

DOI 10.17721/1728.2748.2022.91.1-36

Наведено експериментальні дані про особливості будови, розвитку та функціонування рослинних і тваринних організмів, флору та фауну України, одержані на основі досліджень, що проводять науковці ННЦ "Інститут біології та медицини" у галузях фізіології рослин і тварин, генетики, ботаніки, зоології, мікробіології, вірусології. Викладено нові дані стосовно біохімічних і біофізичних основ регуляції у клітинах і органах у нормі та після впливу різноманітних фізико-хімічних факторів. Подано результати нових методичних розробок.

Для викладачів, наукових співробітників, аспірантів і студентів.

Collection of articles written by the scientists of ESC "Institute of biology and medicine" contains data on research in molecular biology, physiology, genetics, microbiology, virology, botanics, zoology concerning the structure, development and function of the plant and animal organisms, flora and fauna of Ukraine. Results of newly developed biophysical methods of biological research, biochemical data regarding metabolic regulation under the influence of different factors are presented.

For scientists, professors, aspirants and students.

<b>ВІДПОВІДАЛЬНИЙ РЕДАКТОР</b>	Л. Остапченко, д-р біол. наук, проф. (м. Київ, Україна)
<b>РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ</b>	Є. Торгалю, канд. біол. наук (заст. відп. ред.) (м. Київ, Україна); Р. Мневель, лікар (м. Київ, Україна); Шарміла Фагуні, канд. біол. наук (м. Турин, Італія); Вадим Гапоненко, канд. техн. наук, проф. (м. Чикаго, США); Кет Козирицька, канд. техн. наук (м. Бостон, США); Юрій Мандрик, канд. мед. наук (м. Кобленц, Німеччина); Ніколета Лугонія, канд. хім. наук (м. Белград, Сербія); Шандор Макай, д-р біол. наук, проф. (м. Сомбатхей, Угорщина); Абенаволі Людовіко, д-р мед. наук (м. Катандзаро, Італія); Іван Бубряк, канд. мед. наук (Оксфорд, Велика Британія); В. Мартинюк, д-р біол. наук, проф. (м. Київ, Україна); М. Макаруч, д-р біол. наук, проф. (м. Київ, Україна); Н. Таран, д-р біол. наук, проф. (м. Київ, Україна); А. Сиволоб, д-р біол. наук, проф. (м. Київ, Україна); В. Джаган, канд. біол. наук, доц. (м. Київ, Україна); В. Хоперія, д-р мед. наук, проф. (м. Київ, Україна); Т. Берегова, д-р біол. наук, проф. (м. Київ, Україна); М. Держинський, д-р біол. наук, проф. (м. Київ, Україна); О. Жолос, д-р біол. наук, проф. (м. Київ, Україна)
<b>Адреса редколегії</b>	ННЦ "Інститут біології та медицини"; просп. акад. Глушкова, 2 а, м. Київ, 03127, Україна ☎ (38044) 521-35-98; <a href="https://bio.visnyk.knu.ua/">https://bio.visnyk.knu.ua/</a>
<b>Затверджено</b>	Вченою радою ННЦ "Інститут біології та медицини" 13.12.22 (протокол № 5)
<b>Атестовано</b>	Вищою атестаційною комісією України. Постанова Президії ВАК України № 1-05/3 від 14.04.10
<b>Зареєстровано</b>	Міністерством юстиції України. Свідоцтво про державну реєстрацію КВ № 16053-4525 ПР від 09.11.09
<b>Засновник та видавець</b>	Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Видавничо-поліграфічний центр "Київський університет". Свідоцтво внесено до Державного реєстру ДК № 1103 від 31.10.02
<b>Адреса видавця</b>	ВПЦ "Київський університет", б-р Тараса Шевченка, 14, м. Київ, 01601, Україна, ☎ (38044) 239 31 72, 239 32 22; факс 239 31 28
<b>Журнал входить до наукометричних баз:</b>	Index Copernicus (із 2012 р. ICV – 2019 = 71.39); Cite Factor (із 2014 р.); Research Bible (із 2013 р.); Academic Keys (із 2013 р.); DOAJ (із 2013 р.); EBSCO.EJS (із 2012 р.); Free medical journals list of Geneva Foundation for Medical Education and Research (із 2014 р.); HINARI (із 2013 р.); Medical Journals Links (із 2013 р.); OAJI (із 2012 р.); The Knowledge Network (із 2014 р.); Ulrich's Periodicals Directory (із 2012 р.); WorldCat (із 2013 р.); "Наукова періодика України" в Національній бібліотеці України імені В. І. Вернадського та в Національному депозитарії академічних текстів

DOI 10.17721/1728.2748.2022.91.1-36

Collection of articles written by the scientists of ESC "Institute of biology and medicine" contains data on research in molecular biology, physiology, genetics, microbiology, virology, botanics, zoology concerning the structure, development and function of the plant and animal organisms, flora and fauna of Ukraine. Results of newly developed biophysical methods of biological research, biochemical data regarding metabolic regulation under the influence of different factors are presented.

For scientists, professors, aspirants and students.

Наведено експериментальні дані про особливості будови, розвитку та функціонування рослинних і тваринних організмів, флору та фауну України, одержані на основі досліджень, що проводять науковці ННЦ "Інститут біології та медицини" у галузях фізіології рослин і тварин, генетики, ботаніки, зоології, мікробіології, вірусології. Викладено нові дані стосовно біохімічних і біофізичних основ регуляції у клітинах і органах у нормі та після впливу різноманітних фізико-хімічних факторів. Подано результати нових методичних розробок.

Для викладачів, наукових співробітників, аспірантів і студентів.

<b>EDITOR-IN-CHIEF</b>	Lyudmila Ostapchenko, Dr Hab., Prof. (Kyiv, Ukraine)
<b>EDITORIAL BOARD</b>	Elizabeth Torgalo, PhD, researcher (Deputy editor-in-chief) (Kyiv, Ukraine); Ruslan Mnevets, Dr. (technical secretary) (Kyiv, Ukraine); Sharmila Fagoonee, PhD (Turin, Italy); Vadim Gaponenko, PhD, Prof. (Chicago, United States); Kat Kozyrytska, PhD (Boston, United States); Yuriy Mandryk, PhD (Koblentz, Germany); Nikoleta Lugonja, PhD (Belgrade, Republic of Serbia); Sandor Makai, Prof., Dr. Hab. (Szombathely, Hungary); Ludovico Abenavoli, PhD, Associate Prof. (Catanzaro, Italy); Ivan Boubriak, Prof. (Oxford, United Kingdom); Viktor Martynyuk, Dr. Science, Prof. (Kyiv, Ukraine); Mykola Makarchuk, Dr. Science, Prof. (Kyiv, Ukraine); Nataliya Taran, Dr. Science, Prof. (Kyiv, Ukraine); Andriy Syvolob, Dr. Science, Prof. (Kyiv, Ukraine); Veronika Dzhagan, PhD, Associate Prof. (Kyiv, Ukraine); Viktoriya Hoperia, Dr. Science, Prof. (Kyiv, Ukraine); Tetyana Beregova, Dr. Science, Prof. (Kyiv, Ukraine); Mykola Dzerzhynsky, Dr. Science, Prof. (Kyiv, Ukraine); Oleksandr Zholos, Dr. Science, Prof. (Kyiv, Ukraine)
<b>Editorial address</b>	ESC "Institute of Biology and Medicine", 2a, acad. Glushkov av., Kyiv, 03127, Ukrainian ☎ (38044) 521 35 98; <a href="https://bio.visnyk.knu.ua/">https://bio.visnyk.knu.ua/</a>
<b>Approved by</b>	The Academic Council of the ESC "Institute of Biology and Medicine" 13.12.22 (Protokol № 5)
<b>Attestated by</b>	Higher Attestation Commission of Ukraine HAC Presidio decree № 1-05/3 (April 14th, 2010)
<b>Registered by</b>	Ministry of Justice of Ukraine. Registration certificate KV № 16053-4525 ПП (November 9th, 2009)
<b>Founded and Published</b>	Taras Shevchenko National University of Kyiv, Publishing house "Kyiv University". Certificate included in the State Register ДК № 1103 від 31.10.02
<b>Publisher's Address</b>	Publishing and Polygraphic Center "Kyiv University", 14, Taras Shevchenka Blvd., Kyiv, 01601, Ukraine, ☎ (38044) 239 31 72, 239 32 22; fax 239 31 28
<b>Abstracted and Indexed:</b>	Academic Keys, CiteFactor, Directory of Open Access Journals (DOAJ), E-Library.ru, Hinari, Geneva Foundation for Medical Education and Research, DRJI, Open Academic Journal Index (OAJI), Quality Open Access Market (QOAM), ResearchBib, Ulrich's Periodicals, WorldCat, Ukrainian scientific journals; V. I. Vernadsky National Library of Ukraine, The journal uses CLOCKSS digital archiving policy as well as an electronic archive of Vernadsky National Library of Ukraine.

---

## ЗМІСТ

---

<b>Сербін А., Стрелкова К., Коваль Т., Харченко О., Андрійчук Т.</b> Дослідження показників оксидативного стресу в нирках статевонезрілих щурів з гіпергомоцистеїнемією.....	5
<b>Креницька Д., Рачковська А., Савчук О., Карбовський В.</b> Характеристика заліозалежних параметрів донорів за наявності анти-SARS-CoV-2 IgG у кровотоці .....	10
<b>Корнієнко Н., Бурба П., Понятовський В., Бондаренко О., Зайченко О., Лютко О., Харіна А.</b> Новий бактеріофаг мультирезистентного штаму <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	15
<b>Остапченко Д., Короткий О., Цирюк О., Пенчук Ю., Сішел Л.</b> Антимікробний потенціал лізату молочнокислих бактерій <i>LACTOBACILLUS RHAMNOSUS V</i> .....	19
<b>Тетерюк Н., Захарчук І., Голубка О., Радченко Л., Міроненко А.</b> Віруліцидна дія пробіотичного препарату "SVITECO-MULTI" на поліовірус першого типу та вірус грипу .....	24
<b>Сінгаєвський Є., Гриник Є., Балан П.</b> До вивчення фауни павуків ( <i>ARACHNIDA, ARANEI</i> ) Чернігівського Полісся: павуки Биківнянського лісового масиву міста Києва .....	28

---

## CONTENTS

---

<b>Serbin A., Strelkova K., Koval T., Kharchenko O., Andriichuk T.</b> Research of indicators of oxidative stress in the kidneys of immature rats with hyperhomocysteinemia .....	5
<b>Krenytska D., Rachkovska A., Savchuk O., Karbovskiy V.</b> Characteristics of iron- dependent parameters of donors under the presence of anti-SARS-CoV-2 IgG in the blood .....	10
<b>Korniienko N., Burba P., Poniatovskyi V., Bondarenko O., Zaychenko O., Liutko O., Kharina A.</b> New bacteriophage of multidrug resistant strain of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	15
<b>Ostapchenko D., Korotkyi O., Tsyryuk O., Penchyk Yu., Sichel L.</b> Antimicrobial potential of lactic acid bacteria <i>LACTOBACILLUS RHAMNOSUS</i> lysate .....	19
<b>Teteriuk N., Zakharchuk I., Holubka O., Radchenko L., Mironenko A.</b> Virulicidal effect of the probiotic drug "SVITECO-MULTI" on poliovirus type 1 and influenza virus.....	24
<b>Singayevskiy E., Hrynyk E., Balan P.</b> To the study of the fauna of spiders ( <i>ARACHNIDA</i> , <i>ARANEI</i> ) of the Chernigiv Polissia: spiders of the Bykivnian forest area of the city of Kyiv .....	28

## ДОСЛІДЖЕННЯ ПОКАЗНИКІВ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕСУ В НИРКАХ СТАТЕВОНЕЗРІЛИХ ЩУРІВ З ГІПЕРГОМОЦИСТЕЇНЕМІЄЮ

*Гіпергомоцистеїнемія у дітей може розвиватися внаслідок генетичних дефектів, ендокринних аномалій або за впливу харчових чинників. Підвищений рівень гомоцистеїну вважається фактором ризику прогресування хронічної хвороби нирок. Метою роботи було дослідити показники оксидативного стресу в гомогенаті нирок статевонезрілих щурів у контролі та за гіпергомоцистеїнемії. Було визначено концентрацію відновленого та окисненого глутатіонів, активність супероксиддисмутази, каталази та синтази оксиду азоту. Модель гіпергомоцистеїнемії відтворювали на одномісячних щурах-самцях, яких утримували на стандартному раціоні їварію. Дослідній групі внутрішньошлунково вводили D,L-тіолактон гомоцистеїну гідрохлориду на 1 %-му розчині крохмалю в дозі 200 мг/кг маси тіла один раз на добу упродовж восьми тижнів. Контрольній групі тварин вводили відповідний об'єм 1 %-го розчину крохмалю. Концентрацію білка визначали за методом Бредфорд. Активність супероксиддисмутази, каталази та синтази оксиду азоту визначали спектрофотометрично, концентрацію відновленого та окисненого глутатіону – флуориметричним методом. Установлено, що за гіпергомоцистеїнемії відбувалось зниження концентрації відновленого глутатіону, активності супероксиддисмутази, каталази та синтази оксиду азоту на тлі підвищення концентрації окисненого глутатіону в гомогенаті нирок статевонезрілих щурів. Отримані результати свідчать про те, що розвиток оксидативного стресу в нирках статевонезрілих щурів має подібну тенденцію із процесом у статевозрілих тварин, описаним у літературі. Зниження концентрації відновленого глутатіону й активності ферментів антиоксидантного захисту можуть указувати на розвиток патологічних процесів у нирках.*

*Ключові слова: гіпергомоцистеїнемія, глутатіон, супероксиддисмутаза, каталаза, нирки.*

**Вступ.** Хвороби нирок різного походження характеризуються тяжким перебігом і високою летальністю. За останні роки частота ниркових патологій, а особливо останньої стадії – хронічної ниркової недостатності, значно зросла [1]. Важливе місце у розвитку патологій нирок займає гіпергомоцистеїнемія (ГГЦ), яка виникає в результаті порушень метаболізму сірковмісної амінокислоти гомоцистеїну (ГЦ), що є проміжним продуктом перетворення метіоніну на цистеїн [2].

Поширеність ГГЦ у пацієнтів із хронічною хворобою нирок (ХХН) у разі перевищує загальнопопуляційну, навіть при початковій дисфункції нирок, а концентрація гомоцистеїну може досягати дуже високого рівня у осіб з вираженими порушеннями функціонального стану органа, особливо у хворих, які отримують замісну ниркову терапію [3]. Механізми, які лежать в основі токсичності гомоцистеїну, включають оксидативний стрес, пошкодження ДНК, тіолювання та гомоцистеїнілювання білків, що запускають апоптоз та ексцитотоксичність [4].

Наявна в літературних джерелах інформація свідчить про те, що нирки відіграють основну роль у кліренсі гомоцистеїну [5]. Також деякі автори зазначають, що концентрація вказаної амінокислоти підвищується в міру порушення функції нирок, при цьому в пацієнтів спостерігається резистентність до звичайних засобів для зниження рівня гомоцистеїну [5, 6].

Рівень гомоцистеїну в крові і в сечі може різко зростати при гомоцистеїнурії – рідкісній хворобі, що передається у спадок. Вона є причиною змін в одному або кількох генах. У страждаючої від гомоцистеїнурії людини формується дефектний фермент, який не дозволяє здійснювати розщеплення метіоніну. Через це в організмі накопичуються гомоцистеїн та метіонін [7]. Діти, які народжуються з гомоцистеїнурією, через кілька років можуть мати фізичні вади та ризик виникнення тромбозу й атеросклерозу, що може призвести до ранніх серцево-судинних захворювань. Подальший розвиток хвороби загрожує затримкою розумового розвитку, відхиленнями в поведінці та епілепсією [8].

На сьогоднішній день відомо, що підвищений рівень гомоцистеїну може сприяти розвитку оксидативного стресу, знижуючи активність антиоксидантної системи [9]. Окисні ефекти гіпергомоцистеїнемії опосередковують утворення аніонного радикала супероксиду в реакціях із ксантинооксидазою або незв'язаною ендотеліальною синтазою оксиду азоту, сприяють зниженню регуляції антиоксидантних ферментів і виснаженню пулу внутрішньоклітинного глутатіону [10, 11].

Оксидативний стрес є одним із механізмів, який викликає ендотеліальне пошкодження та ендотеліальну дисфункцію. При окисненні сульфгідрильної групи ГЦ утворюються активні форми ксисно, включаючи аніонний радикал супероксиду ( $O_2^-$ ) та перекис водню ( $H_2O_2$ ), які, як вважають, і відповідають за ендотеліальну токсичність ГЦ [12], а також активізують процеси перекисного окиснення ліпідів і запальну відповідь [13]. У присутності оксиду азоту (NO) аніон супероксиду може формувати потужний оксидант пероксинітрид ( $OONO^-$ ) [14].

Хоча на сьогодні існують дані щодо роботи системи глутатіону й антиоксидантних ферментів при гіпергомоцистеїнемії, проте вони мають суперечливий характер, а показники оксидативного стресу на відтворених моделях переважно досліджені у крові статевозрілих тварин.

Отже, **метою** нашої роботи було дослідити показники оксидативного стресу в гомогенаті нирок статевонезрілих щурів у контролі та за гіпергомоцистеїнемії.

**Матеріали і методи.** Дослідження проводили за загальними правилами та міжнародними біоетичними принципами Європейської конвенції про охорону хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, Франція, 1986), загальноетичними принципами, затвердженими Першим національним конгресом України з питань біоетики (вересень 2001 р.). Одномісячних щурів-самців розподіляли на дві групи: контроль і дослід. Модель хронічної гіпергомоцистеїнемії створювали шляхом внутрішньошлункового введення D,L-тіолактон гомоцистеїну гідрохлориду (Acros Organics, Італія) на 1 %-му розчині крохмалю в

дозі 200 мг/кг маси тіла один раз на добу впродовж восьми тижнів [15]. Контрольній групі тварин вводили відповідний об'єм 1 %-го розчину крохмалю. Тварин виводили з експерименту методом дислокації шийних хребців. Гомогенат нирок отримували загальноприйнятим методом [16]. Концентрацію білка у зразках визначали за методом Бредфорд [17].

Вміст відновленого глутатіону (GSH) та окисненого глутатіону (GSSG) визначали флуориметрично, з використанням ортофталевого альдегіду [8]. Концентрацію глутатіонів визначали за калібрувальними графіками. Активність каталази визначали за кількістю утвореного стійкого забарвленого комплексу солей молібдену з незруйнованим пероксидом водню у пробі [18]. Супероксиддисмутазу (СОД) активність оцінювали методом з використанням нітросинього тетразолію [19]. Визначення активності синтази оксиду азоту проводили методом, адаптованим для спектрофотометричного вимірювання, за накопиченням L-цитруліну [20, 21]. Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики та кореляційного аналізу з використанням комп'ютерної програми Microsoft Excel. Підраховували показники середньої ариф-

метичної (M), середньої квадратичної помилки (m). Перевірку гіпотези нормального розподілу вибірки проводили за допомогою критерію Шапіро – Вілка. За відповідності вибірки критеріям нормального розподілу достовірність відмінностей між вибірками визначали за допомогою критерію Стьюдента (t). За невідповідності вибірки критеріям нормального розподілу достовірність відмінностей між вибірками визначали за допомогою критерію Манна – Уїтні (U). Достовірними вважали показники при  $p < 0,05$ .

**Результати дослідження та їх обговорення.** Важливим фактором, від якого залежить концентрація вільних радикалів в організмі, є кооперативна робота антиоксидантних систем, які регулюють рівень активних форм кисню. Антиоксидантна система глутатіону складається із глутатіону, глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази та глутатіонтрансферази. Система глутатіону зв'язує вільні радикали, відновлює пероксиди, що запобігає розвитку вільнорадикальних процесів.

Нами було досліджено вміст відновленого й окисненого глутатіону в гомогенаті нирок одномісячних щурів як у контролі, так і за гіпергомоцистеїнемії (рис. 1).

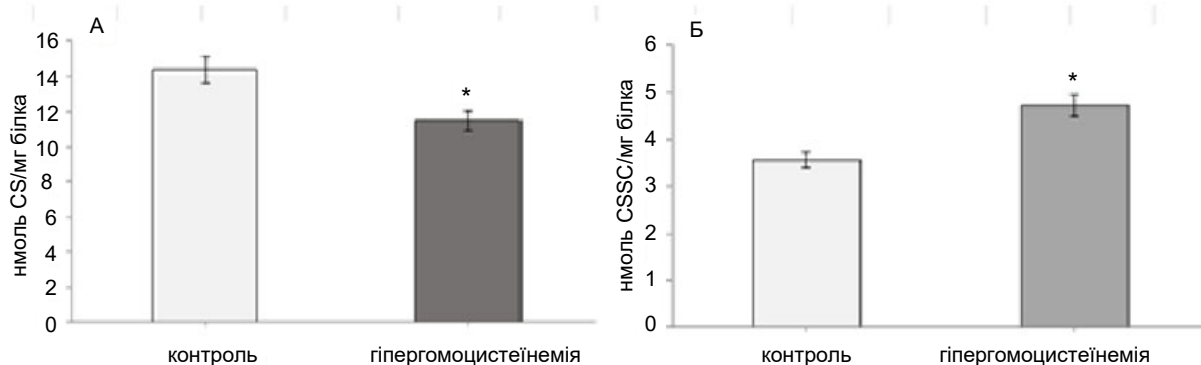


Рис. 1. Концентрація відновленого (А) та окисненого (Б) глутатіону в гомогенаті нирок щурів із гіпергомоцистеїнемією (n = 8)

Примітка\* –  $p < 0,05$  щодо контролю.

