджених ПАР практично не впливали на антигенність коринебактерій. Так, не було зареєстровано істотної різниці між антигенністю вихідного штаму *S. variabile* УКМ Ас-717 (рис. 3, а) та його варіантів, зокрема таких, як: УКМ Ас-717^{емпіген ОВ} (R = 0,05), УКМ Ас-717^{уфарол АМ70} (r = -0,08) і УКМ Ас-717^{ДСН} (R = -0,05). Несуттєво ці ПАР впливали на антигенні властивості штамів *Corynebacterium* sp. УКМ Ас-719 і *S. glutamicum* УКМ Ас-733. Значення коефіцієнта антигенної подібності для УКМ Ас-719^{емпіген ОВ} і УКМ Ас-719^{АВС} відповідно становили R = -0,03, а також R = -0,06 для УКМ Ас-719^{3-ЕА} і R = -0,05 для УКМ Ас-719^{ДСН}. Практично не змінювалася антигенність *S. glutamicum* УКМ Ас-733 після дії триетаноламіну (R = 0,02), ДСН (R = -0,06), синтанолу АСЦС12 і генополу LRO (R = -0,08). Подібний ефект справляли на *S. ammoniagenes* УКМ Ас-732 (рис. 3, б) лише ДСН (R = 0,04 для УКМ Ас-732^{ДСН}) і синтанол АСЦС12 (R = 0,07 для УКМ Ас-732^{синтанол АСЦС12}). Разом з тим під дією емпігену ОВ, уфаролу АМ70, міранолу і генополу LRO у варіантів штаму *S. ammoniagenes* УКМ Ас-732 антигенність змінювалася

порівняно з вихідною культурою. Значення коефіцієнта подібності коливалися у межах від 0,21 до 0,29 (рис. 3, б). Найсуттєвішу різницю було зареєстровано між вихідним штамом *S. ammoniagenes* УКМ Ас-732 та його варіантом УКМ Ас-732^{3-ЕА} під дією триетаноламіну ($R = 0,86$).

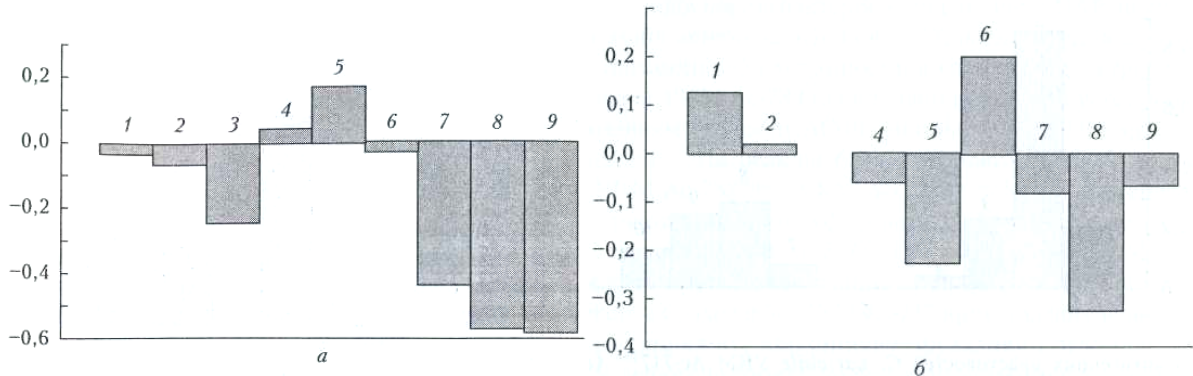


Рис. 2. Зміни антигенних властивостей *Corynebacterium sp.* (*Brevibacterium stationis*^{Tun}) УКМ Ас-719 (а) і *S. glutamicum* УКМ Ас-733 (б) під дією синтетичних ПАР

Отримані дані засвідчують, що виявлена різниця між антигенністю вихідних штамів і штамів^{Var}, очевидно, пов'язана з дією ПАР на ті поверхневі біополімери КС коринебактерій, що зумовлюють їх антигенні властивості. Відомо, що імуногенну активність у актинобактерій визначають, зокрема, такі компоненти КС, як арабіногалактан і поверхневі білки, що можуть виконувати функції специфічних антигенних рецепторів [11, 14].

