

INFLUENCE OF SURFACTANTS SYNTHESIZED UNDER DIFFERENT CULTIVATION CONDITIONS OF *NOCARDIA VACCINII* IMV B-7405 ON *ESCHERICHIA COLI* IEM-1 BIOFILM DESTRUCTION

T. Pirog, L. Nikitiuk, K. Kondrashevskaya, I. Kluchka

National University of Food Technologies

<p>Key words: <i>Nocardia vaccinii</i> IMV B-7405 Surfactants Biofilm destruction Cultivation conditions</p> <hr/> <p>Article history: Received 05.01.2017 Received in revised form 20.01.2017 Accepted 22.02.2017</p> <hr/> <p>Corresponding author: T. Pirog E-mail: npnuht@ukr.net</p>	<p>ABSTRACT</p> <p>The role in the destruction of <i>Escherichia coli</i> IEM-1 biofilm of surfactants synthesized under <i>Nocardia vaccinii</i> IMV B-7405 cultivation during 5 and 7 days in a medium with different content of calcium cations (activator NADP⁺-dependent glutamate dehydrogenase — key enzyme biosynthesis of surface-active aminolipids) was studied in the article. It was established that independently of CaCl₂ content in medium (0.1 or 0.4 g/L) and cultivation duration of IMV B-7405 strain synthesized surfactants at low concentrations (8.75—17.5 mg/ml) destroyed the biofilm of <i>E. coli</i> IEM-1 on polystyrene by 60—87%. The effective concentration of <i>N. vaccinii</i> IMV B-7405 surfactant, providing a high degree of <i>E. coli</i> IEM-1 biofilm destruction, is several times lower than that for the world's known microbial surfactants.</p>
--	---

ВПЛИВ ПОВЕРХНЕВО АКТИВНИХ РЕЧОВИН, СИНТЕЗОВАНИХ У РІЗНИХ УМОВАХ КУЛЬТИВУВАННЯ *NOCARDIA VACCINII* ІМВ В-7405, НА ДЕКТРУКЦІЮ БІОПЛІВКИ *ESCHERICHIA COLI* ІЕМ-1

Т.П. Пирог, Л.В. Никитюк, К.Р. Кондрашевська, І.В. Ключка

Національний університет харчових технологій

У статті досліджено роль у руйнуванні біоплівки *Escherichia coli* ІЕМ-1 поверхнево-активних речовин (ПАР), синтезованих *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405, упродовж 5 і 7 діб на середовищі з різним вмістом катіонів кальцію (активатор НАДФ⁺-залежної глутаматдегідрогенази — ключового ферменту біосинтезу поверхнево-активних аміноліпідів). Встановлено, що незалежно від вмісту CaCl₂ у середовищі (0,1 або 0,4 г/л) і тривалості культивування штаму ІМВ В-7405 синтезовані ПАР у низьких концентраціях (8,75—17,5 мкг/мл) руйнували на 60—87% біоплівку *E. coli* ІЕМ-1 на полістиролі. Ефективні концентрації ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405, які забезпечували високий ступінь руйнування біоплівки *E. coli* ІЕМ-1, у кілька разів нижчі, ніж встановлені для відомих у світі мікробних ПАР.

Ключові слова: *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405, поверхнево-активні речовини, деструкція біоплівки, умови культивування.

Постановка проблеми. Формування мікробних біоплівок на різних поверхнях є небезпечним явищем, оскільки мікроорганізми в складі біоплівок характеризуються підвищеною резистентністю до різних біоцидів [1—3].

Крім того, колонізація мікроорганізмами поверхонь спричиняє поширення інфекційних захворювань. Здатність бактерій формувати біоплівки розглядається як фактор їх патогенності. Встановлено, що багато хронічних інфекцій, виникнення яких пов'язане з використанням медичного імплантованого обладнання (лінзи, катетери, протези, штучні серцеві клапани), зумовлені здатністю бактерій утворювати біоплівки на поверхнях цих пристроїв. Серед усіх інфекційних уражень близько 65—80% спричиняються бактеріями, які формують біоплівки [3—5].