Встановлено, що концентрація відновленого глутатіону за гіпергомоцистеїнемії знижувалась на 20 %, а окисненого глутатіону – підвищувалась на 33 % порівняно з контрольними значеннями.

Клітинний пул глутатіону формується в результаті динамічної рівноваги процесів біосинтезу, деградації, міжорганного перерозподілу і транспорту, окисно-відновних перетворень і реакцій кон'югації з електрофільними сполуками. Зниження вмісту відновленого глутатіону нижче показників норми може бути індикатором порушення клітинного редокс-статусу [22].

Інактивація глутатіонової антиоксидантної системи захисту є одним із механізмів впливу гоомцистеїну на ендотелій [23]. Крім зниження активності внутрішньоклітинної глутатіонпероксидази, гоомцистеїн значно знижує і окисно-відновну рівновагу тіолов судинних клітин. У такий спосіб розвивається відносна недостатність косубстрату для ендотеліального захисту від продуктів вільнорадикального метаболізму ГЦ [14].

При дослідженні концентрації GSH у печінці статевозрілих щурів із гіпергомоцистеїнемією, яка викликана дефіцитом вітаміну В6, показано зниження показника. При цьому спостерігалось підвищення рівня малонового діальдегіду й активності глутатіонредуктази, а також зниження активності глутатіонпероксидази [24]. Під час

інших досліджень встановлено, що за гіпергомоцистеїнемії відбувалось підвищення вмісту гоомцистеїну та цистеїну і зниження рівня гідроген сульфід у сироватці крові самців і самок щурів [25]. Фермент цистатіонін- $\gamma$ -ліаза відіграє ключову роль у десульфурації L-цистеїну, тому зниження експресії цистатіонін- $\gamma$ -ліази може спричинити зниження рівня цистеїну, глутатіону, таурину та сірководню у клітинах [26]. Любош та співавтори, аналізуючи літературні дані відтворених моделей ендотеліальної дисфункції з гіпергомоцистеїнемією *in vivo* та *in vitro*, дійшли висновку, що глутатіонпероксидаза може бути ключовою мішенню шкідливого впливу гоомцистеїну [27].

Отже, зниження вмісту відновленого глутатіону у статевонезрілих щурів із гіпергомоцистеїнемією може бути обумовлене порушенням роботи як ферментів глутатіонової системи, так і ферментів десульфурації цистеїну.

Крім порушення роботи антиоксидантної системи глутатіону, оксидативний стрес, спричинений гоомцистеїном, може викликати зміни активності клітинних антиоксидантних ферментів, зокрема супероксиддисмутази та каталази [28].

Нами було досліджено активність СОД і каталази в гомогенаті нирок одномісячних щурів як у контролі, так і за гіпергомоцистеїнемії (табл. 1).

**Таблиця 1. Активність супероксиддисмутази та каталази у гомогенаті нирок щурів із гіпергомоцистеїнемією (n=8)**

Показник	Контроль	Гіпергомоцистеїнемія
Супероксиддисмутаза, ум. од./хв*мг білка	4,34±0,217	2,52±0,126*
Каталаза, мкмоль/хв*мг білка	0,07±0,004	0,05±0,003*

Примітка \* – p < 0,05 щодо контролю.

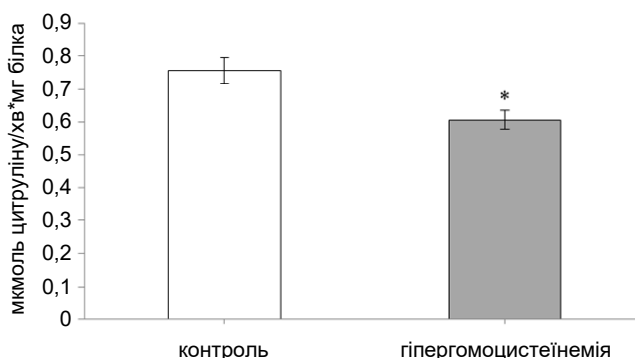
У ході досліджень було встановлено, що активність супероксиддисмутази та каталази за гіпергомоцистеїнемії знижувалась на 42 та 30 %, відповідно, порівняно з контрольними значеннями.

Зниження активності СОД може бути пов'язане з підвищенням концентрації перексиду водню та інактивацією ферменту. Утворення надлишку окиснених метаболітів викликає інгібування СОД акцепторами електронів [29]. Зниження активності каталази, як вважає Мілтон [30], може бути пов'язане з тим, що гомоцистеїн безпосередньо пригнічує розпад H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> каталазою шляхом перетворення ферменту на неактивну форму. Існує гіпотеза, що гомоцистеїн легко аутоокиснюється з утворенням гомоцистеїн-змішаних дисульфідів і тіолактону гомоцистеїну. При окисненні сульфгідрильних груп генеруються супероксид аніон (O<sup>-</sup>) або пероксид водню (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), які, власне, і

визначають цитотоксичність гомоцистеїну [31]. Зниження обміну гомоцистеїну, низький вміст антиоксидантів змінюють баланс між продукцією вільних радикалів та їх нейтралізацією, що призводить до зниження рівня NO, збільшуючи пошкодження судинного ендотелію.

Гіпергомоцистеїнемія може спричинити активне утворення супероксиду за рахунок посилення гломерулярної фільтрації, модуляції транспорту рідини й електролітів, корекції функції нирок у відповідь на дію ушкоджувального фактора [32]. За умов патології саме оксиду азоту належить провідна роль у розвитку і прогресуванні нефросклерозу [33].

Ми досліджували активність синтази оксиду азоту в гомогенаті нирок одномісячних щурів як у контролі, так і за гіпергомоцистеїнемії (рис. 2).



**Рис. 2. Активність загальної синтази оксиду азоту в гомогенаті нирок щурів із гіпергомоцистеїнемією (n = 8)**

Примітка \* – p < 0,05 щодо контролю.

Встановлено, що активність ферменту знижувалась за гіпергомоцистеїнемії на 20 % порівняно з контрольними показниками.

Потенційні механізми, за допомогою яких підвищений рівень гомоцистеїну в плазмі крові викликає зниження біодоступності оксиду азоту, включають роз'єднання активності синтази оксиду азоту та інгібування оксиду азоту оксидативним стресом і розвиток хронічного запалення.

Розвиток гострої та хронічної ендотеліальної дисфункції за ГГЦ виявлено як в експерименті на тваринах, так і в людини [14]. Великого значення серед механізмів розвитку ендотеліальної дисфункції надають впливу ГЦ на метаболізм оксиду азоту (NO). NO є сильним вазодилататором і, ураховуючи, що ниркові судини більш чутливі до змін ендотеліальної функції, ніж судини інших органів [34], він відіграє ключову роль у нирковому гомеостазі, регулюючи гломерулярну і канальцеву функції [35]. Інактивація NO за рахунок аніонного радикала супероксиду і пероксинітриду, що утворюється при цьому, може впливати на медулярний нирковий кровотік, сприяючи розвитку гострої ниркової недостатності [36].

Чен та співавтори вважають, що гіпергомоцистеїнемія, активація оксидативного стресу і знижені функції антиоксидантного захисту пов'язані з ризиком розвитку хронічної хвороби нирок [37]. Дослідження рівня гомоцистеїну у клінічній практиці при захворюваннях нирок особливо необхідне на ранніх стадіях розвитку хвороби. Це важливо як для діагностики та лікування, так і для своєчасного попередження виникнення тяжких ускладнень і несприятливих наслідків захворювання.

**Висновки.** Отже, на відтвореній моделі гіпергомоцистеїнемії у одномісячних щурів спостерігався розвиток оксидативного стресу, за якого відбувалось зниження вмісту відновленого глутатіону та підвищення вмісту його окисненої форми у гомогенаті нирок щурів. Дисбаланс антиоксидантної системи, а саме зниження активності супероксиддисмутази та каталази, призводить до її виснаження. Зниження активності синтази оксиду азоту може вказувати на розвиток патологічних процесів у нирках. Розвиток оксидативного стресу в нирках статевонезрілих щурів мав подібну тенденцію із процесом у статевозрілих тварин.

## Список використаних джерел

- Acute kidney injury / J. Kellum, P. Romagnani, G. Ashuntantang et al. // *Nature reviews disease primer*. – 2021. – Vol. 7, № 1. – P. 52. – doi:10.1038/s41572-021-00284-z
- Poddar R. Hyperhomocysteinemia is an emerging comorbidity in ischemic stroke / R. Poddar // *Experimental neurology*. – 2020. – Vol. 336. – doi:10.1016/j.expneurol.2020.113541
- Hyperhomocysteinemia predicts cardiovascular outcomes in hemodialysis patients / F. Mallamaci, C. Zoccali, G. Tripepi et al. // *Kidney international*. – 2002. – Vol. 61, № 2. – P. 609–614. – doi:10.1046/j.1523-1755.2002.00144.x
- Homocysteine induces inflammation in retina and brain / N. Elsherbiny, I. Sharma, D. Kira et al. // *Biomolecules*. – 2020. – Vol. 10, № 3. – P. 393. – doi:10.3390/biom10030393
- Kozat S. Homocystein: A new biochemical marker in livestock sector / S. Kozat, E. Okman // *Journal of advanced veterinary and animal research*. – 2017. – Vol. 4, № 4. – P. 319–332. – doi:10.5455/javar.2017.d230
- Nonfasting plasma total homocysteine levels and stroke incidence in elderly persons: the Framingham Study / A. Bostom, I. Rosenberg, H. Silbershatz et al. // *Annals of internal medicine*. – 1999. – Vol. 131, № 5. – P. 352–355. – doi:10.7326/0003-4819-131-5-199909070-00006
- Sacharow S. Homocystinuria caused by cystathionine beta-synthase deficiency / S. Sacharow, J. Picker, H. Levy // *Gene Reviews: University of Washington* / ed. by M. Adam, D. Everman, G. Mirzaa et al. – Seattle, 2004–2017. – Available from: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1524/
- Three main causes of homocystinuria: CBS, cblC and MTHFR deficiency. What do they have in common? / G. Weber, S. Poloni, H. Blom et al. // *Journal of inborn errors of metabolism and screening*. – 2019. – Vol. 7. – P. e20190007. – doi:10.1590/2326-4594-JIEMS-2019-0007
- Zhuo J. Is hyperhomocysteinemia an Alzheimer's disease (AD) risk factor, an AD marker, or neither? / J. Zhuo, H. Wang, D. Praticò // *Trends in pharmacological sciences*. – 2011. – Vol. 32, № 9. – P. 562–571. – doi:10.1016/j.tips.2011.05.003
- Ighodaro O. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid / O. Ighodaro, O. Akinloye // *Alexandria journal of medicine*. – 2018. – Vol. 54, № 4. – P. 287–293. – doi:10.1016/j.ajme.2017.09.001
- Ganguly P. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease / P. Ganguly, S. Alam // *Nutrition journal*. – 2015. – Vol. 14, № 6. – doi:10.1186/1475-2891-14-6
- Reduction of molecular oxygen by redox active thiols: comparison of glutathione, N-acetylcysteine, cysteine, and homocysteine / M. Nyui, Y. Shoji, M. Ueno et al. // *Journal of clinical biochemistry and nutrition*. – 2019. – Vol. 65, № 3. – P. 185–192. – doi:10.3164/jcfn.19-25
- Possible mechanisms of homocysteine toxicity / A. Perna, D. Ingrosso, C. Lombardi et al. // *Kidney international*. – 2003–Vol. 63, № 84. – P. S137–S140. – doi.org/10.1046/j.1523-1755.63.s84.33.x
- Lai W. Homocysteine-induced endothelial dysfunction / W. Lai, M. Kan // *Annals of nutrition and metabolism*. – 2015. – Vol. 67. – P. 1–12. – doi:10.1159/000437098
- Дослідження протеолітичної активності в нирках та печінці шурів за розвитку хронічної алкогольної інтоксикації / А. Сербін, Ю. Комар, Т. Коваль та ін. // *Вісник Київ. нац. ун-ту імені Тараса Шевченка. Біологія*. – 2021. – Т. 85, № 2. – С. 42–46. – doi:10.17721/1728\_2748.2021.85.42-46
- Raksha N. Proteolytic activity in the heart of rats with hyperhomocysteinemia / N. Raksha, O. Maievskiy, I. Dzevulska // *Wiadomości lekarskie*. – 2022. – Vol. 75, № 4. – P. 831–835. – doi:10.36740/WLek202204115
- Bradford M. A rapid and sensitive method for quantities of utilizing the principle of protein binding / M. Bradford // *Analytical Biochemistry*. – 1976. – Vol. 86. – P. 193–200. – doi:10.1006/abio.1976.9999
- Ruch R. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea / R. Ruch, S. Cheng, J. Klauinig // *Carcinogen*. – 1989. – Vol. 10, № 6. – P. 1003–1008. – doi:10.1093/carcin/10.6.1003
- Chakraborty G. Free radicals scavenging activity of Aesculus indicaleaves / G. Chakraborty // *International Journal of PharmTech Research*. – 2009. – Vol. 1. – P. 524–526.
- Salter M. Widespread tissue distribution, species distribution and changes in activity of Ca<sup>2+</sup>-dependent and Ca<sup>2+</sup>-independent nitric oxide synthases / M. Salter, R. Knowles, S. Moncada // *FEBS Letters*. – 1991. – Vol. 291, № 1. – P. 145–149. – doi:10.1016/0014-5793(91)81123-p
- Increased activity and expression of Ca<sup>2+</sup>-dependent NOS in renal cortex of ANG II-infused hypertensive rats / S. Chin, K. Pandey, S. Shi et al. // *The American journal of physiology*. – 1999. – Vol. 277, № 5/2. – P. F797–F804. – doi:10.1152/ajprenal.1999.277.5.F797
- Демченко А. Стан системи глутатіону у гемолізаті еритроцитів хворих на хронічну ішемію мозку / А. Демченко // *Східноєвропейський неврологічний журнал*. – 2016. – № 4. – С. 30–36.
- Homocysteine causes vascular endothelial dysfunction by disrupting endoplasmic reticulum redox homeostasis / X. Wu, L. Zhang, Y. Miao et al. // *Redox biology*. – 2019. – Vol. 20, № 1. – P. 46–59. – doi:10.1016/j.redox.2018.09.021
- Taysi S. Oxidant/antioxidant status in liver tissue of vitamin B<sub>6</sub> deficient rats / S. Taysi // *Clinical Nutrition*. – 2005. – Vol. 24. – P. 9–35. – doi:10.1016/j.clnu.2004.12.001
- Мельник А. Гендерні особливості впливу гіпергомоцистеїнемії на метаболізм сірковмісних амінокислот та гідроген сульфід у печінці / А. Мельник, Н. Заїчко // *Медична та клінічна хімія*. – 2017. – № 1. – С. 95–101. – doi:10.11603/mcch.2410-681X.2017.v0.i1.7352
- γ-Liaza cystationinowa [Cystathionine γ-lyase] / H. Jurkowska, M. Kaczor-Kamińska, P. Bronowicka-Adamska et al. // *Postępy higieny i medycyny doswiadczalnej*. – 2014. – Vol. 68. – P. 1–9. – doi:10.5604/17322693.1085372
- Lubos E. Homocysteine and glutathione peroxidase-1 / E. Lubos, J. Loscalzo, D. Handy // *Antioxidants and redox signaling*. – 2007. – Vol. 9, № 11. – doi:10.1089/ars.2007.1771.
- Implication of hyperhomocysteinemia in blood retinal barrier (BRB) dysfunction / A. Tawfik, Y. Samra, N. Elsherbiny et al. // *Biomolecules*. – 2020. – Vol. 10, № 8. – P. 1119. – doi:10.3390/biom10081119
- Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species / L. He, T. He, S. Farrar et al. // *Cellular Physiology and Biochemistry*. – 2017. – Vol. 44, № 2. – P. 532–53. – doi:10.1159/000485089
- Milton N. Homocysteine inhibits hydrogen peroxide breakdown by catalase / N. Milton // *The open enzyme inhibition journal*. – 2008. – Vol. 1, № 1. – P. 34–41. – doi:10.2174/1874940200801010034
- Long Y. Homocysteine in Renal Injury / Y. Long, J. Nie // *Kidney diseases (Basel)*. – 2016. – Vol. 2, № 2. – P. 80–87. – doi:10.1159/000444900
- Pereira B. The role of nitric oxide in renovascular hypertension: from the pathophysiology to the treatment / B. Pereira, G. Vale, C. Ceron // *Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacology*. – 2022. – Vol. 395, № 2. – P. 121–131. – doi:10.1007/s00210-021-02186-z
- Renoprotective effects of melatonin in young spontaneously hypertensive rats with L-NAME / M. Cheng, T. Wu, L. Huang et al. // *Pediatrics and Neonatology*. – 2014. – Vol. 55, № 3. – P. 189–95. – doi:10.1016/j.pedneo.2013.09.005
- Norvaline reduces blood pressure and induces diuresis in rats with inherited stress-induced arterial hypertension / M. Gilinsky, Y. Polityko, A. Markel et al. // *BioMed Research International*. – 2020. – Vol. 12, № 2. – P. 4935386. – doi:10.1155/2020/4935386
- Oliveira F. The role of nitric oxide in sepsis-associated kidney injury / F. Oliveira, J. Assrey, R. Sordi // *Bioscience reports*. – 2022. – Vol. 42, № 7. – P. BSR20220093. – doi:10.1042/BSR20220093
- Physiological and pathophysiological role of reactive oxygen species and reactive nitrogen species in the kidney / Y. Ishimoto, T. Tanaka, Y. Yoshida et al. // *Clinical and experimental pharmacology and physiology*. – 2018. – Vol. 45, № 11. – P. 1097–1105. – doi:10.1111/1440-1681.13018
- High homocysteine, low vitamin B-6, and increased oxidative stress are independently associated with the risk of chronic kidney disease / C. Chen, W. Yang, Y. Hsiao et al. // *Nutrition*. – 2016. – Vol. 32, № 2. – P. 236–241. – doi:10.1016/j.nut.2015.08.016

## References

- Kellum J, Romagnani P, Ashuntantang G, Ronco C, Zarbock A, Anders H. Acute kidney injury. *Nat Rev Dis Primers*. 2021;7(1):52. doi:10.1038/s41572-021-00284-z
- Poddar R. Hyperhomocysteinemia is an emerging comorbidity in ischemic stroke. *Exp Neurol*. 2021;336:113541. doi:10.1016/j.expneurol.2020.113541
- Mallamaci F, Zoccali C, Tripepi G, Fermo I, Benedetto F, Cataliotti A, et al. Hyperhomocysteinemia predicts cardiovascular outcomes in hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2002;61(2):609-14. doi:10.1046/j.1523-1755.2002.00144.x
- Elsherbiny N, Sharma I, Kira D, Alhusban S, Samra Y, Jadeja R, et al. Homocysteine Induces inflammation in retina and brain. *Biomolecules*. 2020;10(3):393. doi:10.3390/biom10030393
- Kozat S, Okman E. Homocystein: A new biochemical marker in livestock sector. *J Adv Vet Anim Res*. 2017; 4(4):319-32. doi:10.5455/javar.2017.d230
- Bostom A, Rosenberg I, Silbershatz H, Jacques P, Selhub J, D'Agostino R, et al. Nonfasting plasma total homocysteine levels and stroke incidence in elderly persons: the Framingham Study. *Ann Intern Med*. 1999;131(5):352-5. doi:10.7326/0003-4819-131-5-199909070-00006
- Sacharow S, Picker J, Levy H. Homocystinuria caused by cystathionine beta-synthase deficiency. In: Adam M, Everman D, Mirzaa G, et al., eds. *GeneReviews*. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 2004-2017. Available from: www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1524/
- Weber G, Poloni S, Blom H, Schwartz I. Three Main Causes of Homocystinuria: CBS, cblC and MTHFR Deficiency. What do they Have in Common? *J. inborn errors metab. screen*. 2019;7:e20190007. doi:10.1590/2326-4594-JIEMS-2019-0007
- Zhuo J, Wang H, Praticò D. Is hyperhomocysteinemia an Alzheimer's disease (AD) risk factor, an AD marker, or neither? *Trends Pharmacol Sci*. 2011;32(9):562-71. doi:10.1016/j.tips.2011.05.003
- Ighodaro O, Akinloye O. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their



fundamental role in the entire antioxidant defence grid. Alexandria journal of medicine. 2018;54(4):287-93. doi:10.1016/j.ajme.2017.09.001