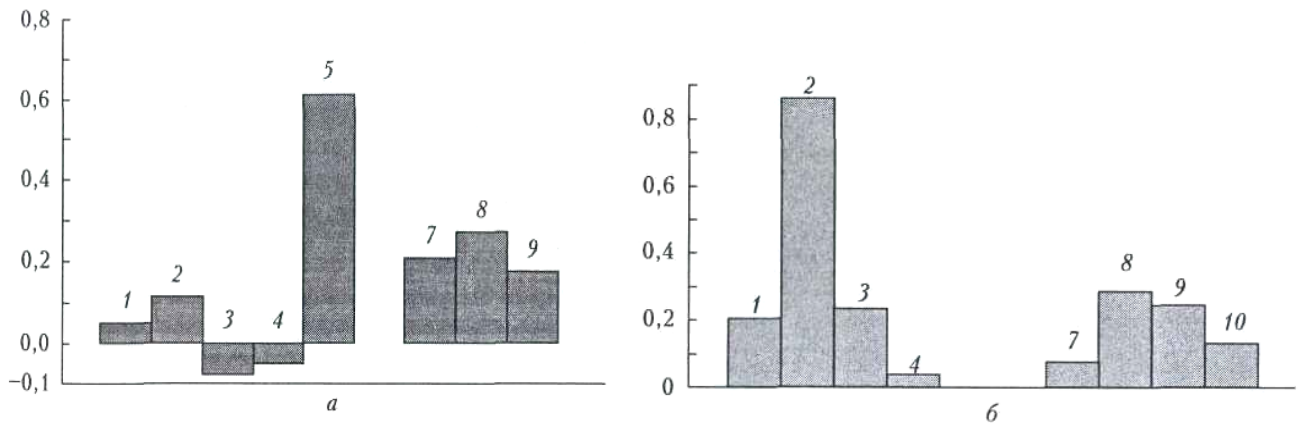


Рис. 3. Зміни антигенних властивостей *S. variable* УКМ Ас-717^{Tun} (а) і *S. ammoniagenes* УКМ Ас-732^{Tun} (б) під дією синтетичних ПАР

У попередніх дослідженнях ми встановили, що короточасний вплив (4 пасажі) синтетичних ПАР на промисловий штам *S. glutamicum* 22Л сприяв формуванню резистентності до деяких антибіотиків пеніцилінового і тетрациклінового рядів (зокрема, карбеніциліну і доксицикліну), а також олеандоміцину. Разом з тим наявність ПАР у середовищі культивування практично не впливала на чутливість штамів 22Л^{Var} до оксациліну, поліміксину і ристоміцину. Чутливість штамів 22Л^{Var} до інших антибіотиків також мала неспецифічний характер. Синтетичні ПАР по-різному впливали на вказану біологічну ознаку, що не дало змоги нам встановити чітку залежність між класом сполук та їх впливом на антибіотикочутливість [6].

Визначення антибіотикочутливості штамів^{Var} різних видів коринебактерій показало, що навіть короточасний вплив (4 пасажі) усіх досліджених ПАР супроводжувався зміною вказаної ознаки, хоча як і у випадку інших досліджених нами властивостей також носив неспецифічний характер. Зокрема, у переважній більшості досліджених штамів^{Var} — представників різних видів коринебактерій — під впливом ПАР зростала чутливість до антибіотиків певних класів (табл. 2), насамперед, аміноглікозидів (наприклад, гентаміцину) і тетрациклінів (наприклад, тетрацикліну).