Крім проблем у медицині, здатність бактерій формувати біоплівки є серйозною проблемою для промисловості. Біоплівки спричиняють біокорозію трубопроводів, обростання різного технологічного устаткування, корпусів суден, нафтових платформ. У харчовій промисловості утворення біоплівок підвищує ризик зараження їжі патогенними мікроорганізмами і виникнення інфекцій у людей [1].

Сучасні технології руйнування мікробних біоплівок передбачають використання механічних, фізичних, хімічних і біологічних методів [4; 6; 7]. В останні роки перевага віддається біологічним методам завдяки високій ефективності, пролонгованій дії, безпечності для людини і навколишнього середовища. Разом з тим, виникнення у мікроорганізмів резистентності до антибіотиків та інших біоцидів, висока вартість багатьох методів запобігання утворенню та руйнуванню біоплівок стимулювала пошук нових речовин з відповідними властивостями.

З 90-х років ХХ ст. поверхнево-активні речовини (ПАР) мікробного походження активно досліджуються як альтернативні препарати для руйнування біоплівок на різних матеріалах [8; 9]. У [9] наведено дані щодо синергічної дії ПАР та антибіотиків у руйнуванні біоплівки *Escherichia coli* (одного з поширених патогенів, що спричиняють інфекції сечових шляхів і контамінацію катетерів). Автори досліджували вплив цефалоспоринової і цефазолінової з ліпопептидами *Bacillus licheniformis* V9T14 на руйнування біоплівки *E. coli* CFT073. Результати досліджень показали, що використання суміші ліпопептидів (5 мкг/мл) і цефазоліну (16 мкг/мл) супроводжувалось зниженням кількості клітин *Escherichia coli* CFT073 у біоплівці на чотири порядки за 24 год. Аналогічний ефект від дії одного антибіотика спостерігався за його концентрації 32 мкг/мл.

У попередніх дослідженнях [8; 10] нами було встановлено, що поверхнево-активні речовини, синтезовані *Nocardia vaccinii* ІМВ В-7405, здатні знижувати адгезію деяких бактерій, дріжджів і мікроміцетів на абіотичних (пластик, скло, кахель, лінолеум) і біотичних (катетери, зубні протези) матеріалах.

Мета статті: дослідити роль поверхнево-активних речовин *N. vaccinii* ІМВ В-7405 у руйнуванні біоплівки.

Матеріали і методи. Об'єкт дослідження — штам *N. vaccinii* К-8, зареєстрований в Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного Національної академії наук України за номером ВМВ В-7405.

N. vaccinii ІМВ В-7405 вирощували в колбах на качалці (320 об./хв) при 30 °С упродовж 7 діб в рідкому мінеральному середовищі такого складу (г/л): NaNO_3 — 0,5; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,1; CaCl_2 — 0,1; KH_2PO_4 — 0,1; $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ — 0,001, дріжджовий автолізат — 0,5% (об'ємна частка) (базове середовище). В одному з варіантів концентрацію хлориду кальцію у базовому середовищі культивування підвищували до 0,4 г/л. Як джерело вуглецю використовували очищений гліцерин у концентрації 2% (об'ємна частка).

Як посівний матеріал використовували культуру в експоненційній фазі, вирощену на середовищі наведеного складу з 0,5% субстрату. Інокулят, в якому чисельність бактерій становила 10^4 — 10^5 кл/мл, вносили у кількості 10% від об'єму середовища. Культивування здійснювали у 750 мл колбах з 100 мл середовища на качалці (320 об./хв) при 30 °С упродовж 5 і 7 діб.

У дослідженнях використовували поверхнево-активні речовини у вигляді супернатанту культуральної рідини і розчину ПАР, екстрагованих з супернатанту сумішшю Фолча (хлороформ і метанол, 2:1) [10]. Концентрацію синтезованих ПАР визначали ваговим методом після екстракції з супернатанту сумішшю Фолча.