11. Ganguly P, Alam S. Role of homocysteine in the development of cardiovascular disease. Nutr J. 2015;14:6. doi:10.1186/1475-2891-14-6
12. Nyui M, Shoji Y, Ueno M, Nakanishi I, Matsumoto K. Reduction of molecular oxygen by redox active thiols: comparison of glutathione, N-acetylcysteine, cysteine, and homocysteine. J Clin Biochem Nutr. 2019;65(3):185-92. doi:10.3164/jcfn.19-25
13. Perna A, Ingrassio D, Lombardi C, Acanfora F, Satta E, Cesare C, et al. Possible mechanisms of homocysteine toxicity. Kidney Int Suppl. 2003;(84):S137-40. doi:10.1046/j.1523-1755.63.s84.33.x
14. Lai W, Kan M. Homocysteine-induced endothelial dysfunction. Ann Nutr Metab. 2015;67(1):1-12. doi:10.1159/000437098
15. Serbin A, Komar Y, Koval T, Kharchenko O, Andriychuk T. Study of proteolytic activity in rats kidney and liver during the development of chronic alcoholic intoxication. Visnyk Taras Shevchenko national university of Kyiv. Biology. 2021;85(2):42-6. doi:10.17721/1728\_2748.2021.85.42-46
16. Raksha N, Maievskiy O, Dzevulska I, Kaminsky R, Samborska I, Savchuk O, et al. Proteolytic activity in the heart of rats with hyperhomocysteinemia. Wiad Lek. 2022;75(4):831-5. doi:10.36740/WLek202204115
17. Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem. 1976;72:248-54. doi:10.1006/abio.1976.9999
18. Ruch R, Cheng S, Klaunig J. Prevention of cytotoxicity and inhibition of intercellular communication by antioxidant catechins isolated from Chinese green tea. Carcinogenesis. 1989;10(6):1003-8. doi:10.1093/carcin/10.6.1003
19. Chakraborty G. Free radical scavenging activity of Aesculus indica leaves. Inter J PharmTech Research 2009;1:524-6.
20. Salter M, Knowles R, Moncada S. Widespread tissue distribution, species distribution and changes in activity of Ca<sup>2+</sup>-dependent and Ca<sup>2+</sup>-independent nitric oxide synthases. FEBS Lett. 1991;291(1):145-9. doi:10.1016/0014-5793(91)81123-p
21. Chin S, Pandey K, Shi S, Kobori H, Moreno C, Navar L. Increased activity and expression of Ca<sup>2+</sup>-dependent NOS in renal cortex of ANG II-infused hypertensive rats. Am J Physiol. 1999;277(5):F797-804. doi:10.1152/ajprenal.1999.277.5.F797
22. Demchenko A. Glutathione system state in a hemolysate of erythrocytes among the patients with chronic cerebral ischemia. East european journal of neurology. 2016;4:30-6.
23. Wu X, Zhang L, Miao Y, Yang J, Wang X, Wang C, et al. Homocysteine causes vascular endothelial dysfunction by disrupting endoplasmic reticulum redox homeostasis. Redox Biol. 2019;20:46-59. doi:10.1016/j.redox.2018.09.021
24. Taysi S. Oxidant/antioxidant status in liver tissue of vitamin B6 deficient rats. Clin Nutr. 2005;24(3):385-9. doi:10.1016/j.clnu.2004.12.001
25. Melnik A, Zaichko N. Gender characteristics of hyperhomocysteinemia effect on metabolism of sulfur-containing amino acids

and hydrogen sulfide in liver. Medical and Clinical Chemistry. 2017;1:95-101. doi:10.11603/mcch.2410-681X.2017.v0.i1.7352

26. Jurkowska H, Kaczor-Kamińska M, Bronowicka-Adamska P, Wróbel M. γ-Liaza cystationinowa [Cystathionine γ-lyase]. Postepy Hig Med Dosw. 2014;68:1-9. doi:10.5604/17322693.1085372
27. Lubos E, Loscalzo J, Handy D. Homocysteine and glutathione peroxidase-1. Antioxid Redox Signal. 2007;9(11):1923-40. doi:10.1089/ars.2007.1771
28. Tawfik A, Samra Y, Elsherbiny N, Shabraway M. Implication of hyperhomocysteinemia in blood retinal barrier (BRB) dysfunction. Biomolecules. 2020;10(8):1119. doi:10.3390/biom10081119
29. He L, He T, Farrar S, Ji L, Liu T, Ma X. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species. Cell Physiol Biochem. 2017;44(2):532-53. doi:10.1159/000485089
30. Milton N. Homocysteine inhibits hydrogen peroxide breakdown by catalase. The open enzyme inhibition journal. 2008;(11):34-41. doi:10.2174/1874940200801010034
31. Long Y, Nie J. Homocysteine in renal injury. Kidney diseases (Basel). 2016;2(2):80-7. doi:10.1159/000444900
32. Pereira B, Vale G, Ceron C. The role of nitric oxide in renovascular hypertension: from the pathophysiology to the treatment. Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol. 2022;395(2):121-31. doi:10.1007/s00210-021-02186-z M
33. Cheng M, Wu T, Huang L, Tain Y. Renoprotective effects of melatonin in young spontaneously hypertensive rats with L-NAME. Pediatr Neonatol. 2014;55(3):189-95. doi:10.1016/j.pedneo.2013.09.005
34. Gilinsky M, Polityko Y, Markel A, Latysheva T, Samson A, Polis B, et al. Norvaline reduces blood pressure and induces diuresis in rats with inherited stress-induced arterial hypertension. Biomed Res Int. 2020;2020:4935386. doi:10.1155/2020/4935386
35. Oliveira F, Assreuy J, Sordi R. The role of nitric oxide in sepsis-associated kidney injury. Biosci Rep. 2022;42(7):BSR20220093. doi:10.1042/BSR20220093
36. Ishimoto Y, Tanaka T, Yoshida Y, Inagi R. Physiological and pathophysiological role of reactive oxygen species and reactive nitrogen species in the kidney. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2018;45(11):1097-105. doi:10.1111/1440-1681.13018
37. Chen C, Yang W, Hsiao Y, Huang S, Huang Y. High homocysteine, low vitamin B-6, and increased oxidative stress are independently associated with the risk of chronic kidney disease. Nutrition. 2016;32(2):236-41. doi:10.1016/j.nut.2015.08.016

Надійшла до редколегії 18.10.2022  
Отримано виправлений варіант 21.11.2022  
Підписано до друку 21.11.2022

Received in the editorial 18.10.2022  
Received version on 21.11.2022  
Signed in the press on 21.11.2022

A. Serbin, PhD Stud.,  
K. Strelkova, Stud.,  
T. Koval, PhD,  
O. Kharchenko, PhD,  
T. Andriychuk, Dr. Sci.  
Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine

## RESEARCH OF INDICATORS OF OXIDATIVE STRESS IN THE KIDNEYS OF IMMATURE RATS WITH HYPERHOMOCYSTEINEMIA

**Purpose:** Hyperhomocysteinemia in children can develop as a result of genetic defects, endocrine abnormalities or under the influence of dietary factors. An elevated level of homocysteine is considered a risk factor for the progression of chronic kidney disease. The aim of the work was to investigate the indicators of oxidative stress in the homogenate of the kidneys of immature rats in control and with hyperhomocysteinemia.

**Methods:** The concentration of reduced and oxidized glutathione, the activity of superoxide dismutase, catalase and nitric oxide synthase were determined. The model of hyperhomocysteinemia was reproduced on one-month-old male rats, which were kept on a standard vivarium diet. The experimental group was intragastrically administered by D,L-thiolactone homocysteine hydrochloride in a 1% starch solution at a dose of 200 mg/kg of body weight 1 per day for 8 weeks. The corresponding volume of 1% starch solution was injected into the control group of animals. The activity of superoxide dismutase, catalase and nitric oxide synthase were determined spectrophotometrically. Concentration of reduced and oxidized glutathione by fluorometric method.

**Results:** It was established that upon hyperhomocysteinemia the concentration of reduced glutathione, the activity of superoxide dismutase, catalase, and nitric oxide synthase was decreased against the background of an increase in the concentration of oxidized glutathione in the homogenate of the kidneys of immature rats.

**Conclusions:** The obtained results indicate that the development of oxidative stress in the kidneys of immature rats had a similar trend to the process in adult animals described in the literature. A decrease in the concentration of reduced glutathione and the activity of antioxidant defense enzymes may indicate the development of pathological processes in the kidneys.

**Keywords:** hyperhomocysteinemia, glutathione, superoxide dismutase, catalase, kidneys.

УДК 577.122.8  
DOI 10.17721/1728.2748.2022.91.10-14

D. Krenytska<sup>1</sup>, PhD Stud.,  
A. Rachkovska<sup>1</sup>, Stud.,  
O. Savchuk<sup>1</sup>, Dr. Hab.,  
V. Karbovskiy<sup>2</sup>, PhD

<sup>1</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,  
<sup>2</sup>LLC BIOPHARMA PLASMA, Bila Tserkva, Ukraine

## CHARACTERISTICS OF IRON-DEPENDENT PARAMETERS OF DONORS UNDER THE PRESENCE OF ANTI-SARS-CoV-2 IgG IN THE BLOOD

*COVID-19 differs from other respiratory diseases in that it can cause an acute inflammatory reaction following widespread systemic complications in organisms. First, the inflammatory process causes an increase in the concentration of C-reactive protein (CRP), which could be a prognostic biomarker in patients with COVID-19. In addition, some clinical data were used to determine changes in the concentrations of ferritin and transferrin. Our study aimed to establish a relationship between the inflammatory process and iron-dependent parameters, as changes in concentration could lead to pathological status in the post-COVID-19 period. People suffered from COVID-19 with different titers of anti-SARS-CoV-2 IgG in the blood participated in our experiment. It was established that the maximal concentration of CRP and ferritin was characterized for the donor group with a titer of anti-SARS-CoV-2 IgG  $95 \pm 5$  Index (S/C) following the development of inflammatory anemia. Moreover, it was discovered that the group with a minimal titer of anti-SARS-CoV-2 IgG was characterized by the maximal concentration of transferrin, leading to the destruction of iron transport. Due to the acute inflammatory process and damage to the transport and storage of iron by transferrin and ferritin, the iron deficit could destroy the functioning of the muscle system. There was a change in the concentration of creatine kinase in the donor group with a titer of anti-SARS-CoV-2 IgG of  $95 \pm 5$  Index (S/C). The study showed that infection with the SARS-CoV-2 virus in the body often leads to the development of acute inflammatory reactions, resulting in iron transport and storage processes, which cause pathological processes in the post-COVID-19 period.*

**Keywords:** anti-SARS-CoV-2, ferritin, transferrin, C-reactive protein.

**Introduction.** Attention of scientists have been concentrating on the COVID-19 pandemic caused by the SARS-CoV-2 virus since 2020. According to clinical and statistical research, an abnormal inflammatory reaction to viral infection is observed in several patients, leading to multiple organ failure [1]. In general, developed on the background of the systemic inflammation influences the functional status of the organism and could be the reason for the pathology of the cardiovascular, nervous, digestive systems and hemostasis in the post-COVID-19 period. Therefore, biological indicators of inflammatory reaction may be important for the evaluation of the COVID-19 stages.

The main inflammatory marker is a C-reactive protein (CRP) that influences on intensity of inflammation. CRP is a specific protein in the acute phase that synthesizes of hepatocytes and increases during infection and inflammation [2]. CRP activates the complement system that stimulates phagocytosis, cleaning organisms from pathogenic microorganisms [3]. The scientific research has reported that the concentration of CRP and the diameter of the maximum affection in the lungs increase with disease progression. The concentration of CRP was positively correlated with the effect of the lungs and disease stage. The concentration of CRP in the early stage of COVID-19 could demonstrate the status of the lungs and the degree of severity of the disease [4]. The concentration of CRP is known to be too high for bacterial and viral infections. However, research has shown that in patients with COVID-19 an increased the concentration of CRP is consistent with the above-mentioned clinical observations. In addition, an increase in the concentration of CRP was still observed in patients until disease progression [5].

Increased of the concentration of ferritin in the blood is possible in acute infectious diseases that could be linked to chronic inflammatory conditions [6]. Ferritin is a marker of the degree of severity and a prognostic factor for disease. According to the results of the clinical data, patients with COVID-19 and a decreased concentration of ferritin have an easy disease status. However, other patients with increased

ferritin levels require intensive treatment and are more vulnerable to lethal consequences [7]. An increase in the concentration of ferritin is linked to the cytokine storm described in patients with COVID-19. Cytokine storms lead to the synthesis of more inflammatory cytokines, including IL-6, TNF- $\alpha$ , and IL-1 $\beta$ , which stimulate the secretion of ferritin by hepatocytes, Kupffer cells and macrophages. As a result, uncontrolled and dysfunctional immune responses caused by macrophage activation, hyperferritinemic syndrome and thrombotic storms lead to multiple organ dysfunction [8]. Moreover, changes in the concentration of ferritin are not only a consequence of unreasonable inflammation, but also play a pathogenic role in the development of inflammatory reactions due to their association with T-cell immunoglobulin and TIM-2 which stimulates the expression of more proinflammatory mediators [9].

Additionally, we hypothesized that transferrin could be a predictor of COVID-19. Viral infections cause a significant increase in the concentration of transferrin receptors in lungs. During the treatment of viral disease, blocking the transferrin receptor could decrease the pathogenesis of SARS-CoV-2, namely penetration into the cell. The precise mechanism of penetration SARS-CoV-2 into cells used for the transferrin receptor is unknown [10].

Therefore, our research aimed to study the changes in the concentration of the main biomarkers of the inflammatory process during the post-COVID-19 period – CRP and iron-containing parameters – ferritin and transferrin – to assess the interdependence of their functioning and impact on the general state of the body in the post-COVID-19 period.

**The target of our work** was to investigate potential changes in the concentration of iron-containing parameters such as ferritin, transferrin, and the biomarker of acute inflammatory reaction – CRP in experimental donor groups.

**Materials and methods.** People suffered with COVID-19 and agreed to be donors of blood plasma participated in our experiment. Blood plasma was collected from donors to 3–4 months after COVID-19. We sent the blood plasma of

donors with determined titers of anti-SARS-CoV-2 IgG for further scientific research.

Anti-SARS-CoV-2 IgG titers in the blood plasma were determined by chemiluminescent microparticle immunoassay technology using the Abbott SARS-CoV-2 IgG assay (Abbott Diagnostics, Abbott Park, Illinois, United States). All donors were selected in groups based on the anti-SARS-CoV-2 IgG titer. As result, we have had such donor groups with titers of anti-SARS-CoV-2 IgG:  $5 \pm 3$  (n = 20);  $55 \pm 5$  (n = 20);  $65 \pm 5$  (n = 20);  $75 \pm 5$  (n = 20);  $85 \pm 5$  (n = 20);  $95 \pm 5$  (n = 20);  $125 \pm 5$  (n = 20);  $175 \pm 5$  (n = 20) Index (S/C). Thus, donors without anti-SARS-CoV-2 IgG were chosen as the control group.

All donors voluntarily agreed to participate in the clinical experiment and provided written, informed consent.

The concentration of ferritin was determined with a sandwich-type immunochemiluminescent assay using a ferritin test kit for CLIA Maglumi (Snibe Co., Ltd., China). All manipulations were performed in accordance with the manufacturer's instructions. The measured results are shown as relative luminescence units (RLU), which are proportional to the ferritin concentration in the samples [11].

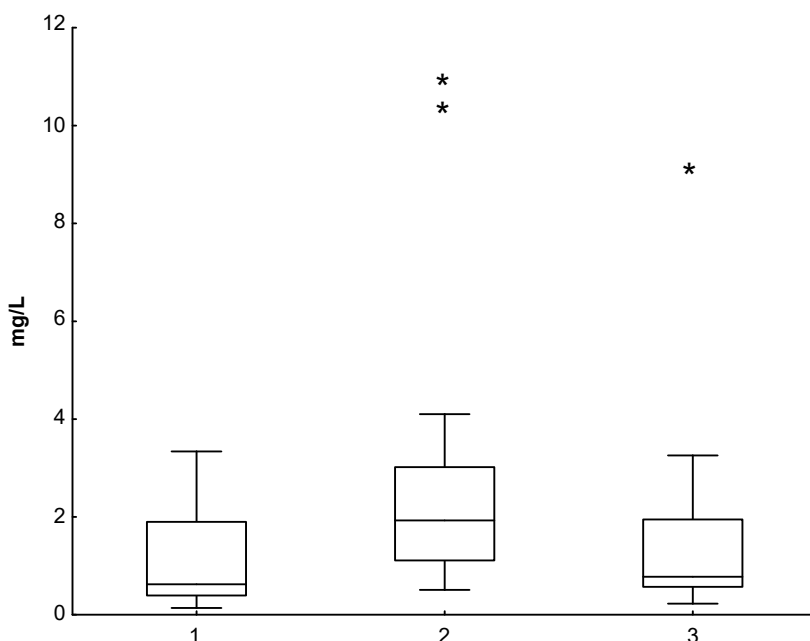
The concentration of C-reactive protein was measured with a sandwich-type immunochemiluminescent assay using a CRP Test Kit for CLIA Maglumi (Snibe Co., Ltd., China). All manipulations were carried out according to the manufacturer's instructions. The measured results are shown as relative light units (RLU) and are proportional to the concentration of C-reactive protein in the samples [12].

The concentrations of transferrin and creatine kinase were measured using standard test kits for the biochemical analyzer Humalyser 3000 [13].

Statistical processing of the obtained results was performed with various statistical methods using the computer program Statistic Statistics 10. The arithmetic mean (M) and mean squared error (MSE) indicators were calculated. The hypothesis of normal distribution was checked using the Shapiro-Wilk and Kolmogorov-Smirnov tests. All donor groups showed a non-normal distribution. Therefore, the differences between the samples were determined using Kruskal-Wallis-Test. A statistically significant test result ( $p < 0,05$ ) was considered reliable.

**Results and discussed.** We studied the potential changes in the concentration of iron-containing parameters and their relationship with inflammatory parameters in the post-COVID-19 period in the experimental and control donor groups. This paper was demonstrated the donor groups with maximal and minimal concentrations of the research parameters.

The concentration of CRP was analyzed in the plasma of all donors. Based on the obtained results, we determined that the maximal concentration of CRP was characterized for donors with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG  $95 \pm 5$  Index (S/C) compared to the control group. Then, the minimal concentration of CRP was established in donors with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG  $75 \pm 5$  Index (S/C) among the experimental donor groups (Fig. 1).



**Figure 1. The concentration of C-reactive protein in donor groups with such titers of anti-SARS-CoV-2 IgG: 1 – 0 Index (S/C); 2 –  $95 \pm 5$  Index (S/C); 3 –  $75 \pm 5$  Index (S/C),  $p < 0,05$**

We evaluated the changes in iron-dependent parameters, such as transferrin and ferritin, in the plasma of all donor groups. It was established that the maximal concentration of ferritin had donors with titer of

anti-SARS-CoV-2 IgG  $95 \pm 5$  Index (S/C) then minimal –  $175 \pm 5$  Index (S/C) compared to control group and among all experimental groups (Fig. 2).

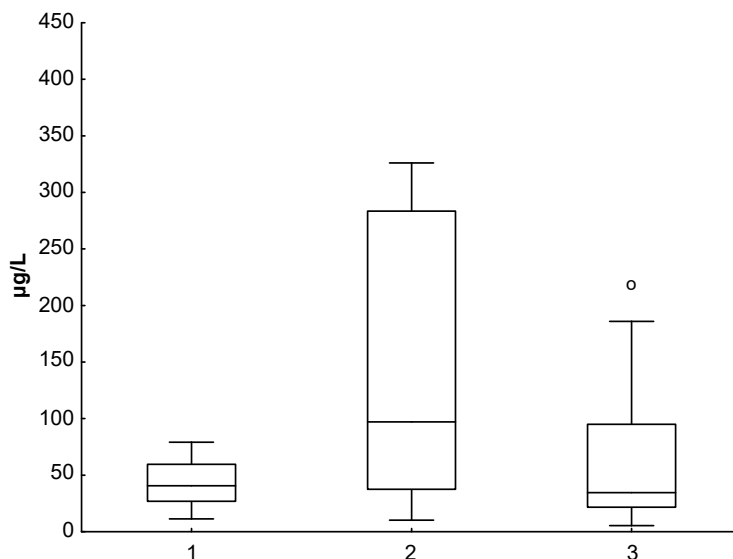


Figure 2. The concentration of ferritin in donor groups with such titers of anti-SARS-CoV-2 IgG: 1 – 0 Index (S/C); 2 – 95 ± 5 Index (S/C); 3 – 175 ± 5 Index (S/C), p < 0,05

Moreover, in this experiment, we investigated the potential changes in the concentration of the main transporter of iron – transferrin in the plasma of all groups. It was determined that the maximal concentration of transferrin was found in the

donor group with titer of anti-SARS-CoV-2 IgG 5 ± 3 Index (S/C) while the minimal – 125 ± 5 Index (S/C) compared to the control donor group (Fig. 3).