Вплив синтетичних ПАР на антибіотикочутливість коринебактерій

Середовище з ПАР	Кількість антибіотиків, до яких змінилася чутливість штамів ^{Var}											
	C. variabile УКМ Ас-717		C. vitaeuminis УКМ Ас-718		Corynebacterium sp. УКМ Ас-719		C. ammoniagenes УКМ Ас-732		C. glutamicum УКМ Ас-733		C. glutamicum 22Л	
	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S
Емпіген ОВ	1	14	2	6	2	1	4	3	1	3	6	3
АБС	-	-	3	7	-	-	-	-	2	9	-	-
о-АДМА	-	-	0	0	0	0	-	-	0	0	-	-
Триетаноламін	1	15	1	6	1	9	6	5	2	5	7	2
Уфарол АМ70	0	11	3	3	2	3	3	3	1	4	5	0
ден	0	11	1	9	6	3	2	5	3	7	6	0
Лутензол АО10	1	10	3	6	0	13	0	0	1	2	-	-
Синтанол АСЦС12	2	2	4	2	1	0	2	2	5	0	4	2
Міранол	0	13	2	4	2	3	3	4	0	1	4	2
Генопол LRO	2	7	8	1	4	1	2	3	-	-	-	-

Примітка. R — формування резистентності до антибіотиків, S — підвищення чутливості до антибіотиків

Так, у *S. glutamicum* УКМ Ас-733 під впливом практично усіх досліджених ПАР (за виключенням лутензолу АО10 і синтанолу АСЦС12) зростала чутливість до тетрацикліну. Ця реакція була особливо яскраво виражена у *S. glutamicum* УКМ Ас-733^{АВС} і УКМ Ас-733^{генепол LRO}. Після контакту з емпігеном ОВ, триетаноламіном, уфаролом АМ70, ДСН і лутензолом АО10 у штамів *S. variable* УКМ Ас-717^{Var} і *S. vitaeruminis* УКМ Ас-718^{Var} підвищувалася чутливість до гентаміцину і тетрацикліну, а також еритроміцину. У варіантів *S. variable* УКМ Ас-717 крім згаданих вище антибіотиків — ще й до доксицикліну, лінкоміцину, фузидину і левоміцетину.

Втім у деяких штамів^{Var} не було зареєстровано жодних змін відносно певних антибіотиків. Зокрема, після контакту з усіма ПАР у всіх досліджених штамів коринебактерій практично не змінювалося відношення до ристоміцину. Без змін залишалась також чутливість у *S. vitaeruminis* УКМ Ас-718^{Var} до стрептоміцину й оксациліну, у *S. ammoniagenes* УКМ Ас-732^{Var} — до лінкоміцину та канаміцину і у *S. glutamicum* УКМ Ас-733^{Var} — до лінкоміцину. Реакція певного штаму коринебактерій до інших антибіотиків змінювалась залежано від тієї ПАР, під впливом якої він перебував. Наприклад, у *S. glutamicum* УКМ Ас-733^{синтанол АСЦС12} взагалі не спостерігали підвищення чутливості до жодного з досліджених антибіотиків. Чутливість до гентаміцину залишалася незмінною у *S. variable* УКМ Ас-717^{генепол LRO}, *S. vitaeruminis* УКМ Ас-718^{генепол LRO} і УКМ Ас-718^{міранол}, *S. ammoniagenes* УКМ Ас-732^{3-EA} і УКМ Ас-732^{міранол}. У штамів *Corynebacterium* sp. УКМ Ас-719 і *S. glutamicum* УКМ Ас-733 не змінювалась чутливість до гентаміцину після контакту з емпігеном ОВ і АВС. Крім того, у штаму *Corynebacterium* sp. УКМ Ас-719 не впливали на чутливість до гентаміцину ДСН і синтанол АСЦС12, а у штаму *S. glutamicum* УКМ Ас-733 — уфарол АМ70, лутензол АО10, міранол і генепол.

У незначній кількості досліджених штамів під дією ПАР формувалася стійкість до антибіотиків. Зокрема, у *S. glutamicum* УКМ Ас-733^{синтанол АСЦС12} спостерігали формування резистентності до аміноглікозидів (гентаміцину, канаміцину, неоміцину), а також карбеніциліну, олеандоміцину і рифампіцину; у УКМ Ас-733^{лутензол АО10} — до фузидину, рифампіцину, канаміцину і карбеніциліну; у УКМ Ас-733^{ДСН} — до гентаміцину і карбеніциліну та у УКМ Ас-733^{3-EA} і УКМ Ас-733^{генепол LRO} - лише до гентаміцину і неоміцину відповідно. Крім того, практично в усіх варіантів штаму *S. glutamicum* УКМ Ас-733 під дією ПАР (за винятком лутензолу АО10, синтанолу АСЦС12 і міранолу) формувалася резистентність до бензилпеніциліну.