Як тест-культуру для утворення біоплівки використовували бактерії *Escherichia coli* ІЕМ-1 з колекції живих культур кафедри біотехнології та мікробіології Національного університету харчових технологій.

Дослідження впливу ПАР на руйнування біоплівки здійснювали за методикою, описаною в [11]. Для формування біоплівки у полістиролові мікропланшети вносили 180 мкл м'ясо-пептонного бульйону (МПБ) та 20 мкл суспензії одностодової тест-культури, інкубували впродовж 24 год при оптимальній для тест-культури температурі, після чого зливали культуральну рідину і вносили 180 мкл свіжого МПБ і 20 мкл суспензії тест-культури і ще інкубували впродовж наступних 24 год. В [11] встановлено, що такого вирощування упродовж 48 год достатньо для формування біоплівки у лунках мікропланшета. Через 48 год культуральну рідину зливали, а в лунки мікропланшета (з попередньо сформованою на них біоплівкою тест-культури) вносили по 200 мкл препаратів ПАР різної концентрації (8,75—1120 мкг/мл). У контрольні варіанти (лунки) замість препаратів ПАР вносили стерильну водопровідну воду (200 мкл). Через 24 год експозиції лунки тричі промивали 200 мкл дистильованої води і визначали кількість адгезованих клітин спектрофотометричним методом так само, як і в дослідженнях антиадгезивних властивостей [8; 11]. Ступінь руйнування біоплівки (%) визначали як різницю між адгезією клітин у необроблених і оброблених ПАР лунках полістиролового планшета.

Усі досліди проводили в трьох повторностях, кількість паралельних визначень в експериментах становила від 3 до 5. Статистичну обробку експериментальних даних проводили, як описано у [10]. Відмінності середніх показників вважали достовірними при рівні значущості $p < 0,05$.

Результати і обговорення. У попередніх дослідженнях [10; 12] було встановлено, що зміна умов культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 супроводжувалася зміною антимікробної й антиадгезивної активності синтезованих ПАР. Однією з причин різних біологічних властивостей цільового продукту може бути змінення вмісту в складі комплексу поверхнево-активних речовин аміноліпідів — найефективніших антимікробних агентів, ключовим ферментом біосинтезу яких у штаму ІМВ В-7405 є НАДФ⁺-залежна глутаматдегідрогеназа [12]. Оскільки одним з активаторів цього ферменту в *N. vaccinii* ІМВ В-7405 є катіони кальцію, то припустили, що підвищення вмісту Ca²⁺ у середовищі культивування штаму ІМВ В-7405 буде супроводжуватися посиленням не тільки антимікробної, а й антиадгезивної активності синтезованих поверхнево-активних речовин. Крім того, не тільки в різних умовах культивування, а й упродовж періодичного процесу в складі комплексу ПАР може змінюватися співвідношення окремих компонентів, що також впливатиме на біологічні властивості цільового продукту. У зв'язку з цим досліджували роль у руйнуванні біоплівки *E. coli* ІЕМ-1 поверхнево-активних речовин, синтезованих *N. vaccinii* ІМВ В-7405 упродовж 5 і 7 діб на середовищі з різним вмістом катіонів кальцію.

У табл. 1 наведено дані про синтез ПАР в різних умовах культивування штаму ІМВ В-7405 на гліцерині. Ці дані засвідчують, що підвищення вмісту хлориду кальцію у базовому середовищі з 0,1 до 0,4 г/л супроводжувалося збільшенням концентрації ПАР в 1,4—2 рази. Крім того, під час культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 упродовж 7 діб кількість синтезованих ПАР була вищою порівняно з показниками процесу, тривалість якого становила 5 діб, причому така закономірність спостерігалася за умов росту продуцента як на базовому середовищі, так і на середовищі з підвищеним вмістом катіонів кальцію. Зазначимо, що незалежно від тривалості культивування і концентрації CaCl₂ у середовищі рН культуральної рідини під кінець культивування було практично однаковим (7,6—7,7).