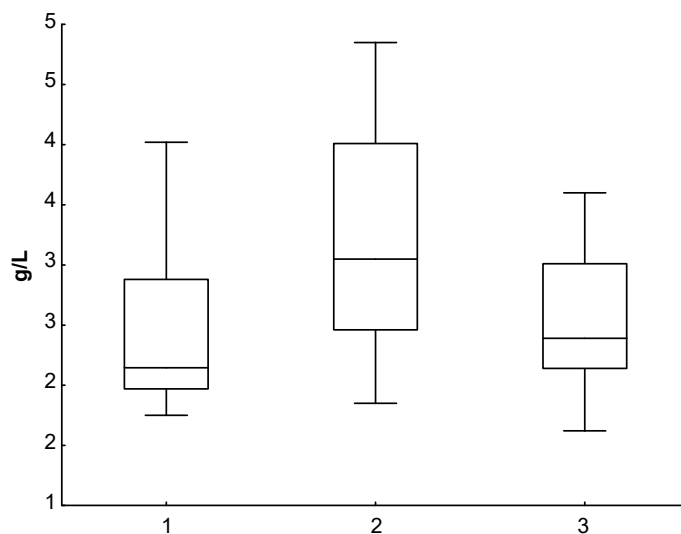


Figure 3. The concentration of transferrin in donor groups with such titers of anti-SARS-CoV-2 IgG: 1 – 0 Index (S/C); 2 – 5 ± 3 Index (S/C); 3 – 125 ± 5 Index (S/C), p < 0,05

The literature data is known that an increase of content of the intracellular iron in the body leads to an increase of concentration of ferritin because of the iron keeps to ferritin form and is removed from the cell at future [14]. The infection process leads to the utilization of ferritin in tissues or the liquidation of iron-containing heme and hemoglobin from the bloodstream to save ferritin in macrophages. The increased iron absorption and isolation by macrophages provides the realization of such functions: to prevent the penetration of iron into pathogenic organisms and to protect the patient against the toxic influence of increased concentrations of iron, heme, and hemoglobin, which could exude during the destruction of tissues during infection and inflammation [15]. In addition, an increase in the concentration of ferritin is

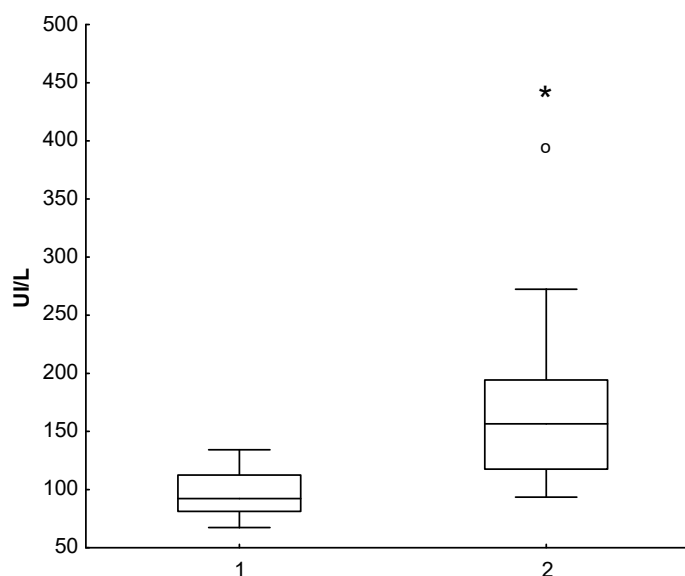
connected not only to the inflammatory process, but could also be an indirect indicator of cell damage. Ferroptosis caused by the excessive accumulation of ferritin has been described in acute respiratory distress syndrome, which occurs in the clinical practice of COVID-19 [16].

In the experiment, the maximal concentration of CRP and ferritin was characterized for the donor group with titers of anti-SARS-CoV-2 IgG 95 ± 5 Index (S/C) among all experimental groups. CRP is one of the key biomarkers of inflammatory processes in organisms that primarily activate immune cells, such as macrophages [17]. Following to described above, the macrophages are considered to the main source of synthesis of ferritin. Ferritin accumulates during the acute inflammatory

reaction and captures and stores more iron. These processes lead to the development of inflammatory anemia as a protective mechanism [18], including a decrease in the concentration of circulating iron to prevent the penetration and spread of SARS-CoV-2 in the body.

Another study reported that iron deficiency could be the reason for the bioenergetic shortage in muscles following the development of muscle atrophy [19]. In patients with COVID-19, an increase in the concentration of total creatine kinase and creatine kinase-MB results in the destruction of muscle tissues [20]. According to the experimental results,

an increase in the concentration of ferritin in some donor groups during the inflammatory reaction could be due to the destruction of the physiological and functional state of muscle tissues. **Fig. 4** shows that an increase in total creatine kinase is characterized for the donor group with a titer of anti-SARS-CoV-2 IgG  $95 \pm 5$  Index (S/C) compared to the control donor group. This means that the risk of development of muscle atrophy increases in this group, which could be connected with an increase in ferritin concentration causing an iron deficit in the bloodstream because iron is necessary for the function of muscle tissues.



**Figure 4. The concentration of creatinekinase in donor groups with such titers of anti-SARS-CoV-2 IgG: 1 – 0 Index (S/C); 2 –  $95 \pm 5$  Index (S/C),  $p < 0,05$**

Currently, the literature does not report a decrease in ferritin concentration during COVID-19. Our research showed that the donor group with an titer of anti-SARS-CoV-2 IgG  $175 \pm 5$  Index (S/C) had the lowest ferritin concentration among all experimental groups. Moreover, 36 % of the donors in this group had a lower ferritin concentration than the control donor group. In general, an abnormal decrease in ferritin concentration was observed in donors with a maximal titer of anti-SARS-CoV-2 IgG of  $175 \pm 5$  Index (S/C). This could be linked to the potential influence of IgG on iron metabolism in organisms or the depletion of iron reserves due to the widespread use of SARS-CoV-2 and acute inflammatory reactions.

Transferrin plays an equally important role in iron transport during erythropoiesis. It has been reported that SARS-CoV-2 can directly influence transferrin in the processes of iron transport, leading to non-affective erythropoiesis and iron deficiency anemia [21, 22]. An increase in the transferrin concentration and changes in the transferrin/antithrombin III (ATIII) ratio could damage the regulation of coagulation, causing the development of coagulopathy linked to COVID-19 [23, 24]. Our research established that the donor group with a titer of anti-SARS-CoV-2 IgG  $125 \pm 5$  index (S/C) had a decrease in the concentration of transferrin. It is assumed that the penetration and accumulation of SARS-CoV-2 in organisms causes a hyperinflammatory reaction that leads to a decrease in the concentration of transferrin which is the main iron carrier. We emphasize that the maximal concentration of transferrin was characterized in the donor group with a minimal titer of

anti-SARS-CoV-2 IgG  $5 \pm 3$  index (S/C). As a result, such processes could influence the development of coagulation by blocking of the inactivating effect of ATIII on coagulation proteases by binding to ATIII.

Infection with SARS-CoV-2 induces immunoinflammatory reactions in an organism, leading to an increase in the concentrations of ferritin and transferrin. To protect against the negative influence of the pathogen, iron chelated by ferritin in its reserve form is a risk factor for the development of iron deficiency diseases. Notably, the deficit of functional active iron causes the destruction of the working status of muscle tissues according to our research – a decrease in the concentration of creatinekinase in the experimental group compared to that in the control group. In addition, an abnormal concentration of transferrin is not only an imbalance in iron metabolism but also a negative factor influencing hemostasis.

**Conclusions.** The experiment was obtained the changes of concentration of the inflammatory biomarker C-reactive protein, and iron-dependent parameters such as ferritin and transferrin in the blood plasma. We suggest that the acute inflammatory reaction influences the functional status of ferritin and transferrin, leading to the development of systemic complications in the post-COVID-19 period. The research results could be beneficial for the improvement and search for new therapeutic methods for COVID-19, and emphasize the need for careful laboratory diagnosis of patients to avoid possible complications.

## Reference

1. He R, Lu Z, Zhang L, Fan T, Xiong R, Shen X, Feng H, Meng H, Lin W, Jiang W, Geng Q. The clinical course and its correlated immune status in COVID-19 pneumonia. *J Clin Virol.* 2020; 127:104361. doi: 10.1016/j.jcv.2020.104361.
2. Pepys MB, Hirschfield GM. C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest.* 2003; 111:1805–12.
3. Gershov D. C-reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from an assembly of the terminal complement components, and sustains an antiinflammatory innate immune response. *J Exp Med.* 2000; 192(9):1353–1364.
4. Szalai AJ, Agrawal A, Greenhough TJ, Volanakis JE. C-reactive protein: structural biology, gene expression, and host defense function. *Immunol Res.* 1997; 16(2):127–36. doi: 10.1007/BF02786357.
5. Wang G, Wu C, Zhang Q, Wu F, Yu B, Lv J, Li Y, Li T, Zhang S, Wu C, Wu G, Zhong Y. C-Reactive Protein Level May Predict the Risk of COVID-19 Aggravation. *Open Forum Infect Dis.* 2020; 7(5):153. doi: 10.1093/ofid/ofaa153.
6. Recalcati S, Invernizzi P, Arosio P, Cairo G. New functions for an iron storage protein: the role of ferritin in immunity and autoimmunity. *J Autoimmun.* 2008; 30(1-2):84–9. doi: 10.1016/j.jaut.2007.11.003.
7. Huang C, Wang Y, Li X, Ren L, Zhao J, Hu Y, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020; 395:497–506.
8. Cheng L, Li H, Li L, Liu C, Yan S, Chen H, Li Y. Ferritin in the coronavirus disease 2019 (COVID-19): A systematic review and meta-analysis. *J Clin Lab Anal.* 2020; 34(10). doi: 10.1002/jcla.23618.
9. Kernan KF, Rostami Z, Vahidi H. A comparative review of immunological assays for COVID-19 detection. *Expert Rev Clin Immunol.* 2021; 17(6):573–599. doi: 10.1080/17446666.2021.1908886.
10. Yilmaz N, Eren E, Oz C, Kalayci Z, Saribek F. COVID-19 and iron metabolism: traditional review. *TurkiyeKlinikleri tip Bilimleri Dergisi* ; 2021; 41(2):176–188.
11. Dipalo, Mariella, Gnocchi, Cecilia, Aloe, Rosalia and Lippi, Giuseppe. "Comparison of the novel Maglumi ferritin immunoluminometric assay with Beckman Coulter Dxl 800 ferritin" *Laboratoriums Medizin.* 2016; 40(3): 221–223. doi: 10.1515/labmed-2016-0003.
12. Mohit E, Rostami Z, Vahidi H. A comparative review of immunoassays for COVID-19 detection. *Expert Rev Clin Immunol.* 2021; 17(6):573–599. doi: 10.1080/17446666.2021.1908886.
13. A collection of methodological recommendations for the use of test kits of the manufacturer "Human". – Resource access mode: [http://www.human.de/en/productNew/Clinical\\_Chemistry/Reagents\\_and\\_Consumables/Multipurpose\\_Reagents.php](http://www.human.de/en/productNew/Clinical_Chemistry/Reagents_and_Consumables/Multipurpose_Reagents.php).
14. Banchini F, Cattaneo GM, Capelli P. Serum ferritin levels in inflammation: a retrospective comparative analysis between COVID-19 and emergency surgical non-COVID-19 patients. *World J Emerg Surg.* 2021; 16(1):9. doi: 10.1186/s13017-021-00354-3.
15. Ganz T, Nemeth E. Iron homeostasis in host defence and inflammation. *Nature Reviews Immunology.* 2021; 15(8), 500–510. doi:10.1038/nri3863.
16. Vargas-Vargas M, Cortés-Rojo C. Ferritin levels and COVID-19. *Rev Panam Salud Publica.* 2020; 44. doi: 10.26633/RPSP.2020.72.
17. Luan YY, Yin CH, Yao YM. Update Advances on C-Reactive Protein in COVID-19 and Other Viral Infections. *Front Immunol.* 2021; 12. doi: 10.3389/fimmu.2021.720363.
18. Urrechaga E, Zalba S, Otamendi I, Zabalegui MA, Galbete A, et al. Hemoglobin and anemia in COVID19 patients. *Hematol Med Oncol.* 2020; 5. DOI: 10.15761/HMO.1000217.
19. Melenovsky V, Hlavata K, Sedivy P, Dezortova M, Borlaug BA, Petrak J, Kautzner J, Hajek M. Skeletal Muscle Abnormalities and Iron Deficiency in Chronic Heart Failure: An Exercise 31P Magnetic Resonance Spectroscopy Study of Calf Muscle. *Circ Heart Fail.* 2018; 11(9). doi: 10.1161/CIRCHEARTFAILURE.117.004800.
20. Akbar MR, Pranata R, Wibowo A, Lim MA, Sihite TA, Martha JW. The prognostic value of elevated creatine kinase to predict poor outcome in patients with COVID-19 – A systematic review and meta-analysis. *Diabetes Metab Syndr.* 2021; 15(2):529–534. doi: 10.1016/j.dsx.2021.02.012.
21. Coates TD. Physiology and pathophysiology of iron in hemoglobin-associated diseases. *Free Radic Biol Med.* 2014; 72:23–40. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.03.039.
22. Telek E, Ujfalusi Z, Kemenesi G, Zana B, Jakab F, Hild G, Lukács A, Hild G. A Possible Way to Relate the Effects of SARS-CoV-2-Induced Changes in Transferrin to Severe COVID-19-Associated Diseases. *Int J Mol Sci.* 2022; 23(11):6189. doi: 10.3390/ijms23116189.
23. McLaughlin KM, Bechtel M, Bojkova D, Münch C, Ciesek S, Wass MN, Michaelis M, Cinatl J Jr. COVID-19-Related Coagulopathy-Is Transferrin a Missing Link? *Diagnostics (Basel).* 2020; 10(8):539. doi: 10.3390/diagnostics10080539.
24. Tang X, Zhang Z, Fang M, Han Y, Wang G, Wang S, Xue M, Li Y, Zhang L, Wu J, Yang B, Mwangi J, Lu Q, Du X, Lai R. Transferrin plays a central role in coagulation balance by interacting with clotting factors. *Cell Res.* 2020; 30(2):119–132. doi: 10.1038/s41422-019-0260-6.

Надійшла до редколегії 20.10.2022  
Отримано виправлений варіант 22.11.2022  
Підписано до друку 22.11.2022

Received in the editorial 20.10.2022  
Received version on 22.11.2022  
Signed in the press on 22.11.2022

Д. Креницька<sup>1</sup>, асп.,  
А. Рачковська<sup>1</sup>, студ.,  
О. Савчук<sup>1</sup>, д-р біол. наук,  
В. Карбовський<sup>2</sup>, канд. біол. наук

<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,

<sup>2</sup>ТОВ "Біофарма Плазма", Біла Церква, Україна

### ХАРАКТЕРИСТИКА ЗАЛІЗОЗАЛЕЖНИХ ПАРАМЕТРІВ ДОНОРІВ ЗА НАЯВНОСТІ АНТИ-SARS-CoV-2 IgG У КРОВОТОЦІ

COVID-19 відрізняється від інших респіраторних захворювань тим, що викликає гостру запальну реакцію, унаслідок якої може поширюватися системне ураження в організмі. Запальний процес супроводжується передусім зростанням концентрації С-реактивного білка (СРБ), що може бути одним із прогностичних біомаркерів перебігу COVID-19 у пацієнтів. Крім цього, на тлі таких подій у деяких клінічних спостереженнях зафіксовано зміни концентрацій феритину і трансферину. У нашому дослідженні увага зосереджена на встановленні взаємозв'язку між запальними процесами та залізо залежними параметрами, зміни концентрацій яких можуть призвести до патологічних станів у пост-COVID-19 періоді. В експерименті брали участь люди, які перехворіли на COVID-19 та у кровотоці яких наявні різні титри анти-SARS-CoV-2 IgG. Установлено, що для групи донорів із титром анти-SARS-CoV-2 IgG  $95 \pm 5$  Index (S/C) характерні максимальні концентрації С-реактивного білка та феритину, унаслідок чого може розвиватися запальна анемія. Також виявлено, що у групи з мінімальним титром анти-SARS-CoV-2 IgG спостерігається максимальна концентрація трансферину, що може свідчити про порушення процесів транспорту заліза. Крім цього, нестача заліза внаслідок гострого запального процесу, який супроводжується пошкодженням транспорту та запасання заліза трансферином і феритином, відповідно, може порушувати роботу м'язової системи, що підтверджується зміною концентрації креатинінази у групі донорів із титром анти-SARS-CoV-2 IgG  $95 \pm 5$  Index (S/C). Проведене дослідження свідчить, що зараження вірусом SARS-CoV-2 організму часто призводить до розвитку гострих запальних реакцій, унаслідок яких можуть страждати процеси транспорту й запасання заліза, які викликають патологічні процеси у пост-COVID-19 періоді.

Ключові слова: анти-SARS-CoV-2 IgG, феритин, трансферин, С-реактивний білок.

УДК 579.61/579.841.11+578.811/578.32  
DOI 10.17721/1728.2748.2022.91.15-18

N. Korniienko<sup>1</sup>, PhD Stud.,  
P. Burba<sup>1</sup>, PhD Stud.,  
V. Poniatovskiy<sup>2</sup>, PhD,  
O. Bondarenko<sup>1</sup>, Stud.,  
O. Zaychenko<sup>1</sup>, Stud.,  
O. Liutko<sup>3</sup>, PhD,  
A. Kharina<sup>1</sup>, PhD

<sup>1</sup>ESC "Institute of Biology and Medicine", Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,  
<sup>2</sup>Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine,  
<sup>3</sup>SI "The Institute of Traumatology and Orthopedics" by NAMS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

## NEW BACTERIOPHAGE OF MULTIDRUG RESISTANT STRAIN OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

**Aim:** Antimicrobial resistance in bacteria is one of the most discussed and important theme in healthcare field now. Bacteriophages are known as the most promising alternative to antibiotics and a method of fighting the multi-resistant pathogens. In this study, our main aim was to isolate lytic specific phages of multidrug resistant *Pseudomonas aeruginosa*, one of the most dangerous bacterial human pathogens. **Methods:** Disk-diffusion method, spot-test, agar overlay method, electron microscopy. **Results:** Antimicrobial resistance range of *P. aeruginosa* 458 strain was tested and it appeared to be resistant to all available antibiotics. Phages were isolated from waste waters in Kyiv. They appeared to have a typical morphology of Myoviridae family. Isolated viruses successfully lysed all the bacteria in vitro. **Conclusions:** Considering high effectiveness of isolated phage in vitro, we propose it as a candidate for phage therapy, though further studies on physical and genetic characteristics are required.

**Keywords:** bacteriophages, *Pseudomonas aeruginosa*, antimicrobial resistance, phage therapy.

**Introduction.** *Pseudomonas aeruginosa* is a heterotrophic, motile, Gram-negative rod-shaped bacterium. It is a facultative anaerobe that preferably uses aerobic respiration [1], but it is also able to grow under anaerobic conditions in the presence of nitrates [2]. *P. aeruginosa* optimal temperature is 37 °C, though bacteria can persist in temperatures from 4 to 42°C which allows it to attach and survive on medical equipment, hospital surfaces [3]. It often occurs as opportunistic infection in patients with compromised immune systems including those with cystic fibrosis, cancer, AIDS, burn and eye injuries [4]. It was also reported multiple times that *P. aeruginosa* is often responsible for urinary tract infections, especially those associated with catheter injections [5], [6]. *P. aeruginosa* is really difficult to cure and eradicate because of its ability to acquire resistance to different antibiotics [7]. This bacterium uses different pathways to resist the antimicrobials; for instance, it produces broad-spectrum  $\beta$ -lactamases and metallo- $\beta$ -lactamases. *P. aeruginosa* carbapenem-resistance associated with the production of metalloenzymes [8], [9]. Resistance to other various antibiotics and antimicrobial substances is associated with biofilm formation [10]. It is known that type IV pili and exopolysaccharide are involved in this process [11]. That is why the search of alternative antimicrobials is of a high importance as it can improve the treatment of *P. aeruginosa*-induced infections and decrease the mortality level.

Bacteriophages are widely present in the environment and are easy to isolate and propagate. They are highly specific to their hosts (bacteria) and do not lyse other bacterial species in particular human microbiome which makes them more reliable than antibiotics. Number of phages of this bacterium were already isolated, characterized and tested under various conditions. Some of them showed to be able to lyse the bacterial biofilm [12], [13]. There were also successful animal tests showing the safety of phage therapy against *P. aeruginosa* pneumonia [14]. However, even though phages were able to lyse the biofilm, complete eradication may require a combination of different phages [15]. Taking these facts into account, it is highly important to search for new virulent phages, characterize them and use in medical treatment of such difficult infections as

provoked by *P. aeruginosa*. That is why our main aim in this work was to find new lytic phages, specific to this pathogen.