Чутливість штамів^{Var} коринебактерій до інших антибіотиків також мала неспецифічний характер. У представників різних видів коринебактерій досліджені ПАР спричинювали різні зміни вказаної біологічної ознаки незалежно від класу як ксенобіотиків, так і антибіотиків. Наприклад, у *S. glutamicum* УКМ Ас-733^{Var} ДСН сприяв формуванню резистентності до гентаміцину, бензилпеніциліну та карбеніциліну і водночас чутливості до стрептоміцину, ампіциліну, тетрацикліну, еритроміцину, левоміцетину, рифампіцину та фузидину. У *S. variable* УКМ Ас-717^{синтанол АСЦС12} поряд з резистентністю до гентаміцину і канаміцину, різко підвищувалася чутливість до бензилпеніциліну і оксациліну. Істотний вплив на *S. variable* УКМ Ас-717 справляли емпіген ОВ, триетаноламін і уфарол ОВ. Під дією зазначених ПАР у варіантів цього штаму зростала чутливість до 12 антибіотиків груп аміноглікозидів, пеніцилінів, тетрациклінів і макролідів (табл. 2). *Corynebacterium* sp. УКМ Ас-719^{емпіген ОВ} набував резистентності до ампіциліну, олеандоміцину і рифампіцину, тоді як УКМ Ас-719^{ДСН} — до канаміцину, неоміцину, ампіциліну, бензилпеніциліну, ристоміцину та рифампіцину. Разом з тим такі ПАР, як триетаноламін, АВС і лутензол АО10, підвищували чутливість *Corynebacterium* sp. УКМ Ас-719^{Var} до 14 антибіотиків групи аміноглікозидів, пеніцилінів, тетрациклінів і макролідів. У *S. vitaeruminis* УКМ Ас-718^{лутензол АО10} зростала резистентність до канаміцину, оксациліну, олеандоміцину і, навпаки, зменшувалася до гентаміцину, тетрацикліну, еритроміцину, лінкоміцину і левоміцетину. Після контакту з АВС у *S. vitaeruminis* УКМ Ас-718^{Var} формувалася резистентність до канаміцину, неоміцину, однак підвищувалася чутливість до ампіциліну, доксицикліну, еритроміцину, лінкоміцину і левоміцетину. У *S. vitaeruminis* УКМ Ас-718^{ДСН} лише підвищувалася чутливість до антибіотиків — цей варіант ставав чутливішим до 10 з 18 досліджених антибіотиків.

У іншого представника роду *Corynebacterium* — *C. ammoniagenes* УКМ АС-732 — після контакту з ПАР також істотно змінювалося відношення до антибіотиків. Зокрема, у *C. ammoniagenes* УКМ Ас-732^{емпіген^{ОВ}} формувалася стійкість до стрептоміцину, олеандоміцину, рифампіцину і бензилпеніциліну та, навпаки, підвищувалася чутливість до гентаміцину, неоміцину і доксицикліну. Під дією триетаноламіну УКМ Ас-732^{3-ЕА} набував резистентності до 6 з 18 досліджених антибіотиків і ставав чутливим до 5 з 18.

Отже, результати наших досліджень, узагальнення яких представлено у табл. 2, засвідчують, що контакт коринебактерій з ПАР тією чи іншою мірою впливав на відношення вказаних бактерій до антибіотиків. У штамів^{Var} різних видів *Corynebacterium* спостерігали як формування резистентності до антибіотиків різних класів, так і підвищення чутливості до деяких з них. Нам не вдалося виявити кореляцію між появою грамваріабільності у штамів-варіантів під впливом ПАР та зміною їх антигенності та чутливості до антибіотиків.