Таблиця 1. Вплив умов культивування N. vaccinii ІМВ В-7405 на синтез ПАР

Тривалість культивування, діб	Концентрація CaCl ₂ (г/л) у середовищі	рН _{кінцеве}	ПАР, Г/л
5	0,1	7,6	1,12±0,05
	0,4	7,6	2,16±0,10
7	0,1	7,7	3,70±0,18
	0,4	7,7	5,10±0,25

На наступному етапі досліджували роль ПАР, синтезованих на базовому середовищі, у руйнуванні біоплівки *E. coli* ІЕМ-1 (табл. 2).

Таблиця 2. Вплив тривалості культивування N. vaccinii ІМВ В-7405 на базовому середовищі на здатність синтезованих ПАР руйнувати біоплівку E. coli ІЕМ-1

Тривалість культивування, діб	Препарат	Руйнування (%) біоплівки після обробки ПАР (мг/мл)								
		1120	560	280	140	70	35	17,5	8,75	
5	розчин ПАР	77	73	82	84	78	83	79	82	
	супернатант	55	34	56	21	39	74	69	84	
7	розчин ПАР	Н.в.	56	56	46	41	40	80	79	
	супернатант	Н.в.	26	22	33	59	46	72	74	

Примітка. Під час визначення ступеня руйнування біоплівки похибка не перевищувала 5%. Н.в. — не визначали.

Дані, наведені у табл. 2, показують, що за дії розчину ПАР, синтезованих упродовж 5 діб, деструкція біоплівки на рівні 73—84% спостерігалася у всьому діапазоні досліджуваних концентрацій поверхнево-активних речовин (8,75—1120 мкг/мл). За використання аналогічного супернатанту такий рівень руйнування біоплівки *E. coli* IEM-1 досягався за концентрації ПАР 8,75—35 мкг/мл, а за дії вищих концентрацій ступінь деструкції знижувався до 21—56%. Такі дані можуть бути зумовлені наявністю у супернатанті інших, відмінних від ПАР, метаболітів, що «маскували» дію поверхнево-активних речовин як деструкторів біоплівки. У разі розведення супернатанту (зниження концентрації ПАР) вміст таких метаболітів знижувався, що супроводжувалося підвищенням ефективності дії поверхнево-активних речовин. Зазначимо, що у наших попередніх дослідженнях [8] було встановлено, що за використання ПАР, синтезованих *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, ступінь руйнування бактеріальних біоплівок підвищувався із збільшенням концентрації поверхнево-активних речовин як у супернатанті, так і розчині ПАР, а максимальна деструкція біоплівки *E. coli* IEM-1 (на рівні 50%) спостерігалася за найвищою з досліджуваних концентрацій ПАР (1280 мкг/мл). Таким чином, ПАР *N. vaccinii* IMB B-7405 є ефективнішими деструкторами біоплівки даної тест-культури, ніж поверхнево-активні речовини *A. calcoaceticus* IMB B-7241 (табл. 2) [8].

Подальші експерименти показали, що збільшення тривалості культивування *N. vaccinii* IMB B-7405 на базовому середовищі до 7 діб супроводжувалося синтезом ПАР, обидва препарати яких (супернатант, розчин ПАР) руйнували біоплівку *E. coli* IEM-1 на 72—80% тільки за найнижчих концентрацій (8,75—17,5 мкг/мл) (табл. 2). Збільшення концентрації ПАР у таких препаратах супроводжувалося зниженням ступеня руйнування біоплівки до 22—59%. Ці результати можна пояснити тим, що під час культивування штаму IMB B-7405 з 5-ї по 7-му добу синтезуються не тільки ПАР (див. табл. 1), а й інші метаболіти, що можуть маскувати їх дію як деструкторів біоплівки. Наведені у табл. 2 дані засвідчують необхідність розрахунків економічної ефективності процесу біосинтезу ПАР *N. vaccinii* IMB B-7405 з метою подальшого їх потенційного використання як компонентів мийно-дезінфікувальних засобів. Такі розрахунки необхідні для висновку про те, чи будуть виправданими витрати на триваліший процес, який забезпечить вищу концентрацію цільового продукту, чи достатньо отримати нижчу кількість ПАР упродовж меншого терміну культивування.