### Materials and methods

**Bacteria cultivation.** *P. aeruginosa* isolate 458 was taken from the collection of NeoProBioCare Ltd, previously isolated from the urine of the patient with urinary tract infection and was cultured at 37°C in tryptic soy medium (casein peptone 17 g, soymeal peptone 3 g, D(+) glucose monohydrate 2.5 g, Sodium chloride 5 g, di-Potassium hydrogen phosphate 2.5 g per litre, Millipore, Merck Germany) supplemented with 1.4 % agar on Petri plates or in glass tubes. While working with phages we used an overnight culture of bacteria, in which bacteria was in exponential phase of growth. The concentration of bacteria cell culture was 10<sup>8</sup>-10<sup>9</sup> CFU/mL.

**Disk-diffusion method.** To investigate the range of antimicrobial resistance of *P. aeruginosa* the modified disk-diffusion method was used according to the existing protocols [16]. Briefly, the Mueller-Hinton agar plates were prepared. Overnight culture of bacteria was washed with 0.9 % NaCl and then plates were inoculated with it by sterile swab. Antibiotics discs were put on agar using sterile forceps. Plates were incubated as described previously.

**Bacteriophage isolation.** Phages in this study were isolated from waste waters taken from Bortnychi Sewage treatment plant in Kyiv. To isolate phage a modified protocol of an enrichment procedure involving a double-layer agar method was used [17]. Briefly, a molten 1.4 % agar was poured into Petri plates and incubated at room temperature for 5 min. Then 500 mL of filtered water sample (centrifuged at 4000 rpm for 15 min and filtered through 0.22- $\mu$ m pores) were mixed with 100 mL of *P. aeruginosa* cells and added to 2 mL of molten 0.7 % medium and poured into plates with 1.4 % agar medium. Plates were incubated overnight in 37°C. Single plaques were picked with a pipette tip and transferred into NaCl solution (0.9 %), followed by centrifugation and mixing to release phages and then was stored at 5 °C.

**Bacteriophage host range.** The phage host range was assessed by spotting 10  $\mu$ l of phage suspension on plates

with bacterial lawn, prepared similar to spot-test assay protocol. After 24 h incubation at 37°C, phage efficiency was evaluated by the presence or absence of the lysis zones on the bacterial lawn. For this assay, we took a list of strains of *P. aeruginosa* from the collection of NeoProBioCare Ltd. and also DSM strains of Gram-negative bacteria *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Shigella flexneri*, *S. sonnei*.

**Spot-test assay.** Serial dilutions of phage samples were added on bacterial lawn (10 µL of each dilution) and kept at room temperature for 20 minutes to let phages diffuse into upper layer of medium. Then plates were incubated overnight at 37°C. Titer of the phages was approximately calculated by the last dilution where phage plaques were detected.

**Agar overlay method.** To calculate the exact titer of phages the agar overlay method was used. Phages were serially diluted in NaCl 0.9 % in 2 mL microfuge tubes. Then 0.1 ml of overnight bacterial culture (10<sup>8</sup> CFU/mL)

together with 500 µL of phages solution (one dilution per plate) was added to 2.5 mL of 0.7 % agar. Plates were incubated overnight at 37°C. After incubation single plaques were counted.

**Electron microscopy.** Virions morphology was investigated using the electron microscope JEM 1230 (M.G. Kholodny Institute of Botany of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, Ukraine). Formvar films placed on 400-mesh copper grids were dipped into sample for 2 min and contrasted in 2 % uranyl acetate. The preparations were dried and viewed under the electron microscope at an instrumental magnification of 20,000.

**Results and discussion**

**Antimicrobial resistance test**

Disc-diffusion tests were done prior to bacteriophage search in order to investigate the range of antimicrobial resistance of *P. aeruginosa*. Resulted inhibition zones were measured in mm and are listed in Table 1.

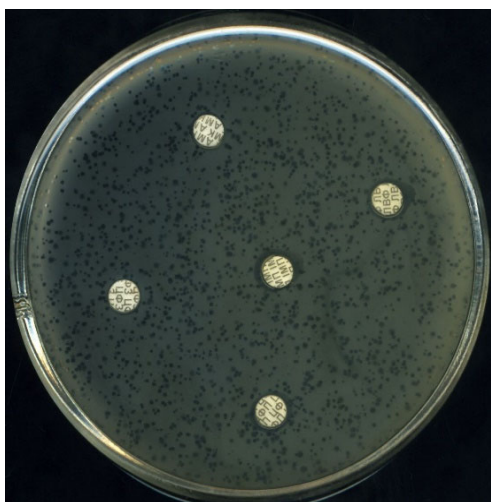
**Table 1. Antibiotic susceptibility of *P. aeruginosa* 458. Results interpretation was performed according to Clinicaland Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 31st ed. CLSI supplement M100 (ISBN 978-1-68440-104-8 [Print]; ISBN 978-1-68440-105-5 [Electronic]). Clinicaland Laboratory Standards Institute, USA, 2021**

№	Antibiotic	Antibiotic group	Reference values			Results
			S	I	R	Ps 458
1.	Piperacillin	ureidopenicillin	≥ 21	15–20 <sup>^</sup>	≤ 14	12 R
2.	Cefepime	cephalosporin	≥ 18	15–17 <sup>^</sup>	≤ 14	0 R
3.	Ceftazidime	cephalosporin	≥ 18	15–17 <sup>^</sup>	≤ 14	0 R
4.	Imipenem	carbapenems	≥ 19	16–18 <sup>^</sup>	≤ 15	0 R
5.	Meropenem	carbapenems	≥ 19	16–18 <sup>^</sup>	≤ 15	0 R
6.	Ciprofloxacin	fluoroquinolone	≥ 25	19–24 <sup>^</sup>	≤ 18	0 R
7.	Ofloxacin	fluoroquinolone	≥ 16	13–15 <sup>^</sup>	≤ 12	0 R
8.	Norfloxacin	fluoroquinolone	≥ 17	13–16	≤ 12	0 R
9.	Gatifloxacin	fluoroquinolone	≥ 18	15–17 <sup>^</sup>	≤ 14	0 R
10.	Levofloxacin	fluoroquinolone	≥ 22	15–21 <sup>^</sup>	≤ 14	0 R
11.	Amikacin	aminoglycoside	≥ 17	15–16 <sup>^</sup>	≤ 14	0 R
12.	Gentamicin	aminoglycoside	≥ 15	13–14 <sup>^</sup>	≤ 12	0 R

This isolate appeared to be resistant to all available antibiotics, even though it had a small inhibition zone around Piperacillin disc. Such multiresistant strains could be very dangerous if appear in hospital conditions. Considering this, bacteriophage cocktail of specific lytic phages is the only available option now to cure the infection that can be provoked by this resistant *P. aeruginosa*.

**Bacteriophage tests**

After waste waters purification and inoculation on *P. aeruginosa* using agar overlay method, single plaques of phages were picked and propagated. There were transparent plaques, less than 2 mm in diameter, without halo or any turbidity (fig.1).



**Figure 1. Phage plaques on *P. aeruginosa* lawn with antibiotics discs**



Phage concentration reached 10<sup>10</sup> PFU/mL. Following this, we performed an electron microscopy of isolated phages in order to check its morphological features.

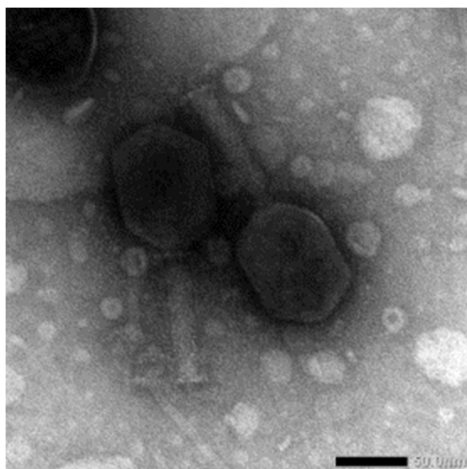


Figure 2. Electronic microscopy of *P. aeruginosa* 458 phage

Phage appeared to have a typical morphology of *Myoviridae* family, with elongated icosahedral capsid and contractile tail (55x72x88 nm) (fig.2). Many myophages of *P. aeruginosa* were reported to this time. Phages of PB1-like virus genus have been used as therapeutic phages already [18]; phage 14-1, which is also the member of *Myoviridae*, was used in experiments to optimize spray-dried phage powders [19], so that type of morphology seems to be usual generally among *P. aeruginosa* phages.

**Bacteriophage host range**

To estimate the potential of isolated phage in therapy, we tested its host specificity on different strains of *P. aeruginosa*, isolated from patients in SI "The Institute of Traumatology and Orthopedics" by NAMS of Ukraine, and also on strains from DSM collection of NeoProBioCare Ltd. The results are listed in table 2.

Table 2. Host range of isolated bacteriophage. Positive result or lysis was indicated as "+", negative or absence of lysis – as "-".

Bacteria	Result
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> DSM	+
<i>P. aeruginosa</i> 458	+
<i>P. aeruginosa</i> 677	+
<i>P. aeruginosa</i> 688	+
<i>P. aeruginosa</i> 519	-
<i>P. aeruginosa</i> 500	+
<i>P. aeruginosa</i> 738	-
<i>P. aeruginosa</i> 770	-
<i>P. aeruginosa</i> 858	+
<i>E. coli</i> DSM 1103	-
<i>K. pneumoniae</i> DSM 30104	-
<i>S. flexneri</i> DSM 4782	-
<i>S. sonnei</i> DSM 5570	-

Phage appeared to be specific not only to mentioned bacterial isolate 458, but also to some other *P. aeruginosa* strains. All used bacterial strains were susceptible only to colistin, while resistant to other antibiotics. Specificity of our phage to multiresistant microbial strains is crucial as we propose it as potential therapeutic agent.

**Conclusion**

In this work, we isolated phage, specific to multiresistant strain of *Pseudomonas aeruginosa*. Mentioned bacterial strain appeared to be resistant to piperacillin, cefepime, ceftazidime, imipenem, meropenem, ciprofloxacin, ofloxacin, norfloxacin, gatifloxacin, levofloxacin, amikacin, gentamicin. Isolated phage successfully lysed bacteria *in vitro*. Morphology of the virion was typical for *Myoviridae* members. Phage was able to lyse not only the investigated bacteria but also some other multiresistant strains. This

phage can be used for therapeutical purposes if the further characteristics will be provided.

**Reference**

1. R. Pallett, L. J. Leslie, P. A. Lambert, I. Milic, A. Devitt, and L. J. Marshall, 'Anaerobiosis influences virulence properties of *Pseudomonas aeruginosa* cystic fibrosis isolates and the interaction with *Staphylococcus aureus*', *Sci Rep*, Vol. 9, no. 1, Art. no. 1, May 2019, doi: 10.1038/s41598-019-42952-x.
2. S. P. Diggle and M. Whiteley, 'Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat', *Microbiology (Reading)*, Vol. 166, no. 1, pp. 30–33, Jan. 2020, doi: 10.1099/mic.0.000860.
3. S. A. Ochoa *et al.*, 'Pathogenic characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* strains resistant to carbapenems associated with biofilm formation', *Bol Med Hosp Infant Mex*, Vol. 70, p. 12, 2013.
4. W. Wu, Y. Jin, F. Bai, and S. Jin, 'Chapter 41 – *Pseudomonas aeruginosa*', in *Molecular Medical Microbiology (Second Edition)*, Y.-W. Tang, M. Sussman, D. Liu, I. Poxton, and J. Schwartzman, Eds. Boston: Academic Press, 2015, pp. 753–767. doi: 10.1016/B978-0-12-397169-2.00041-X.
5. R. Mittal, S. Aggarwal, S. Sharma, S. Chhibber, and K. Harjai, 'Urinary tract infections caused by *Pseudomonas aeruginosa*: A minireview',

*Journal of Infection and Public Health*, Vol. 2, no. 3, pp. 101–111, Jan. 2009, doi: 10.1016/j.jiph.2009.08.003.

6. M. Narten, N. Rosin, M. Schobert, and P. Tielen, 'Susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* urinary tract isolates and influence of urinary tract conditions on antibiotic tolerance', *Curr Microbiol*, Vol. 64, no. 1, pp. 7–16, Jan. 2012, doi: 10.1007/s00284-011-0026-y.

7. E. B. M. Breidenstein, C. de la Fuente-Núñez, and R. E. W. Hancock, 'Pseudomonas aeruginosa: all roads lead to resistance', *Trends Microbiol*, Vol. 19, no. 8, pp. 419–426, Aug. 2011, doi: 10.1016/j.tim.2011.04.005.

8. U. Garza-Ramos, J. Silva-Sánchez, and E. Martínez-Romero, '[Genetics and genomics for the study of bacterial resistance]', *Salud Publica Mex*, Vol. 51 Suppl 3, pp. S439-446, 2009, doi: 10.1590/s0036-36342009000900009.

9. K. K. Kumarasamy *et al.*, 'Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study', *Lancet Infect Dis*, Vol. 10, no. 9, pp. 597–602, Sep. 2010, doi: 10.1016/S1473-3099(10)70143-2.

10. N. Høiby *et al.*, 'The clinical impact of bacterial biofilms', *Int J Oral Sci*, Vol. 3, no. 2, pp. 55–65, Apr. 2011, doi: 10.4248/IJOS11026.

11. R. C. B. M. and W. Dj, 'Role of polysaccharides in *Pseudomonas aeruginosa* biofilm development', *Current opinion in microbiology*, Vol. 10, no. 6, Dec. 2007, doi: 10.1016/j.mib.2007.09.010.

12. S. A. Fong *et al.*, 'Activity of Bacteriophages in Removing Biofilms of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Chronic Rhinosinusitis Patients', *Front Cell Infect Microbiol*, Vol. 7, p. 418, 2017, doi: 10.3389/fcimb.2017.00418.

13. S. Latz, A. Krüttgen, H. Häfner, E. M. Buhl, K. Ritter, and H.-P. Horz, 'Differential Effect of Newly Isolated Phages Belonging to PB1-Like, phiKZ-Like and LUZ24-Like Viruses against Multi-Drug Resistant *Pseudomonas aeruginosa* under Varying Growth Conditions', *Viruses*, Vol. 9, no. 11, p. E315, Oct. 2017, doi: 10.3390/v9110315.

14. X. Yang, A. Haque, S. Matsuzaki, T. Matsumoto, and S. Nakamura, 'The Efficacy of Phage Therapy in a Murine Model of *Pseudomonas aeruginosa* Pneumonia and Sepsis', *Frontiers in Microbiology*, Vol. 12, 2021, Accessed: Jun. 06, 2022. [Online]. Available: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2021.682255>

15. M. Jamal *et al.*, 'Isolation and characterization of a bacteriophage against multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa*-2995', *Life Sci*, Vol. 190, pp. 21–28, Dec. 2017, doi: 10.1016/j.lfs.2017.09.034.

16. J. Jorgensen and J. Turnidge, 'Susceptibility Test Methods: Dilution and Disk Diffusion Methods\*', 2015. doi: 10.1128/9781555817381.CH71.

17. P. Rr, D. Vi, L. D, R. Mc, and D. Vrp, 'Isolation and in vitro evaluation of bacteriophages against MDR-bacterial isolates from septic wound infections', *PLoS one*, Vol. 12, no. 7, Jul. 2017, doi: 10.1371/journal.pone.0179245.

18. J. Uchiyama *et al.*, 'Analyses of Short-Term Antagonistic Evolution of *Pseudomonas aeruginosa* Strain PAO1 and Phage KPP22 (Myoviridae Family, PB1-Like Virus Genus)', *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 82, no. 15, pp. 4482–4491, Aug. 2016, doi: 10.1128/AEM.00090-16.

19. E. Tabare *et al.*, 'A Design of Experiment Approach to Optimize Spray-Dried Powders Containing *Pseudomonas aeruginosa* Podoviridae and Myoviridae Bacteriophages', *Viruses*, Vol. 13, no. 10, Art. no. 10, Oct. 2021, doi: 10.3390/v13101926.

Надійшла до редколегії 24.10.2022  
Отримано виправлений варіант 24.11.2022  
Підписано до друку 24.11.2022

Received in the editorial 24.10.2022  
Received version on 24.11.2022  
Signed in the press on 24.11.2022

Н. Корнієнко<sup>1</sup>, асп.,  
П. Бурба<sup>1</sup>, асп.,  
В. Понятовський<sup>2</sup>, канд. мед. наук,  
О. Бондаренко<sup>1</sup>, студ.,  
О. Зайченко<sup>1</sup>, студ.,  
О. Лютко<sup>3</sup>, канд. мед. наук,  
А. Харіна<sup>1</sup>, канд. біол. наук

<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,

<sup>2</sup>Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ, Україна,

<sup>3</sup>ДУ "Інститут травматології та ортопедії НАМН України", Київ, Україна

## НОВИЙ БАКТЕРІОФАГ МУЛЬТИРЕЗИСТЕНТНОГО ШТАМУ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Наразі антибіотикорезистентність у бактерій є однією з найбільш обговорюваних і важливих тем у сфері охорони здоров'я. Бактеріофаги відомі як найбільш перспективна альтернатива антибіотикам і метод боротьби з мультирезистентними збудниками. У цьому дослідженні нашою головною метою було виділити літичні специфічні фаги, активні проти мультирезистентної *Pseudomonas aeruginosa* – одного з найнебезпечніших бактеріальних збудників людини. Для цього використовували диско-дифузійний метод, спот-тест, метод подвійних агарових шарів, електронну мікроскопію. У результаті досліджено діапазон антибіотикорезистентності клінічного ізоляту *P. aeruginosa* 458 і виявлено, що зазначена бактерія є стійкою до всіх відомих антибіотиків. Фаги були ізольовані зі стічних вод Києва. Вони мали типову морфологію представників родини Myoviridae. Ізольовані віруси успішно лізували бактерію *in vitro*. Отже, із врахуванням високої ефективності ізольованого фага *in vitro* авторами запропоновано його як кандидата до складу фаготерапевтичного препарату, проте необхідні подальші дослідження фізичних і генетичних характеристик вірусу.

Ключові слова: бактеріофаги, *Pseudomonas aeruginosa*, антибіотикорезистентність, фаготерапія.

УДК 663.11; 579.61  
DOI 10.17721/1728.2748.2022.91.19-23

Д. Остапченко<sup>1</sup>, студ.,  
О. Короткий<sup>1</sup>, д-р біол. наук,  
О. Цирюк<sup>1</sup>, д-р біол. наук,  
Ю. Пенчук<sup>1</sup>, канд. біол. наук,  
Л. Сішел<sup>2</sup>, голов. наук. співроб.  
<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,  
<sup>2</sup>Стала Біотікс, Колорадо, США

## АНТИМІКРОБНИЙ ПОТЕНЦІАЛ ЛІЗАТУ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS V*

За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я стійкість до антибіотиків зростає до небезпечно високого рівня в усьому світі. Виникають нові механізми резистентності, загрожуючи нашій здатності лікувати поширені інфекційні захворювання, тому пошук нових протимікробних засобів природного походження є глобальною проблемою. Метою пропонуваного дослідження було визначення антимікробної активності ліофілізованого ферментативного лізату клітин штаму молочнокислих бактерій *Lactobacillus rhamnosus V*. Об'єктом дослідження був препарат Дел-Імун V<sup>®</sup>, який позиціонується як протипаліативний та імуностимулюючий. Зусилля дослідників були спрямовані на більш повне розкриття потенціалу препарату, зокрема його протимікробної дії. Антимікробну активність визначали за показником мінімальної інгібувальної концентрації (МІК). Визначення МІК здійснювали методом дворазових серійних розведень у м'ясопептоновому бульйоні (МПБ) для бактерій і рідкому суслі – для дріжджів. Як тестові культури використовували грамнегативні (*Escherichia coli* IEM-1, *Proteus vulgaris* ПА-12, *Pseudomonas sp. MI-2*) та грампозитивні (*Bacillus subtilis* BT-2, *Staphylococcus aureus* БМС-1) бактерії, а також дріжджі (*Candida albicans* Д-6, *Candida tropicalis* РЕ-2, *Candida utilis* БВС-65). Визначено, що значення МІК нативного препарату Дел-Імун V<sup>®</sup> для досліджуваних бактеріальних тест-культур нижчі у вісім разів, для дріжджів – у чотири – вісім разів порівняно з показниками термічно інактивованого препарату. Доведено антибактеріальну та антифунгальну активність препарату Дел-Імун V<sup>®</sup>. Показано, що спектр протимікробної активності охоплює грампозитивні та грамнегативні бактерії, а також дріжджоподібні гриби роду *Candida*. Мінімальні інгібувальні концентрації були досить низькими: у діапазоні від 1,0 до 4,0 мг/мл для бактеріальних культур та від 62,5 до 125 мкг/мл для дріжджів. Найменш чутливою до дії препарату виявилася культура *B. subtilis* BT-2 (МІК 12,5 мкг/мл). Зазначено, що ліофілізований ферментативний лізат молочнокислих бактерій *Lactobacillus rhamnosus V* володіє антибактеріальними та антифунгальними властивостями.

**Ключові слова:** бактеріальний лізат, пробіотик, молочнокислі бактерії, антимікробна активність.

**Вступ.** Сучасні дослідження складу та функцій мікробіому людини становлять неабиякий інтерес, зважаючи на захисну функцію щодо патогенної мікробіоти. Препарати на основі пробіотичних мікроорганізмів широко застосовуються для профілактики інфекційних захворювань [35].