Таким чином, внаслідок проведених досліджень було доведено, що навіть короткочасний контакт коринебактерій з ПАР, що входять до складу косметичних, миючих і дезінфікуючих засобів, призводить до істотних змін біологічних властивостей вказаних бактерій, зокрема морфології клітин, антигенності та чутливості до антибіотиків. Це, на наш погляд, засвідчує наявність певних змін у структурі та складі клітинної стінки коринебактерій, що виникають під дією синтетичних ПАР. Опосередкованим підтвердженням такого припущення є встановлений нами факт втрати здатності представників роду *Corynebacterium* після контакту з ПАР позитивно забарвлюватися за Грамом.

Зареєстровані зміни біологічних ознак коринебактерій, очевидно, є одним з наслідків безпосереднього впливу ПАР на поверхню бактеріальних клітин, що супроводжується підвищенням проникності їхньої клітинної стінки. На користь цього свідчать результати наших попередніх досліджень [6], а також застосування ПАР для підвищення проникності КС з метою підвищення секреції амінокислот бактеріальними клітинами [12]. На практиці подібні зміни біологічних ознак можуть істотно ускладнювати ідентифікацію бактерій та їх діагностику, а також перебіг спричинених ними інфекційних процесів, зумовлювати формування бактеріоносійства, призводити до неефективності застосування традиційних і нових лікарських препаратів. У зв'язку з цим необхідно проводити подальше вивчення довготривалого впливу ПАР на біологічні властивості коринебактерій для з'ясування механізмів їх впливу на поверхневі структури мікроорганізмів і формування у них резистентності до вказаних сполук.

Л.А. Михальский¹, И.М. Фуртат¹, О. С. Радченко², Л. Г. Степура²

¹Национальный университет "Киево-Могилянская Академия", Киев

²Киевский национальный университет имени Тараса Шевченко, Киев

ВЛИЯНИЕ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА НЕКОТОРЫЕ БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НЕПАТОГЕННЫХ ВИДОВ РОДА CORYNEBACTERIUM

Резюме

Исследовано влияние катионных, анионных и неионогенных синтетических поверхностно-активных веществ (ПАВ) на некоторые биологические свойства представителей видов *Corynebacterium glutamicum*, *C. ammoniagenes*, *C. vitaeruminis*, *C. variabile* и штамма *Corynebacterium* sp. (*Brevibacterium stationis*) УКМ Ас-719. Показано, что действие ПАВ сопровождается изменением морфологии клеток у некоторых представителей видов коринебактерий и потерей их способности окрашиваться по Граму, а также существенным изменением антигенных свойств и антибиотикочувствительности исследованных штаммов коринебактерий. Вместе с тем не установлена связь между классом синтетических ПАВ и изменениями исследованных биологических свойств. Не обнаружена также корреляция между изменением способности коринебактерий окрашиваться по Граму после воздействия ПАВ и изменением антигенности коринебактерий, а также их чувствительности к антибиотикам.

Ключевые слова: непатогенные коринебактерий, синтетические поверхностно-активные вещества, окраска по Граму, антигенность, антибиотикочувствительность.

L.A. Mykhalsky¹, I.M. Furtat¹, O.S. Radchenko², L.G. Stepura²

¹National University Kyiv-Mohylyan Academy

²Taras Shevchenko Kyiv National University

INFLUENCE OF SYNTHETIC SURFACTANTS ON SOME
BIOLOGICAL PROPERTIES OF NON-PATHOGENIC SPECIES
OF THE GENUS CORYNEBACTERIUM

Summary

The influence of cationic, anionic and non-ionic synthetic surfactants on some biological properties of different representatives of the following species *Corynebacterium glutamicum*, *Corynebacterium ammoniagenes*, *Corynebacterium vitae*, *Corynebacterium vdiabile* and strain *Corynebacterium sp.* (*Brevibacterium stationis*) UKM As-719 has been investigated. It has been shown that the action of surfactants is accompanied by the change of cell morphology and loss of ability for Gram-staining, as well as by significant changes of antigenic properties and antibiotic-sensitivity of selected strains of corynebacteria. Nevertheless, no relations were established between the class of surfactants and changes in biological properties of the investigated strains. There was also no correlation between Gram-staining ability after the action of surfactants and change of corynebacteria antigenicity, as well as their antibiotic sensitivity.