На наступному етапі аналізували вплив на руйнування біоплівки *E. coli* IEM-1 поверхнево-активних речовин, синтезованих *N. vaccinii* IMB B-7405 упродовж 5 і 7 діб на середовищі, в якому збільшували концентрацію катіонів кальцію — активатора НАДФ⁺-залежної глутаматдегідрогенази (табл. 3).

Дані, наведені у табл. 3, засвідчують схожі закономірності впливу ПАР, синтезованих *N. vaccinii* IMB B-7405 на базовому середовищі і середовищі з підвищеним вмістом катіонів кальцію, на деструкцію біоплівки *E. coli* IEM-1. Так, незалежно від концентрації поверхнево-активних речовин ступінь руйнування біоплівки за дії розчину ПАР, синтезованих упродовж 5 діб, був

практично однаковим і становив 74—87%. Щоправда, деструкція біоплівки під впливом аналогічного супернатанту була суттєво нижчою (24—67%), у той час як за використання супернатанту (8,75—35 мкг/мл ПАР), одержаного з культуральної рідини після вирощування штаму ІМВ В-7405 на базовому середовищі, досягала 69—84% (табл. 2).

Таблиця 3. Роль ПАР, синтезованих *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на середовищі з підвищеним вмістом Ca^{2+} , у руйнуванні біоплівки *E. coli* ІЕМ-1

Тривалість культивування, діб	Препарати	Руйнування (%) біоплівки після обробки ПАР (мкг/мл)							
		1120	560	280	140	70	35	17,5	8,75
5	розчин ПАР	85	83	74	83	80	74	84	87
	супернатант	Н.в.	28	24	50	50	51	59	67
7	розчин ПАР	Н.в.	48	48	45	67	44	80	79
	супернатант	Н.в.	16	19	35	82	80	78	78

Примітка. Під час визначення ступеня руйнування біоплівки похибка не перевищувала 5%. Н.в. — не визначали.

Так само, як і під час культивування *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на базовому середовищі, збільшення до 7 діб тривалості процесу на середовищі з підвищеним вмістом катіонів кальцію, супроводжувалося синтезом ПАР, обидва препарати яких руйнували біоплівку *E. coli* ІЕМ-1 на 78—80% за невисоких концентрацій (8,75—17,5 мкг/мл). У разі збільшення концентрації ПАР у препаратах до 140—560 мкг/мл деструкція біоплівки тест-культури становила всього 16—48% (табл. 3).

Таким чином, дані, наведені у табл. 2 і 3, засвідчили практично однакову здатність поверхнево-активних речовин, синтезованих *N. vaccinii* ІМВ В-7405 на середовищі з різним вмістом катіонів кальцію, руйнувати біоплівку *E. coli* ІЕМ-1. Можна очікувати, що додаткове внесення у середовище культивування штаму ІМВ В-7405 активатора НАДФ⁺-залежної глутаматдегідрогенази супроводжуватиметься посиленням антимікробної активності синтезованих ПАР, що буде предметом наших подальших досліджень.

У [13] показано, що рамноліпіди *Pseudomonas aeruginosa* LCD12 здатні не лише запобігати прикріпленню бактерій *Staphylococcus aureus* FD5, *Staphylococcus epidermidis* LK8, *Bacillus subtilis* RI6, *E. coli* PJ3 до полістиролової поверхні, а й руйнувати утворені тест-культурами біоплівки на відповідному матеріалі. Так, за наявності ПАР штаму LCD12 (32—128 мкг/мл) руйнування біоплівок тест-культур становило 50%.

Мінімальна ефективна концентрація ліпепептидів *Bacillus tequilensis* СН, необхідна для деструкції біоплівки *E. coli* і *Streptococcus mutans* на гідрофобних і гідрофільних поверхнях, становить 50 мкг/мл [14]. Пізніше ці ж автори встановили, що гліколіпід, синтезований *Lysinibacillus fusiformis* S9, за концентрації 40 мкг/мл не виявляв бактерицидної активності, проте повністю руйнував біоплівку штамів *E. coli* і *S. mutans* [15].