Дослідження показали, що пробіотики запобігають колонізації кишківника патогенними й умовно патогенними мікроорганізмами завдяки певним механізмам, включаючи посилення бар'єрної функції епітелію [1] і модуляцію імунної відповіді [26]. Це може відбуватися також за допомогою пригнічення факторів вірулентності та пригнічення прикріплення клітин до епітелію [3]. Наприклад, види лактобацил інгібують адгезію *Enterobacter sakazakii* до кишкового слизу шляхом конкурентного включення [4]. Інші дослідження показали, що деякі пробіотики збільшують вироблення кишкового муцину, пригнічуючи адгезію клітин патогенів до епітеліальних клітин кишківника [5]. Пробиотики також здатні виробляти метаболіти із широким спектром біологічної дії. Зокрема, на загоєння ран може впливати позаклітинний полісахарид, який продукується пробіотичними бактеріями і має виразні протизапальні властивості [7]. Також виявлено, що деякі штами пробіотиків можуть поліпшувати процеси загоєння ран завдяки антибактеріальній, протизапальній дії, стимуляції процесів ангіогенезу та синтезу протеогліканового комплексу [8, 9].

Молочнокислі бактерії можуть синтезувати протимікробні пептиди (бактеріоцини), такі як низин А, ледіоцин, ентероцин, сакацин, лактокоцин, гелветицин, реутерицин, лактацин, саліварицин, мутацин, гасерицин тощо [20, 21]. Бактеріоцини – це невеликі пептиди або білки, що секретуються або пов'язані з поверхнею. Завдяки активності за дуже низької концентрації (наномольної) вони можуть вбивати бактерії-мішені, діючи лише на рівні клітинної поверхні (мембрани чи клітинної стінки) [15]. Деякі бак-

теріоцини беруть участь у розсіюванні протонного градієнта через бактеріальну цитоплазматичну мембрану, інші інгібують біосинтез клітинної стінки або створюють пори, що спричиняють порушення іонного гомеостазу [16, 17]. Незважаючи на те, що деякі з них використовувалися близько 50 років як харчові добавки (для запобігання псування і харчовим інфекціям), було зареєстровано лише кілька випадків стійкості до бактеріоцинів [18, 19].

До прикладу, *Lactobacillus reuteri* здатна синтезувати принаймні три молекули, що пригнічують зростання бактерій: реутерин, реутероциклін і реутерицин. Реутерин має молекулярну масу нижче 100 Да та виявляє антимікробну активність завдяки комплексу, утвореному з амінами кишківника [12]. Реутероцикліни – це невеликі гідрофобні сполуки з молекулярною масою 349 Да, які демонструють широкий спектр інгібування проти *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria innocua* та *Staphylococcus aureus*. На останніх мікроорганізмах продемонстрований бактерицидний спосіб дії, що запускає лізис клітин [13]. Реутерицин 6 є бактеріоциноподібною білковою молекулою з молекулярною масою 2700 Да. Її амінокислотний аналіз підтвердив наявність 67 % гідрофобних і полярних нейтральних амінокислот [14].

Крім бактеріоцинів, молочнокислі бактерії синтезують кислоти та перекис водню, які також здійснюють антимікробну дію [10]. Є дані, що штами молочнокислих бактерій здатні пригнічувати зростання *Listeria monocytogenes* за рахунок продукції антибіотиків: *L. lactis* 41FLL3 продукує низин Z, а *Lactobacillus sakei* 1151 – сакасин P. Штами *Lactococcus lactis* MG1363, *Lactobacillus rhamnosus* 17D10 та *Lactobacillus helveticus* 4D5 характеризуються високою протеолітичною активністю. Усі штами здатні виділяти біоактивні пептиди з антимікробною, антигіпертензивною та опіоїдною активністю [11].

Однією із форм пробіотичних препаратів є бактеріальні лізати. Бактеріальні лізати представлені на ринку

вже кілька десятиліть і дотепер у багатьох країнах світу доступні кілька різних торгових марок. Вважають, що ці препарати спричиняють місцеві та системні імунomodуючі ефекти. Крім цього, лізати бактерій спричиняють захисну дію на організм, завдяки якій відбувається зменшення симптомів, пов'язаних із респіраторними інфекціями. Лікарські засоби на основі бактеріальних лізатів дозволені для застосування при різних показаннях, включаючи профілактику та/або лікування різних типів респіраторних інфекцій. Проте результати клінічних випробувань різні, а незважаючи на заяви про широку імунну активацію механізм дії бактеріальних лізатів усе ще залишається предметом дискусій.

**Мета дослідження:** дослідити антимікробну активність дієтичної добавки Дел-Імун V<sup>®</sup>, основу якої становить ліофілізований ферментативний лізат клітин штаму молочнокислих бактерій *Lactobacillus rhamnosus* V.

**Матеріали і методи.** Об'єктом досліджень була дієтична добавка Дел-Імун V<sup>®</sup>, що виробляється ТОВ "Міріммунофарм" (Україна). Препарат містить ліофільно висушений лізат *Lactobacillus rhamnosus* V.

Як тест-культури при визначенні антимікробної активності препарату застосовували штами бактерій *Escherichia coli* IEM-1, *Staphylococcus aureus* БМС-1, *Bacillus subtilis* БТ-2, *Proteus vulgaris* ПА-12, *Pseudomonas* sp. МІ-2 та дріжджі *Candida albicans* Д-6, *Candida tropicalis* (РЕ-2, *Candida utilis* БВС-65) із колекції живих культур кафедри біотехнології та мікробіології Національного університету харчових технологій (Україна).

Для тестування антимікробної активності використовували зразки препарату Дел-Імун V<sup>®</sup> різної концентрації. Для цього вміст капсули (25 мг) розчиняли у стерильному фосфатному буфері (0,1 М, рН 7,0) до вихідного об'єму (25 мл) і розводили цим буфером до необхідної концентрації.

Антимікробну активність зразків препарату аналізували за показником мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) [24]. Визначення МІК здійснювали методом дворазових серійних розведень у м'ясо-пептоновому бульйоні (МПБ) (Макрохім, Україна) для бактерій і рідкому пивному суслі (вміст сухих речовин 2 %) для дріжджів. У стерильних умовах у 10 пробірок вносили по 1 мл середовища, у першу додавали 1 мл розчину зразка препарату Дел-Імун V<sup>®</sup> максимальної концентрації, після чого перемішували, відбирали 1 мл і переносили в наступну пробірку. Аналогічно проводили розведення для наступних

дванадцяти пробірок. З останньої пробірки відбирали 1 мл. Кінцевий об'єм кожної пробірки становив 1 мл (МПБ або сусло та розчин зразка препарату), а концентрація препарату в кожній наступній пробірці знижувалася удвічі. Як негативний контроль використовували стерильне поживне середовище. Додатковим контролем був зразок препарату Дел-Імун V<sup>®</sup> після стерилізації в автоклаві ВК-75 (Україна). Параметри стерилізації становили: тиск P = 0,05 МПа та час t = 30 хв. Далі в кожну із пробірок вносили по 0,1 мл суспензії тест-культур (10<sup>5</sup>–10<sup>6</sup> КУО/мл) і перемішували. Пробірки інкубували 24 год при 28–30 °С для бактерій і 24–26 °С для дріжджів. Результати візуально оцінювали за помутнінням середовища: (+) – пробірки, у яких спостерігали помутніння середовища (зростання тест-культури), (-) – помутніння не було (зростання не було). Мінімальну інгібуючу концентрацію розчину визначали як концентрацію препарату в останній пробірці, де спостерігалось зростання.

Усі досліди повторювали тричі, кількість паралельних визначень в експериментах – від трьох до п'яти. Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали, як описано у [24]. Різницю між середніми показниками вважали статистично значущою лише на рівні значущості p < 0,05.

**Результати та їх обговорення.** Згідно з літературними даними препарат Дел-Імун V<sup>®</sup> характеризується інтерферогенною активністю і здатністю стимулювати синтез фактору некрозу пухлин альфа [22, 23]. Дані стосовно антимікробної активності препарату в літературі відсутні.

Наведені в табл. 1 дані свідчать про те, що препарат здатний чинити антимікробну дію, причому мінімальні інгібуючі концентрації для нативного препарату щодо досліджуваних бактеріальних тест-культур були у 8–125 разів нижчими, ніж показники термічно інактивованого контролю. Зазначимо, що препарат Дел-Імун V<sup>®</sup> виявляв високу антимікробну дію не тільки щодо грампозитивних (*B. subtilis* БТ-2, *S. aureus* БМС-1), але й грамнегативних (*E. coli* IEM-1, *P. vulgaris* ПА-12, *Pseudomonas* sp. МІ-2) бактерій.

Найменш чутливою до дії препарату виявилася культура *B. subtilis* БТ-2 (МІК 12,5 мкг/мл). Для інших культур МІК була в діапазоні від 1,0 до 4,0 мкг/мл. Отримані дані свідчать, що до препарату виявили чутливість культури, які найчастіше спричиняють інфекційні захворювання.

Таблиця 1. Антибактеріальна активність препарату Дел-Імун V<sup>®</sup>

Мінімальні інгібуючі концентрації, мкг/мл	<i>Bacillus subtilis</i> БТ-2 (спору)	<i>E. coli</i> IEM-1	<i>Staphylococcus aureus</i> БМС-1	<i>Proteus vulgaris</i> ПА-12	<i>Pseudomonas</i> sp. МІ-2
Препарат	12,5	4,0	2,0	1,0	1,0
Контроль 1 (препарат після автоклавування)	125,0	250,0	250,0	125,0	125,0
Контроль 2 (стерильне МПБ)	0	0	0	0	0

**Примітка:** при визначенні мінімальних інгібуючих концентрацій похибка не перевищувала 5 %.

Результати дослідження антифунгальних властивостей бактеріального лізату, який міститься в препараті, проведеного з використанням дріжджів роду *Candida* (табл. 2), свідчать про те, що препарат Дел-Імун V<sup>®</sup> меншою мірою виявляє антифунгальну активність порівняно з антибактеріальною. Мінімальна інгібуюча

концентрація була в діапазоні від 62,5 до 125 мкг/мл, що в 4–8 разів менше за показники термічно інактивованого контролю. Незважаючи на це, такі концентрації можна покладати терапевтичними з огляду на низький рівень токсичності препарату.

Таблиця 2. Антифунгальна активність препарату Дел-Імун V®

Мінімальні інгібуючі концентрації, мкг/мл	<i>Candida tropicalis</i> PE-2	<i>Candida albicans</i> Д-6	<i>Candida utilis</i> БВС-65
Препарат	125,0	62,5	125,0
Контроль 1 (препарат після автоклавовання)	500,0	500,0	500,0
Контроль 2 (стерильне сусло)	0	0	0

Примітка: при визначенні мінімальних інгібуючих концентрацій похибка не перевищувала 5 %.

Досліди проводили *in vitro*, тому безпосередня дія препарату на мікроорганізми очевидна.

Дані про використання в медичній практиці лізатів пробіотичних культур для боротьби з інфекційними захворюваннями в науковій літературі доволі обмежені. Наприклад, місцеве застосування оброблених ультразвуком штамів *Streptococcus salivarius* пацієнтами, які страждають на atopічний дерматит, поліпшило бар'єрну функцію, імовірно, за рахунок підвищення рівня керамідів у роговому шарі [25]. Місцеве застосування *L. plantarum* для лікування інфікованих ран сприяло відновленню тканин на моделі опіків у мишей і запобігло інфекції при хронічних виразках та опіках ніг у людей [26, 27]. Проте механізми цих ефектів вивчені недостатньо.

Є дані, які свідчать про те, що патогенний потенціал *Candida* spp. залежить від їхньої здатності виробляти біоплівки на абіотичних і біотичних поверхнях [28]. При дослідженні протикандидозної активності неочищеного екстракту 13 різних штамів *Lactobacillus* [29] з'ясовано, що значення МІК лежить у діапазоні від 1,25 до 10 мг/мл. Також підтверджена антимікробна активність супернатанту лізату культури *L. paracasei* та ідентифікованого білка з молекулярною масою приблизно 25000 Да проти грампозитивних, грамнегативних бактерій і дріжджів *in vitro* [30].

Супернатанти сирого фільтрату з *L. acidophilus* ATCC 314, *L. rhamnosus* ATCC 7469, *L. plantarum* ATCC 8014 і *L. reuteri* ATCC 55730 здатні впливати на утворення гіфів *Candida albicans* у попередньо сформованій біоплівці та на розвиток зрілої біоплівки. Інгібуючі ефекти залежали від штаму лактобацил. Лізати *L. plantarum*, *L. acidophilus* та *L. reuteri* порушували утворення біоплівки, тоді як *L. plantarum* та *L. reuteri* – тільки біоплівки клітин. Нещодавні дослідження також підтвердили, що види *Lactobacillus* можуть зменшити утворення гіфів *C. Albicans* [31, 32] шляхом вивільнення антимікробних сполук.

У клінічному дослідженні з використанням екстракту *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*) [33] спостерігали зменшення легкого ураження акне зі зменшенням еритеми та відновленням шкірного бар'єру. Значне пригнічення розвитку atopічних уражень шкіри, спричинених кліщами та іншими патогенами, спостерігалось при місцевому застосуванні гомогенізованих *Lactobacillus reuteri* у воді [34].

**Висновки.** У результаті проведеного дослідження підтверджено антибактеріальну та антифунгальну активність препарату Дел-Імун V®. З'ясовано, що спектр протимікробної активності охоплює грампозитивні та грамнегативні бактерії, а також дріжджоподібні гриби роду *Candida*. Протимікробну активність виявляли зразки препарату, які не були термічно інактивовані. Це свідчить про те, що активні речовини є термолабільними.

Мінімальні інгібуючі концентрації були досить низькими: у діапазоні від 1,0 до 4,0 мкг/мл для бактеріальних культур та від 62,5 до 125 мкг/мл для дріжджів. Найменш чутливою до дії препарату виявилася культура *B. subtilis* БТ-2 (МІК 12,5 мкг/мл).

Отримані результати свідчать, що препарат Дел-Імун V® є перспективним для профілактики та допоміжної терапії інфекційних захворювань мікробної етіології.

**Список використаних джерел**

1. Parsool N. *Lactobacillus casei* DN-114 001 inhibits the increase in paracellular permeability of enteropathogenic *Escherichia coli* – infected T84 cells / N. Parsool, P. Rampai // Research in Microbiology. – 2005. – 156. – P. 256–262. – doi: 10.1016/j.resmic.2004.09.013
2. Bedi D. A. *In vitro* anti-bacterial and anti-adherence effects of *Lactobacillus delbrueckii* subspecies *bulgaricus* on *Escherichia coli* / D. A. Bedi, S. Feizizadeh, A. Jafarian-Dehkordi // Res Pharm. – 2013. – Sci. 4. – P. 260–268.
3. Host-Bacterial Mutualism in the Human Intestine / F. Backhed, R. E. Ley, J. L. Sonnenburg et al. // Science. – 2005. – 307. – P. 1915–1920. – doi:10.1126/science.1104816
4. Collado M. C. Specie probiotic strains and their combinations counteract adhesion of *Enterobacter sakazakii* to intestinal mucus / M. C. Collado, E. Isolauri, S. Salminen // FEMS Microbiol Lett. – 2008. – 285. – P. 58–64. – https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01211.x
5. Prince T. *Lactobacillus reuteri* Protects Epidermal Keratinocytes from *Staphylococcus Aureus* Induced Cell Death by Competitive Exclusion / T. Prince, A. J. McBain, C. A. O'Neill // Appl. Environ. Microbiol. – 2012. – 15. – P. 78–51. – doi: 10.1128/AEM.00595-12
6. *Lactobacilli* reduce Cell Cytotoxicity Caused by *Streptococcus pyogenes* by Producing Lactic Acid that Degrades the Toxic Component Lipoteichoic Acid / L. Maudsdotter, H. Jonsson, S. Roos, A. B. Jonsson // Antimicrob. Agents Chemother. – 2011. – 55. – P. 1622-88. – https://doi.org/10.1128/AAC.00770-10
7. Probiotics ameliorate pioglitazone-associated bone loss in diabetic rats / A. Gholami, M. H. Dabbaghmanesh, Y. Ghasemi et al. // Diabetology & Metabolic Syndrome. – 2020. – Vol. 12. – № 1. – doi: 10.21203/rs.3.rs-32789/v2
8. Supportive role of probiotic strains in protecting rats from ovariectomy-induced cortical bone loss / N. Montazeri-Najafabady, Y. Ghasemi, M. H. Dabbaghmanesh et al. // Probiotics and Antimicrobial Proteins. – 2019. – Vol. 11. – № 4. – P. 1145–1154. – doi: 10.21203/rs.3.rs-32789/v1
9. Tsiouris C. G. Human microflora, probiotics and wound healing / C. G. Tsiouris, M. G. Tsiouri // Wound Medicine. – 2017. – Vol. 19. – P. 33–38. – doi: 10.1016/j.wndm.2017.09.006
10. Antimicrobial Characteristics of Lactic Acid Bacteria Isolated from Homemade Fermented Foods / J. Zhu, G. L. Shengjie, Hongyan, Yu Hansong // Research Article. – 2018. – doi: https://doi.org/10.1155/2018/5416725
11. Antimicrobial Potential of Food Lactic Acid Bacteria: Bioactive Peptide Decrypting from Caseins and Bacteriocin Production / S. Nebbia, C. Lamberti, G. Lo Bianco et al. // Microorganisms. – 2021. – Jan; 9(1). – P. 65. – doi: 10.3390/microorganisms9010065
12. Acrolein contributes strongly to antimicrobial and heterocyclic amine transformation activities of reuterin / C. Engels, C. Schwab, J. Zhang et al. // Sci Rep. – 2016. – Nov. 7. – 6. – P. 36246.
13. Reuterin 6, a New Bacteriocin Produced by *Lactobacillus reuteri* LA 6 / T. Toba, S. K. Samant, E. Yoshioka, T. Itoh // Lett. Appl. Microbiol. – 1991. – 13. – P. 281–286. – doi: 10.1111/j.1472-765X.1991.tb00629.x
14. Characterization of reutericyclin produced by *Lactobacillus reuteri* LTH2584 / M. G. Gänzle, A. Hölzel, J. Walter et al. // Appl Environ Microbiol. – 2000. – Oct. 66(10). – P. 4325-33.
15. Anti-*S. aureus* and Anti-*L. Monocytogenes* Molecules Produced by Cheese-Isolated Lactic Acid Bacteria / C. Lamberti, F. Genovese, J. D. Coisson et al. // Czech J. Food Sci. – 2014. – 32. – P. 7. – doi: 10.17221/505/2012-CJFS
16. Van Heijenoort J. Lipid intermediates in the biosynthesis of bacterial peptidoglycan / J. van Heijenoort // Microbiol Mol Biol Rev. – 2007. – Dec. 71(4). – P. 620-35.
17. Zacharof M. P. Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria a Review Article / M. P. Zacharof, R. W. Lovitt // APCBEE Procedia. – 2012. – 2. – P. 50–56. – doi: 10.1016/j.apcbee.2012.06.010
18. Nishie M. Antibacterial peptides "bacteriocins": an overview of their diverse characteristics and applications / M. Nishie, J. Nagao, K. Sonomoto // Biocontrol Sci. – 2012. – Mar. 17(1). – P. 1–16.
19. Spontaneous resistance in *Lactococcus lactis* IL1403 to the lantibiotic lactacin 3147 / C. M. Guinane, P. D. Cotter, C. Hill, R. P. Ross // FEMS Microbiol Lett. – 2006. – Jul. 260(1). – 77–83.
20. Mokoena M. P. Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens: A Mini-Review / M. P. Mokoena // Molecules. – 2017. – Jul. 26; 22(8).
21. Perez R. H. Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): various structures and applications / R. H. Perez, T. Zendo, K. Sonomoto // Microb Cell Fact. – 2014. – Aug. 29. – 13 Suppl 1(1):S3.
22. Study of Interferonogenous Activity of the New Probiotic Formulation Del-ImmuneV® / L. Sichel, N. A. Timoshok, V. S. Pidgorsky, N. Y. Spivak // J. Prob. Health. – 1: 107. – doi: 10.4172/2329-8901.1000107