Key words: non-pathogenic corynebacteria, synthetic surfactants, Gram-staining, antigenic properties, antibiotic sensitivity.

The author's address: I.M. Furtat, National University Kyiv-Mohylyan Academy, 2 Skovoroda St., Kyiv, 04070, Ukraine.

1. Карасевый Ю.Н.: Экспериментальная адаптация микроорганизмов. — М.: Наука, 1982. — 178 с.
2. Михальский Л.А., Ногина Т.М., Фуртат И.М. Исследование серологических свойств сапрофитных коринебактерий с помощью иммуноферментного анализа // Микробиол. журн. - 1997. - 59, № 5. - С. 22-27.
3. Михальський Л.О., Фуртат І.М., Ногіна Т.М., Веденєєва О.А. Використання комп'ютерного аналізу для оцінки антигенних взаємозв'язків різних видів коринебактерій // Наук. зап. НаУКМА. Спец. вип. — К.: Видавн. дім "KM Academia", 2001. - Т. 19, ч. 2. - С. 401-405.
4. Ставская С. С., Удод В.М., Таранова Л.А., Кривей, И.А. Микробиологическая очистка воды от поверхностно-активных веществ. — Киев: Наук. думка, 1988. — 184 с.
5. Фуртат І.М., Ногіна Т.М., Михальський Л.О., Веденєєва О.А. Серологічна спорідненість деяких видів непатогенних коринебактерій // Микробиол. журн. — 2002. — 64, № 1. — С. 66-76.
6. Фуртат І.М., Ногіна Т.М., Михальський Л.О. та ін. Вплив поверхнево-активних речовин на деякі біологічні властивості *Corynebacterium glutamicum* / У Наук. зап. НаУКМА. Спец. вип. - К.: Видавн. дім "KM Academia", 2002. - Т. 20, ч. 2. - С. 435-438.
7. Фуртат І.М., Ногіна Т.М., Ганіна О.В., Михальський Л.О. Чутливість непатогенних видів роду *Corynebacterium* до деяких поверхнево-активних речовин // Наук. зап. НаУКМА. — К.: Видави, дім "KM Academia", 2003. — Т. 22, ч. 3. Природничі науки. — С. 369-372.
8. Anderes E.A., Sandine W.E., Elliker P.R. Lipids of antibiotic sensitive and resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* // Can. J. Microbiol. — 1971. — N 17. — P. 1357—1365.
9. Deutsche Sammlung von Microorganismen und Zellkulturen GmbH. // Catalogue of strains. - Fourth Ed. - 1989. - 459 p.
10. Gerhardt Ph. Methods for General and Molecular Bacteriology // Amer. Soc. for Microbiol. - Washington. D.C., 1994. - 791 p.
11. Messner P., Allmaier C, Schaffer C. et al. Biochemistry of S-layers // FEMS Microbiol. Rev. - 1997. - 20, N 1/2. - P. 25-46.
12. Niederweis M., Maier E., Lichtinger T. et al. Identification of channel forming activity in the cell wall *Corynebacterium glutamicum* // J. Bacteriol. — 1995. — 177, N 19. — P. 5716-5718.
13. Nishikava K., O. 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, N 11. - P. 2305-2310.
14. Puech V., Chami M., Lemassu A. et al. Structure of the cell envelope of corynebacteria: importance of the non-covalently bound lipids in the cell wall permeability barrier and fracture plane // Microbiology. - 2001. - 147. - P. 1365-1382.
15. Schwarzmann G. Aktuelles zu mikrobiziden oberflächenaktiven Wirkstoffen // Krb. Hyg. Inf. Verb. - 1994. - 16, N6. - P. 171-175.
16. Viscardi G., Quagliotto P., Barolo C. et al. Synthesis and surface and antimicrobial properties of novel cationic surfactants // J. Org. Chem. - 2000. - 6, N 8. - P. 8197-82.