У [8] зазначалося, що ефективні концентрації мікробних ПАР, які забезпечують зниження адгезії мікроорганізмів на різних поверхнях і руйнування біоплівок суттєво різняться: для прояву антиадгезивних властивостей ПАР

необхідні значно нижчі (навіть на порядки) концентрації поверхнево-активних речовин. Так, концентрація ПАР *Lactobacillus jensenii* 25258 і *Lactobacillus rhamnosus* 7469, яка забезпечувала зниження на 40—50% адгезії клінічних ізолятів *Acinetobacter baumannii*, *E. coli* і *S. aureus* на полістиролі, становила 25—50 мг/мл, а концентрація, необхідна для руйнування на 30—50% біоплівки цих же бактерій, була удвічі вищою.

Одержані результати показують, що ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405 у низьких концентраціях (8,75—17,5 мкг/мл) здатні руйнувати більш як на 80% біоплівку *E. coli* ІЕМ-1 на полістиролі, а також, як встановлено раніше [8; 10; 12], у практично таких самих концентраціях (5—30 мкг/мл) проявляють високу антиадгезивну активність і знижують на 50—80% адгезію деяких бактерій (*E. coli* ІЕМ-1, *Bacillus subtilis* БТ-2), дріжджів (*Candida albicans* Д-6) і мікроміцетів (*Aspergillus niger* Р-3, *Fusarium culmorum* Т-7) на абіотичних (пластик, скло, кахель, лінолеум) і біотичних (катетери, зубні протези) поверхнях.

Висновок

Отже, в результаті проведеного дослідження встановлено, що ефективні концентрації ПАР *N. vaccinii* ІМВ В-7405, які забезпечують високий ступінь руйнування біоплівки *E. coli* ІЕМ-1, є в кілька разів нижчими, ніж встановлені для відомих у світі мікробних ПАР. Крім того, ПАР, синтезовані в різних умовах культивування штаму ІМВ В-7405, характеризувалися практично однаковою здатністю до деструкції бактеріальної біоплівки.

Література

1. Kostakioti M., Hadjifrangiskou M., Hultgren S.J. Bacterial biofilms: development, dispersal, and therapeutic strategies in the dawn of the postantibiotic era. *Cold. Spring. Harb. Perspect. Med.* 2013; 3(4): a010306. doi: 10.1101/cshperspect.a010306.
2. Рахматуліна М.Р., Нецаева І.А. Биопленки микроорганизмов и их роль в формировании резистентности к антибактериальным препаратам. *Вестник дерматологии и венерологии.* 2015; (2): 58—62.
3. Голуб А.В. Бактериальные биопленки — новая цель терапии? *Клин. Микробиол. Антимикроб. Химиотер.* 2012; 14(1): 23—29.
4. Qu Y., Locock K., Verma-Gaur J., Hay I.D., Meagher L., Traven A. Searching for new strategies against polymicrobial biofilm infections: guanlylated polymethacrylates kill mixed fungal/bacterial biofilms. *J. Antimicrob. Chemother.* 2016; 71(2): 413—421. doi: 10.1093/jac/dkv334.
5. Rodrigues M.E., Lopes S.P., Pereira C.R., Azevedo N.F., Lourenco A., Henriques M., Pereira M.O. Polymicrobial ventilator-associated pneumonia: fighting *in vitro* *Candida albicans*-*Pseudomonas aeruginosa* biofilms with antifungal-antibacterial combination therapy. *PLoS ONE.* 2017; 12(1): e0170433. doi:10.1371/journal.pone.0170433.
6. Grischke J., Eberhard J., Stiesch M. Antimicrobial dental implant functionalization strategies — a systematic review. *Dent. Mater. J.* 2016; 35(4): 545—58. doi: 10.4012/dmj.2015-314.
7. Mohsenipour Z., Hassanshahian M. Antibacterial activity of *Euphorbia hebecarpa* alcoholic extracts against six human pathogenic bacteria in planktonic and biofilm forms. *Jundishapur J. Microbiol.* 2016; 9(6): e34701. <http://doi.org/10.5812/jjm.34701>.
8. Pirog T.P., Savenko I.V., Lutsay D. A. Microbial surface-active substances as antiadhesive agents. *Biotechnologia acta.* 2016; 9(3): 7—22. doi: org/10.15407/biotech9.03.007.
9. Rivardo F., Martinotti M.G., Turner R.J., Ceri H. Synergistic effect of lipopeptide biosurfactant with antibiotics against *Escherichia coli* CFT073 biofilm. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2011; 37(4): 324—331. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2010.12.011.