23. Effects of dry enzymatic lysate Del-immune V® on cytokine production in the experimental models / S. V. Pidgorskyi, L. N. Shynkarenko-Sichel, N. A. Timoshok et al. // *Microbiology & Biotechnology*. – 2011. – № 3. – P. 23–36. – DOI: [10.18524/2307-4663.2011.3\(15\).92882](https://doi.org/10.18524/2307-4663.2011.3(15).92882)
24. Use of claydite-immobilized oil-oxidizing microbial cells for purification of water from oil / T. Pirog, T. Shevchuk, I. Voloshina, N. Gregirchak // *Applied Biochemistry and Microbiology*. – 2005. – Vol. 41, № 1. – P. 51–55. – <http://dspace.nuft.edu.ua/jspui/handle/123456789/613>
25. Different strategies for purification of antimicrobial peptides from Lactic Acid Bacteria (LAB) / E. Pingitore, E. Salvucci, F. Sesma, M. A. Nader // *Lett. Appl. Microbiol.* – 2007. – 46:174. – 180. – [www.researchgate.net/publication/237411008\\_Different\\_strategies\\_for\\_purification\\_of\\_antimicrobial\\_peptides\\_from\\_Lactic\\_Acid\\_Bacteria\\_LAB](http://www.researchgate.net/publication/237411008_Different_strategies_for_purification_of_antimicrobial_peptides_from_Lactic_Acid_Bacteria_LAB)
26. Bacteriotherapy with *Lactobacillus plantarum* in bums / C. Peral, M. H. Huaman Martinez, C. J. Valdez // *International Wound Journal*. – 2009b. – 6:73-81.
27. Interleukin-8 production by polymorphonuclear leukocytes from patients with chronic infected leg ulcers treated with *Lactobacillus plantarum* / M. C. Peral, M. M. Rachid, M. N. Gobbato et al. // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2009a. – 16:281-286.
28. Action mechanisms of probiotics on *Candida* spp. and candidiasis prevention: An update / F. C. Ribeiro, R. D. Rossoni, P. P. De Arros et al. // *Journal of Applied Microbiology*. – 2019. – 129(12). – doi: 10.1111/jam.14511
29. Anticandidal activity of cell extracts from 13 probiotic *Lactobacillus* strains and characterisation of lactic acid and a novel fatty acid derivative from one strain. / R. Nyanzi, M. D. Awouafack, P. Steenkamp et al. // *Food Chemistry*. – 2014. – 164. – P. 470–475.
30. Wannun P. Purification, characterization, and optimum conditions of fermentin SD11, a bacteriocin produced by human orally *Lactobacillus fermentum* SD11 / P. Wannun, S. Piwat, R. Teanpaisan // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. – 2016. – 179. – P. 572–582. – doi: 10.1007/s12010-016-2014-y
31. Action mechanisms of probiotics on *Candida* spp. and candidiasis prevention: An update / F. C. Ribeiro, R. D. Rossoni, P. P. De Arros et al. // *Journal of Applied Microbiology*. – 2019. – 129(12). – doi:10.1111/jam.14511
32. Santos C. T. Antifungal and Antivirulence Activity of Vaginal *Lactobacillus* spp. Products against *Candida* Vaginal Isolates / C. T. Santos // *Pathogens*. – 2019. – Sep. 8(3): 150. – doi:10.3390/pathogens8030150
33. Muizzuddin N. Physiological effect of a probiotic on skin / N. Muizzuddin // *Journal of Cosmetic Science*. – 2012. – 63(6). – P. 385–395.
34. Kawahara T. Effect of *Lactobacillus* strains on thymus and chemokine expression in keratinocytes and development of atopic dermatitis-like symptoms / T. Kawahara, N. Hanzawa, M. Sugiyama // *Benef Microbes*. – 2018. – 9(4). – P. 643-652. – doi: 10.3920/BM2017.0162
- Reference**
1. Parsool N., Rampai P. *Lactobacillus casei* DN-114 001 inhibits the increase in paracellular permeability of enteropathogenic *Escherichia coli* – infected T84 cells. *Research in Microbiology*. 2005.156: 256-262. doi: 10.1016/j.resmic.2004.09.013
2. Bedi DA, Feizizadeh S, Jafarian-Dehkordi A. *In vitro* anti-bacterial and anti-adherence effects of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* on *Escherichia coli*. *Res Pharm Sci*. 2013.4: 260-268.
3. Backhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JL. Host-Bacterial Mutualism in the Human Intestine. *Science*. 2005.307:1915-1920. 10.1126/science.1104816
4. Collado Maria C., Isolauri Erika, Salminen Seppo. Specie probiotic strains and their combinations counteract adhesion of *Enterobacter sakazakii* to intestinal mucus. *FEMS Microbiol Lett*. 2008. 285: 58-64. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2008.01211.x>
5. Prince T, McBain Andrew J and O'Neill Catherine A. *Lactobacillus reuteri* Protects Epidermal Keratinocytes from *Staphylococcus Aureus* Induced Cell Death by Competitive Exclusion. *Appl. Environ. Microbiol*. 2012. 15:78-51 19. 10.1128/AEM.00595-12
6. Maudsdotter L, Jonsson H, Roos S, AB Jonsson. *Lactobacillireduce* Cell Cytotoxicity Caused by *Streptococcus pyogenes* by Producing Lactic Acid that Degrades the Toxic Component Lipoteichoic Acid. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2011. 55:1622-88. <https://doi.org/10.1128/AAC.00770-10>
7. Gholami A., Dabbagmanesh M. H., Ghasemi Y., Talezadeh P., Koohpeyma F., and Montazeri-Najafabady N. Probiotics ameliorate pioglitazone-associated bone loss in diabetic rats. *Diabetology & Metabolic Syndrome*. 2020. Vol. 12, no. 1. 10.21203/rs.3.rs-32789/v2
8. Montazeri-Najafabady N., Ghasemi Y., Dabbagmanesh M. H., Talezadeh P., Koohpeyma F. and Gholami A. Supportive role of probiotic strains in protecting rats from ovariectomy-induced cortical bone loss. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*. 2019. Vol. 11, no. 4, pp. 1145–1154. 10.21203/rs.3.rs-32789/v1
9. Tsiouris C. G. and Tsiouri M. G. Human microflora, probiotics and wound healing. *Wound Medicine*. 2017. Vol. 19, pp. 33–38. 10.1016/j.wndm.2017.09.006
10. Zhu Jianwei, Gong Liu Shengjie, Hongyan, and Yu Hansong. Antimicrobial Characteristics of Lactic Acid Bacteria Isolated from Homemade Fermented Foods. *Research Article*. V. 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/5416725>
11. Stefano Nebbia, Cristina Lamberti, Giuliana Lo Bianco, Simona Cirrincione, Valerie Laroute, Muriel Coccagn-Bousquet, Laura Cavallarín, Maria Gabriella Giuffrida, and EnricaPessione. Antimicrobial Potential of Food Lactic Acid Bacteria: Bioactive Peptide Decrypting from Caseins and Bacteriocin Production. *Microorganisms*. 2021. Jan; 9(1): 65. 10.3390/microorganisms9010065
12. Engels C, Schwab C, Zhang J, Stevens MJ, Bieri C, Ebert MO, McNeill K, Sturla SJ, Lacroix C. Acrolein contributes strongly to antimicrobial and heterocyclic amine transformation activities of reuterin. *Sci Rep*. 2016. Nov 7; 6(3):36246.
13. Toba T., Samant S.K., Yoshioka E., Itoh T. Reuterin6, a New Bacteriocin Produced by *Lactobacillus reuteri* LA 6. *Lett. Appl. Microbiol*. 1991;13:281–286. doi: 10.1111/j.1472-765X.1991.tb00629.x.
14. Gänzle MG, Höltzel A, Walter J, Jung G, Hammes WP. Characterization of reutericyclin produced by *Lactobacillus reuteri* LTH2584. *Appl Environ Microbiol*. 2000. Oct; 66(10):4325-33
15. Lamberti C., Genovese F., Coisson J.D., Bianco G.L., Coccolin L., Pessione E. Anti-S. aureus and Anti-L. Monocytogenes Molecules Produced by Cheese-Isolated Lactic Acid Bacteria. *Czech J. Food Sci*. 2014. 32:7. doi: 10.17221/505/2012-CJFS
16. Van Heijenoort J. Lipid intermediates in the biosynthesis of bacterial peptidoglycan. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2007. Dec; 71(4):620-35
17. Zacharof M.P., Lovitt R.W. Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria a Review Article. *APCBEE Procedia*. 2012. 2:50–56. doi: 10.1016/j.apcbee.2012.06.010
18. Nishie M, Nagao J, Sonomoto K. Antibacterial peptides "bacteriocins": an overview of their diverse characteristics and applications. *Biocontrol Sci*. 2012. Mar; 17(1):1-16
19. Guinane CM, Cotter PD, Hill C, Ross RP. Spontaneous resistance in *Lactococcus lactis* IL1403 to the lantibiotic lactacin 3147. *FEMS Microbiol Lett*. 2006. Jul; 260(1):77-83.
20. Mokoena MP. Lactic Acid Bacteria and Their Bacteriocins: Classification, Biosynthesis and Applications against Uropathogens: A Mini-Review. *Molecules*. 2017. Jul 26; 22(8)
21. Perez RH, Zendo T, Sonomoto K. Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): various structures and applications. *Microb Cell Fact*. 2014. Aug 29; 13 Suppl 1():S3.
22. Sichel L, Timoshok NA, Pidgorsky VS, Spivak NY Study of Interferonogenous Activity of the New Probiotic Formulation Del-ImmuneV®. *J Prob Health*. 2013. 1: 107. doi: 10.4172/2329-8901.1000107, Sichel L, Timoshok NA, Pidgorsky VS, Spivak NY (2013) Study of Interferonogenous Activity of the New Probiotic Formulation Del-Immune V®. *J Prob Health* 1: 107. – doi: 10.4172/2329-8901.1000107
23. Pidgorsky V.S., Shynkarenko-Sichel L.N., Timoshok N.A., Cheipesh A.V., Spivak N.Y. Effects of dry enzymatic lysate Del-immune V® on cytokine production in the experimental models. *Microbiology & Biotechnology*. 2011. N3:23-36. – [https://www.researchgate.net/profile/Victor-Barshteyn/publication/235963325\\_CONTENT\\_OF\\_MYCELIAL\\_BIOMASS\\_AND\\_CULTURE\\_LIQUID\\_ID\\_OF\\_CORDYCEPS\\_SINENSIS\\_BERK\\_SACC\\_ASCOMYCETES/links/0c960516e9c8d63749000000/CONTENT-OF-MYCELIAL-BIOMASS-AND-CULTURE-LIQUID-OF-CORDYCEPS-SINENSIS-BERK-SACC-ASCOMYCETES.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Victor-Barshteyn/publication/235963325_CONTENT_OF_MYCELIAL_BIOMASS_AND_CULTURE_LIQUID_ID_OF_CORDYCEPS_SINENSIS_BERK_SACC_ASCOMYCETES/links/0c960516e9c8d63749000000/CONTENT-OF-MYCELIAL-BIOMASS-AND-CULTURE-LIQUID-OF-CORDYCEPS-SINENSIS-BERK-SACC-ASCOMYCETES.pdf)
24. Pirog T., Shevchuk T., Voloshina I., Gregirchak N. Use of claydite-immobilized oil-oxidizing microbial cells for purification of water from oil. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2005. Vol. 41, No. 1. – P. 51–55. <http://dspace.nuft.edu.ua/jspui/handle/123456789/613>
25. Evera Pingitore, Salvucci E, Sesma F, Nader-acias MA. Different strategies for purification of antimicrobial peptides from Lactic Acid Bacteria (LAB) . *Lett. Appl. Microbiol*. 2007. 46:174 – 180- [www.researchgate.net/publication/237411008\\_Different\\_strategies\\_for\\_purification\\_of\\_antimicrobial\\_peptides\\_from\\_Lactic\\_Acid\\_Bacteria\\_LAB](http://www.researchgate.net/publication/237411008_Different_strategies_for_purification_of_antimicrobial_peptides_from_Lactic_Acid_Bacteria_LAB)
26. Peral C, Huaman Martinez MH, Valdez CJ. Bacteriotherapy with *Lactobacillus plantarum* in bums. *International Wound Journal*. 2009b. 6:73-81
27. Peral MC, Rachid MM, Gobbato MN, Martinez MH, Valdez JC. Interleukin-8 production by polymorphonuclear leukocytes from patients with chronic infected leg ulcers treated with *Lactobacillus plantarum*. *Clin. Microbiol. Infect*. 2009a.16:281-286
28. Ribeiro F.C., Rossoni R.D., De Arros P.P., Santos J.D., Fugisaki L.R.O., Leão M.P.V., Junqueira J.C. Action mechanisms of probiotics on *Candida* spp. and candidiasis prevention: An update. *Journal of Applied Microbiology*. 2019.129(12). 10.1111/jam.14511
29. Nyanzi R., Awouafack M.D., Steenkamp P., Jooste P.J., Eloff J.N. Anticandidal activity of cell extracts from 13 probiotic *Lactobacillus* strains and characterisation of lactic acid and a novel fatty acid derivative from one strain. *Food Chemistry*. 2014.164 pp. 470-475
30. Wannun P., Piwat S., Teanpaisan R. Purification, characterization, and optimum conditions of fermentin SD11, a bacteriocin produced by human orally *Lactobacillus fermentum* SD11 *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2016.179, pp. 572-582. 10.1007/s12010-016-2014-y

31. Ribeiro F.C., Rossoni R.D., De Arros P.P., Santos J.D., Fugisaki L.R.O., Leão M.P.V., Junqueira J.C. Action mechanisms of probiotics on *Candida* spp. and candidiasis prevention: An update. *Journal of Applied Microbiology*. 2019.129(12). 10.1111/jam.14511
32. Santos C.T., et al. Antifungal and Antivirulence Activity of Vaginal *Lactobacillus* spp. Products against *Candida* Vaginal Isolates. *Pathogens*. 2019.Sep; 8(3): 150. 10.3390/pathogens8030150
33. Muizzuddin N. Physiological effect of a probiotic on skin. *Journal of Cosmetic Science*. 2012.63 (6), pp. 385-395
34. Kawahara T., Hanzawa N., Sugiyama M. Effect of *Lactobacillus* strains on thymus and chemokine expression in keratinocytes and

development of atopic dermatitis-like symptoms. *Benef Microbes* 2018. 9 (4) pp. 643-652, 10.3920/BM2017.0162

Надійшла до редколегії 28.09.2022  
Отримано виправлений варіант 28.10.2022  
Підписано до друку 28.10.2022

Received in the editorial 28.09.2022  
Received version on 28.10.2022  
Signed in the press on 28.10.2022

D. Ostapchenko<sup>1</sup>, Stud.,  
O. Korotkyi<sup>1</sup>, Dr. Hab.,  
O. Tsyryuk<sup>1</sup>, Dr. Hab.,  
Yu. Penchyk<sup>1</sup>, PhD,  
L. Sichel<sup>2</sup>, Chief Researcher<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,

<sup>2</sup>Stellar Biotics, LLC Niwot, Colorado, USA

## ANTIMICROBIAL POTENTIAL OF LACTIC ACID BACTERIA *LACTOBACILLUS RHAMNOSUS* LYSATE

According to World Health Organization, antibiotic resistance is rising to dangerously high levels in all parts of the world. New resistance mechanisms are emerging and spreading globally, threatening our ability to treat common infectious diseases. Therefore, searching for new antimicrobial agents of natural origin is an extraordinary global problem.

The work aimed to determine the antimicrobial activity of lyophilized enzymatic lysate of cells of the *Lactobacillus rhamnosus* V strain of lactic acid bacteria.

The object of the study was the drug Del-Imun V®, which has anti-allergenic and immunostimulating activity. The researchers' efforts aimed to fully reveal the drug's potential, particularly its antimicrobial activity.

Antimicrobial activity was determined by the minimum inhibitory concentration (MIC). Determination of MIC was carried out by the method of two-time serial dilutions in meat-peptone broth (MPB) for bacteria and liquid wort for yeast. Gram-negative (*Escherichia coli* IEM-1, *Proteus vulgaris* PA-12, *Pseudomonas* sp. MI-2) and Gram-positive (*Bacillus subtilis* BT-2, *Staphylococcus aureus* BMC-1) bacteria, as well as yeast (*Candida albicans* D-6, *Candida tropicalis* PE-2, *Candida utilis* BVS-65).

It was shown that MIC values of the native preparation for the bacterial test cultures (*Escherichia coli* IEM-1, *Bacillus subtilis* BT-2, *Staphylococcus aureus* BMC-1, *Proteus vulgaris* PA-12, *Pseudomonas* sp. MI-2) were 8 times slower, than those of the thermally inactivated preparation, for the yeasts (*Candida albicans* D-6, *Candida tropicalis* PE-2, *Candida utilis* BVS-65) – 4-8 times slower.

As a result of the conducted research, the antibacterial and antifungal activity of the drug Del-Imun V® was established. The spectrum of antimicrobial activity concerned gram-positive and gram-negative bacteria and yeast-like fungi of the genus *Candida*. The minimum inhibitory concentrations were quite low: from 1.0 to 4.0 µg/ml for bacterial cultures and from 62.5 to 125 µg/ml for yeast. The culture of *B. subtilis* BT-2 was the least sensitive to the drug's action (MIC – 12.5 µg/ml).

Therefore, it can be concluded that the lysate of *Lactobacillus rhamnosus* V lactic acid bacteria has antibacterial and antifungal properties.

Keywords: bacterial lysate, probiotic, lactic acid bacteria, antimicrobial activity.

UDC 615.281.8:615.363+616.832-002+616.921.5  
DOI 10.17721/1728.2748.2022.91.24-27

N. Teteriuk, Master Stud.,  
I. Zakharchuk, Stud.,  
O. Holubka, PhD on medicine,  
L. Radchenko, PhD on biology,  
A. Mironenko, Dr. degree on medicine, Prof.

SI "L.V. Gromashevsky Institute of Epidemiology and Infectious Diseases NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine

## VIRULICIDAL EFFECT OF THE PROBIOTIC DRUG "SVITECO-MULTI" ON POLIOVIRUS TYPE 1 AND INFLUENZA VIRUS

*The experimental work shows the antiviral activity of the probiotic drug "Sviteco-Multi" which contains bacteria of the genus Bacillus in model system in cell cultures MDCK and HEP-2, against influenza A (H1N1) pdm2009 virus and vaccine poliovirus type 1, which allows to recommend it for use, in particular, as an alternative to traditional antiviral disinfectants.*

**Keywords:** probiotic drugs, antiviral activity, *Bacillus subtilis*.

**Introduction.** Probiotics are considered to be living microorganisms that, when introduced into the body in adequate quantities, have a beneficial effect on the host's body. The category of probiotics includes various microorganisms, in particular representatives of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, as well as bacteria of the genus *Bacillus*. The latter genus includes a group with a wide variety of species that has been known to scientists for over 100 years, including *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. licheniformis*, *B. amyloliquefaciens* and *B. megatherium*.

It turns out that probiotics of the genus *Bacillus* have an antifungal and antiphlogistic effect due to creation of biofilm, which prevents the reproduction of fungi and pathogenic bacteria. Currently probiotics are used in medical practice, though the history of their use in European countries began in the fields of animal husbandry and poultry breeding for prevention of spread of diseases, which are caused by bacteria and fungus to decrease the usage of antibiotics. Proven, that probiotics due to the ability to produce interferon and enzymes (protease and lipase etc.) increase local immunity and accelerate wound healing and burns. But the systematic study of biofilms' effect on biosafety of human and animals began only in the last two decades.

**Relevance.** Relatively recently, new trends have emerged in the world – the so-called "probiotic antiseptics" and "probiotic disinfection". These new approaches are especially important against the background of the frequently developed antibiotic-resistant forms of microorganisms, namely – multidrug-resistant. The presence of multidrug-resistant forms of microorganisms makes it impossible to use antibiotics due to their ineffectiveness. And it is probiotics that can play a key role in the treatment of burns and wound healing. Probiotic disinfection is the use of probiotics for disinfection, in particular to eliminate foci of nosocomial infections [1].

A number of microbiological preparations are produced on the basis of strains of *Bacillus subtilis* designed to protect garden, indoor and greenhouse plants from a complex of fungal and bacterial diseases.

There are also works which dedicated to influence of *Bacillus subtilis* on host longevity including extended lifespan, when they are administered or present in adequate quantities. However, the mechanisms by which probiotics stimulate host longevity remain unclear and very poorly understood [2].

A separate important issue is the use of probiotics where there is a risk of formation of biofilms of pathogenic

microorganisms, the formation of which leads to ineffective use of conventional disinfectants.

If the antibacterial action of probiotics has been studied for a long time, then there are only some reports concerning their antiviral action [3-5]. There were the fully successful results of study on high effectiveness of antiviral activity of crude extracts from *B. licheniformis* against porcine epidemic diarrhea virus (PEDV). This study was performed both *in vivo* and *in vitro* [6]. Another study was devoted the investigation the activity of probiotic strain *B. subtilis* against the influenza virus. The antiviral effect of the extracted peptide from this strain (P18) has been demonstrated *in vitro* and *in vivo* as highly effective against influenza virus [7].

In another research demonstrated that peptide P34, which obtained from *B. subtilis*, reduced viral titer of equine arteritis virus from  $10^{4.5}$  TCID<sub>50/ml</sub> to  $10^{2.75}$  TCID<sub>50/ml</sub>, showing a percent of inhibition of 98.6 % [8].

In more recent investigation was shown the mediated influence the *B. subtilis* to SARS-CoV-2 virus, especially in terms of symptomatic management where linked to acute respiratory infections [9].

*Bacillus* bacteria have been shown to release peptide glycan, a so-called surfactin [10-12], which is a natural antibiotic. The mechanism of surfactin action is destroys the virion *in vivo* condition.