10. Pirog T.P., Nikituk L.V., Tymoshuk K.V., Shevchuk T.A., Iutynska G.A. Biological properties of *Nocardia vaccini* IMV B-7405 surfactants synthesized on fried sunflower oil. *Microbiol. Zh.* 2016; 78(2): 2—12.

11. Gomes M-Z.V., Nitschke M. Evaluation of rhamnolipids surfactants as agents to reduce the adhesion of *Staphylococcus aureus* to polystyrene surfaces. *Lett. Appl. Microbiol.* 2012; 49(1): 960—965.

12. Pirog T.P., Nikituk L.V., Iutynska G.O. Biological properties of *Nocardia vaccini* IMV B-7405 surfactants synthesized on byproduct of biodiesel production // *Microbiol. Zh.* 2016; 78(5): 12—20.

13. Das P., Yang X-P., Ma L.Z. Analysis of biosurfactants from industrially viable *Pseudomonas* strain isolated from crude oil suggests how rhamnolipids congeners affect emulsification property and antimicrobial activity. *Front. Microbiol.* 2014; 5. doi: 10.3389/fmicb.2014.00696.

14. Pradhan A.K., Pradhan N., Mall G., Panda H.T., Sukla L.B., Panda P.K., Mishra B.K. Application of lipopeptide biosurfactant isolated from a halophile: *Bacillus tequilensis* CH for inhibition of biofilm. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 2013;171(6): 1362—1375. doi: 10.1007/s-12010-013-0428-3.

15. Pradhan A.K., Pradhan N., Sukla L.B., Panda P.K., Mishra B.K. Inhibition of pathogenic bacterial biofilm by biosurfactant produced by *Lysinibacillus fusiformis* S9. *Bioprocess Biosyst. Eng.* 2014; 37(2): 139—149. doi: 10.1007/s00449-013-0976-5.

ВЛИЯНИЕ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ, СИНТЕЗИРОВАННЫХ В РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ *NOCARDIA VACCINII* ИМВ В-7405, НА ДЕСТРУКЦИЮ БИОПЛЕНКИ *ESCHERICHIA COLI* ИЭМ-1

Т.П. Пирог, Л.В. Никитюк, К.Р. Кондрашевская, И.В. Ключка
Национальный университет пищевых технологий

В статье исследована роль в разрушении биопленки *Escherichia coli* ИЭМ-1 поверхностно-активных веществ (ПАВ), синтезированных *Nocardia vaccini* IMV B-7405 в течение 5 и 7 суток в среде с различным содержанием катионов кальция (активатор НАДФ⁺-зависимой глутаматдегидрогеназы — ключевого фермента биосинтеза поверхностно-активных аминоклипоидов). Установлено, что независимо от содержания CaCl₂ в среде (0,1 или 0,4 г/л) и длительности культивирования штамма IMV B-7405 синтезированные ПАВ в низких концентрациях (8,75—17,5 мкг/мл) разрушали на 60—87% биопленку *E. coli* ИЭМ-1 на полистироле. Эффективные концентрации ПАВ *N. vaccini* IMV B-7405, обеспечивающие высокую степень разрушения биопленки *E. coli* ИЭМ-1, в несколько раз ниже, чем установленные для известных в мире микробных ПАВ.

Ключевые слова: *Nocardia vaccini* IMV B-7405, поверхностно-активные вещества, деструкция биопленки, условия культивирования.