**Our study was aimed** to evaluate potential virucidal activity of the probiotic drug "Sviteco-Multi" against poliovirus type 1 and influenza A/California/07/2009 A (H1N1) pdm2009 in experiment *in vitro*.

It should be noted that the drug "Sviteco-Multi" includes a complex of bacteria of the genus *Bacillus*, in particular – *Bacillus subtilis* and *Bacillus megatherium*.

**Materials and methods.** The investigation was performed according the EN 14476+A2 Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of virucidal activity in the medical area [13].

The research was performed with influenza A(H1N1) pdm2009 virus (has RNA genome, has envelope), which was isolated in epidemiological season 2019/2020, with high infectious activity. TCID<sub>50/ml</sub> of this virus was  $10^{-7}$ . There was also used poliovirus type 1 (has RNA genome and has no envelope) with infectious activity TCID<sub>50/ml</sub>, that is equal to a  $10^{-6}$ . Vaccine poliovirus type 1 is a standard virus, which is used to control the action of disinfectants according to international standards.

Experiment with influenza viruses conducted on MDCK cell culture (epithelial canine kidney cells) received from Centers for Disease Control and Prevention (CDC – Atlanta,



USA) which is highly sensitive to influenza viruses. For propagate of cell culture growth medium on the basis of DMEM cultural medium with 5 % fetal bovine serum used. Maintaining medium, which is used for infected and probably infected cell culture, is serum-free and contains serum albumin (7.5 %) and purified trypsin Sigma (T-1426).

Experiment with poliovirus type 1 is conducted on HEp-2 cell culture, which is sensitive to poliovirus reproduction. The same growth medium is used for both cell cultures HEp-2 and MDCK, but maintaining medium for HEp-2 contains 2 % fetalbovineserum instead of serum albumin.

Prior to the main experiment, Petri dishes with meat-peptone agar were treated with "Sviteco-Multi" by spraying from an aerosol can. After treatment, the dishes were kept at a temperature of 37°C for 24 hours, which allowed toforms a microbial biofilm on the surface of the agar, formed by bacteria of the genus *Bacillus*.

After that on one part of Petri dishes on the surface of the agar in certain places (loci) virus-containing liquid was applied containing 2.5TCID<sub>50/ml</sub> (10<sup>-2</sup>) and 5TCID<sub>50/ml</sub> (10<sup>-1</sup>) of

influenza virus A/California/07/2009 A(H1N1)pdm2009, 100 µl per each locus. At intervals of 30 seconds, 2 and 5 minutes, washes were taken from the treated loci and added to MDCK cell culture.

Virus-containing fluid containing 1TCID<sub>50/ml</sub> (10<sup>-6</sup>) of vaccine poliovirus type 1, 100 µl per locus, was applied to other "Sviteco-Multi"-treated Petri dishes at selected loci. At intervals of 5, 10, 15 and 30 minutes, washes were taken from the treated loci and introduced into HEp-2 cell culture.

The results were calculated by assessing the cytopathic effect of the viruses during 2-4 days after inoculation of viruses. Cytopathic effect (viability of viruses) was expressed in %.

The viral percent of inhibition (PI) were calculated by  $PI = [1 - (\text{Titer of treated} / \text{Titer of controls})] \times 100$  [14].

**Results and discussion.** The experiment showed that aerosol application of undiluted probiotic drug "Sviteco-Multi" on meat-peptone agar, followed by application of a dose of vaccine poliovirus type 1 1TCID<sub>50/ml</sub> (10<sup>-6</sup>) leads to its inactivation 30 minutes after application.

The graphic image is given in Fig. 1.

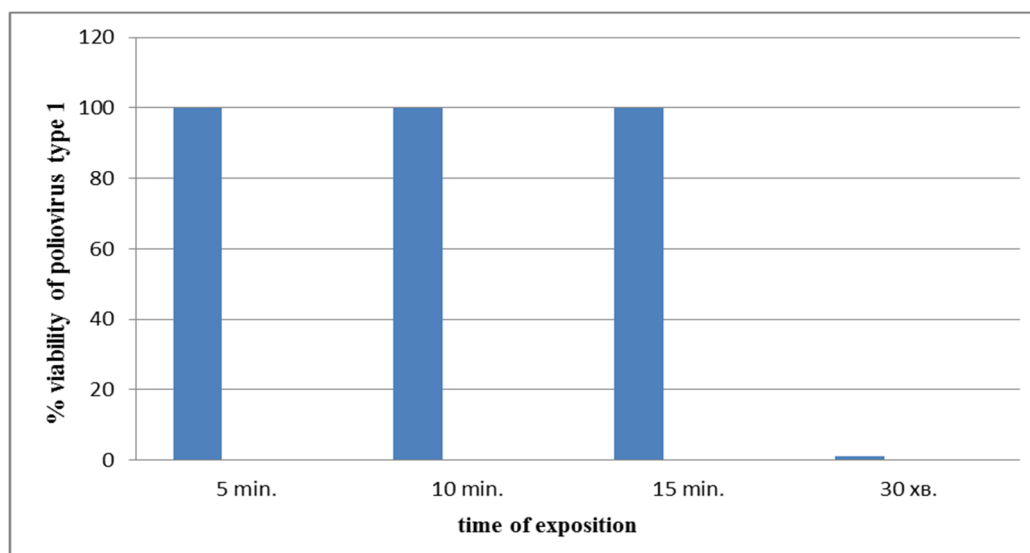


Fig 1. The viability of poliovirus type 1 on the biofilm which generated by bacterium *Bacillus*

As can be seen from the Figure 1 in case of exposition 5, 10 and 15 minutes the vaccine poliovirus type 1 does not have time to be inactivated and remains viable. But after 30 minutes it can be observed the inactivation of poliovirus on the surface of biofilm created by bacteria genus *Bacillus*.

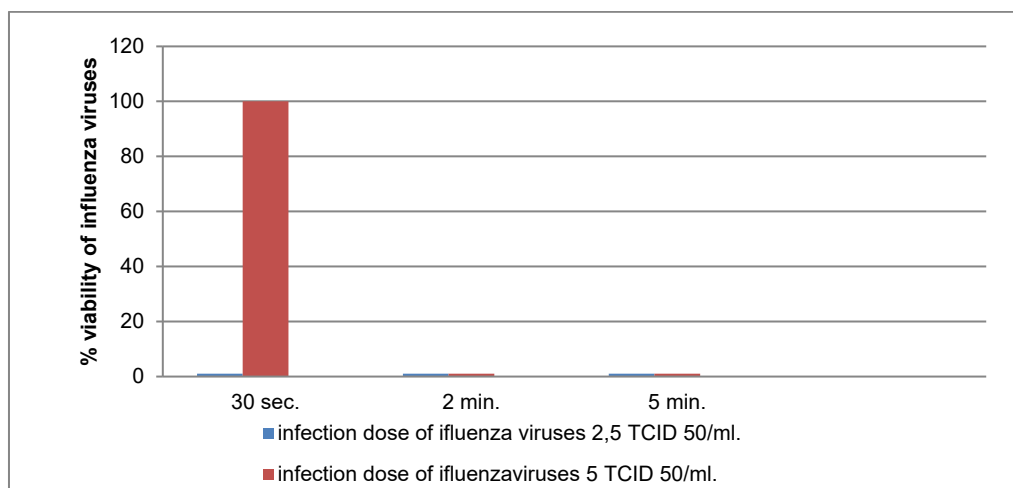
The experiment with influenza virus showed that treatment by aerosol application of undiluted probiotic drug "Sviteco-Multi" on meat-peptone agar, followed by application of a dose of influenza virus A/California/07/2009

A(H1N1)pdm2009 2.5TCID<sub>50/ml</sub> (10<sup>-2</sup>) leads to its inactivation after 30 seconds.

Application of 10 times higher dose of influenza virus – 5TCID<sub>50/ml</sub> (10<sup>-1</sup>) leads to its inactivation after 2 minutes on the surface of the biofilm formed by cultures of the genus *Bacillus*.

It can be fully explained because the influenza virus has much lower resistance to environmental factors and disinfectants than poliovirus type 1.

The graphic image is given in Fig. 2.



**Fig 2. The viability of influenza virus A(H1N1)pdm2009 on the biofilm which generated by bacterium *Bacillus***

For today the mechanism of probiotics' action has not been clarified. The majority of researchers come to the conclusion that in an organism the mechanism of their action is combined and is realized by different ways. It has been revealed that the metabolites released by probiotics display important protective activities to inhibit viral infections. These metabolites form a micro-environment that is not conducive to viral reproduction [15-18]. Besides probiotic bacteria may bind directly to the virus and inhibit virus attachment to the host cell receptor. Another mechanism – is adhesion of probiotics on the epithelial surface may block viral attachment in organism. Another way – induction of low-grade nitric oxide (NO) production and dehydrogenase production may also have antiviral activities. Probiotics is able to act by modulation of immune response through epithelial cells or activation of immune responses through macrophages and dendritic cells. It can realise upon activation, CD8+ T lymphocytes differentiate into cytotoxic T lymphocytes (CTLs), which destroy virus-infected cells. CD4+ T lymphocytes differentiate into Th1 and Th2 cells. 10 T-helper cells type 1 (Th1) activates phagocytes, promoting virus killing [19].

Another mechanism of antiviral activity of *B. subtilis* is containing in its metabolites. Particularly – it has been shown that surfactin, a cyclic lipopeptide produced by *B. subtilis*, is a molecule able to counteract both SARS-CoV-1, MERS-CoV and HCoV-229E coronaviruses. One of the last studies showed the potential antiviral activity of surfactin against SARS-CoV-2. The antiviral activity of surfactin was tested in vitro in a cellular model of infection on Vero E6 cells [20]. One else investigation confirmed that surfactin from *B. subtilis* can also suppress the proliferation of porcine epidemic diarrhea virus (PEDV) and transmissible gastroenteritis virus (TGEV) in epithelial cells at a relatively low concentration range [3].

Based on experimental studies, it can be assumed that biofilms formed by bacteria of the genus *Bacillus* may also inhibit the reproduction of other viruses. However, confirmation of this requires further research.

**Conclusion.** Therefore, the probiotic preparation "Svitico-Multi", which contains bacteria of the genus *Bacillus*, has antiviral activity against influenza A(H1N1)pdm2009 virus and poliovirus type 1, which makes

it possible to recommend its use, in particular as an alternative to traditional disinfectants.

#### References

- Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 1999;284: 1318–1322.
- Ayala F., Bauman C., Cogliati S. et al. Microbial flora, probiotics, *Bacillus subtilis* and the search for a long and healthy human longevity. *Microb Cell*. 2017 Apr 3; 4(4): 133–136. doi: 10.15698/mic2017.04.569.
- Yuan L, Zhang S, Wang Y, Li Y, Wang X, Yang Q. 2018. Surfactin inhibits membrane fusion during invasion of epithelial cells by enveloped viruses. *J Virol* 92:e00809-18. <https://doi.org/10.1128/JVI.00809-18>.
- Johnson BA, Hage A, Kalveram B, Mears M, Plante JA, Rodriguez SE, Ding Z, Luo X, Bente D, Bradrick SS, Freiberg AN, Popov V, Rajsbaum R, Rossi S, Russell WK, Menachery VD. Peptidoglycan-Associated Cyclic Lipopeptide Disrupts Viral Infectivity. *J Virol*. 2019 Oct 29;93(22). pii: e01282-19. doi: 10.1128/JVI.01282-19.
- Ramya S, Shanmugasundaram T, Balagurunathan R. Biomedical potential of actinobacterially synthesized selenium nanoparticles with special reference to anti-biofilm, anti-oxidant, woundhealing, cytotoxic and antiviral activities. *J Trace Elem Med Biol*. 2015 Oct;32:30-9. doi: 10.1016/j.jtemb.2015.05.005. Epub 2015 May 27.
- Peng JY, Hong YB, Wu CH, Chang CY, Chang YC, Tsai PS, Jeng CR, Cheng YH, Chang HW. Evaluation of antiviral activity of *Bacillus licheniformis*-fermented products against porcine epidemic diarrhea virus. *AMB Expr* (2019) 9:191. <https://doi.org/10.1186/s13568-019-0916-0>.
- Starosila D, Rybalko S, Varbanetz L, Ivanskaya N, Sorokulova I. Antiviral Activity of a *Bacillus subtilis* Probiotic Strain. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (2017), V.61. Issue 7. e00539-17.
- Silva DS, Castro CC, Silva FS1, Voltaire Sant'anna V, Vargas GA, Lima M, Fischer G, Brandelli A, Motta AS, Hübner SO. Antiviral activity of a *Bacillus* sp. P34 peptide against pathogenic viruses of domestic animals. *Brazilian Journal of Microbiology*. 2014, 45, 3, 1089-1094.
- Khodavirdipour A, Chamanrokh P, Alikhani MY, Alikhani MS. Potential of *Bacillus subtilis* Against SARS-CoV-2 - A Sustainable Drug Development Perspective. *Frontiers in Microbiology* (2022), doi:10.3359/fmicb.2022.7.18786.
- Morais IMC, et al. Biological and physicochemical properties of biosurfactants produced by *Lactobacillus jensenii* P6A and *Lactobacillus gasseri* P65. *Microb Cell Fact*. 2017. PMID: 28927409.
- Peypoux F., Bonmatin J.M., Wallach J. Recent trends in the biochemistry of surfactin. *Appl Microbiol Biotechnol*. 1999 May;51(5):553-63.
- Fangxiang H., Yuyue L., Shuang L. Rational strain improvement for surfactin production: enhancing the yield and generating novel structures. *BMC Microbiol Cell Factories*. 2019. <https://doi.org/10.1186/s12934-019-1089-x>.
- EN 14476+A2 Chemical disinfectants and antiseptics – Quantitative suspension test for the evaluation of virucidal activity in the medical area.
- Felipe AMM, Rincão VP, Benati FJ, Linhares REC, Galina KJ, Toledo CE, Lopes GC, Mello JC, Nozawa C (2006) Antiviral effect of *Guazuma ulmifolia* and *Stryphnodendron adstringens* on poliovirus and bovine herpesvirus. *Biol Pharm Bull* 29:1092-1096.
- Lehtoranta L., Pitkäranta A., & Korpela R. Probiotics in respiratory virus infections. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2014, V. 33, p.1289–1302.
- Grossman Ch., Annahtar M., Handley S. et al. *Lactobacillus*-Deficient Cervicovaginal Bacterial Communities Are Associated with

Increased HIV Acquisition in Young South African Women. *Immunity*.2017. Jan.17. V.46. P.29-37.

17. Tyssen D., Wang Y-Y., Hayward J. et al. Anti-HIV-1 Activity of Lactic Acid in Human Cervicovaginal Fluid. *ASM Journals*.2018. V.3.N4.e0055-18.

18. O'Hanlon DE, Moench TR, Cone RA. 2013. Vaginal pH and microbicidal lactic acid when lactobacilli dominate the microbiota. *PLoSOne* 8:e80074. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080074> .

19. Garcia-Castillo V., Tomokiyo M., Tonetti F. Alveolar Macrophages Are Key Players in the Modulation of the Respiratory Antiviral Immunity Induced by Orally Administered *Lactocaseibacillus rhamnosus* CRL1505. *Frontiers in Immunology*.2020. V.11. <https://doi: 10.3389/fimmu.2020.568636>.

20. Crovella S, Carvalho de Freitas L, Zupin L, Fontana F, Ruscio M , Pena EPN, Pinheiro IO, Junior TC. Surfactin Bacterial Antiviral Lipopeptide Blocks In Vitro Replication of SARS-CoV-2. *MDPI. Appl. Microbiol.* 2022, 2, 680–687. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol2030052> .

Надійшла до редколегії 26.10.2022

Отримано виправлений варіант 28.11.2022

Підписано до друку 28.11.2022

Received in the editorial 26.10.2022

Received version on 28.11.2022

Signed in the press on 28.11.2022

Н. Тетерюк, магістр,

І. Захарчук, студ.,

О. Голубка, канд. мед. наук,

Л. Радченко, канд. біол. наук,

А. Міроненко, д-р мед. наук, проф.

ДУ "Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України", Київ, Україна

## ВИРУЛІЦІДНА ДІЯ ПРОБІОТИЧНОГО ПРЕПАРАТУ "SVITESCO-MULTI" НА ПОЛІОВІРУС ПЕРШОГО ТИПУ ТА ВІРУС ГРИПУ

*В експериментальній роботі в модельній системі на культурах клітин MDCK та HEp-2 показана противірусна активність пробіотичного препарату "Svitesc-Multi", який містить бактерії роду *Bacillus*, щодо вірусу грипу А(H1N1) pdm 2009 та вакцинного поліовірусу першого типу, що дає змогу рекомендувати його для використання, зокрема як альтернативи традиційним дезінфікуючим противірусним засобам.*

*Ключові слова: пробіотичні препарати, противірусна активність, *Bacillus subtilis*.*

УДК 595.44(477)  
DOI 10.17721/1728.2748.2022.91.28-35

Є. Сінгаєвський<sup>1</sup>, канд. біол. наук,  
Є. Гриник<sup>2</sup>, експерт із лісового напрямку,  
П. Балан<sup>1</sup>, канд. біол. наук

<sup>1</sup>Київський національний університет імені Тараса Шевченка, Київ, Україна,  
<sup>2</sup>ГО "Українська природоохоронна група", Київ, Україна

## ДО ВИВЧЕННЯ ФАУНИ ПАВУКІВ (ARACHNIDA, ARANEI) ЧЕРНІГІВСЬКОГО ПОЛІССЯ: ПАВУКИ БИКІВНЯНСЬКОГО ЛІСОВОГО МАСИВУ МІСТА КИЄВА

Уперше проведено дослідження видового складу павуків Биківнянського лісового масиву, що знаходиться в межах східних околиць м. Києва та південних межах Чернігівського Полісся. Обстежено рослинні яруси та підстилку соснового і березового лісів і псамофільного трав'янистого оселища. Виявлено 123 види павуків, які належать до 21 родини. Найбільш широко представлені у фауністичних зборах родини Linyphiidae (28 видів павуків, 22,8 % від загальної кількості виявлених видів), Gnaphosidae – (17 видів, 13,8 %) та Lycosidae (15 видів, 12,2 %). Найширше представлена у підстилковому ярусі родина Lycosidae, частка якої становить 41,8 % від загальної кількості всіх виявлених павуків. Масовим видом у підстилковому ярусі соснового лісу виявився *Pardosa lugubris*. Частка представників родин Gnaphosidae та Linyphiidae становить 24,6 та 12,5 %, відповідно. З урахуванням літературних даних і отриманих результатів аранеофауна Чернігівського Полісся наразі включає щонайменше 389 видів із 29 родин. Виявлено 26 видів павуків із 13 родин, що вказуються вперше для Чернігівського Полісся, до яких належать 14 видів із 8 родин, нових для території Українського Полісся. По нових для регіону досліджень видах наведено дані щодо фауністичного матеріалу, періоду знаходок, місця та методу збирання, екологічним особливостям і знахідкам цих видів на території Українського Полісся в інших публікаціях. Більшість серед нових для Чернігівського Полісся видів (15) мають широкий ареал. Чотири види (*Lerthyphantes minutus*, *Trichoncus affinis*, *Tyrhochrestus digitatus*, *Titanoeca sprotinima*) належать до видів з європейським типом ареалу, ще чотири (*Alopecosa cursor*, *Lathys humilis*, *Drassyllus praeficus*, *Ozyptila scabricula*) – з європейсько-давньосередземноморським, два (*Asagena meridionalis*, *Gibbaranea gibbosa*) – з європейсько-кавказьким, один вид (*Alopecosa taeniorus*) – зі скіфським. Підтверджується факт співіснування видів *Pisaura novicia* та *P. mirabilis*, що описувалося раніше іншими авторами. Види *Hahnha nava*, *Centromerus incilium*, *Sintula spiniger*, *Stemonyphantes lineatus* та *Trochosa terricola* виявлені в усіх трьох типах досліджених біотопів. Індекс фауністичної подібності Жакара показав незначну схожість видових комплексів павуків соснового лісу та псамофільного трав'янистого оселища – 0,23, а значення індексу Шеннона для цих біотопів ідентичне – 4,277 біт, що свідчить про потенційно високий рівень видового складу та різноманіття фауни павуків Биківнянського лісового масиву.

**Ключові слова:** видовий склад, видове різноманіття, Чернігівське Полісся, павуки, фауна, Биківнянський лісовий масив.

**Вступ.** За останніми даними для фауни України вказується 1049 видів павуків [22]. Однак вивчення павуків території України має вельми мозаїчний характер, тому певні регіони потребують ґрунтовних системних досліджень для заповнення "білих плям". Одним із таких регіонів є Чернігівське Полісся. Комплексні дослідження угруповань павуків цього регіону здійснені К. В. Євтушенко у 90-х роках минулого сторіччя [6–10]. Стараннями автора було виявлено понад 320 видів, що втричі більше, ніж було відомо для регіону раніше [7]. У наш час актуальними стають продовження досліджень фауни Чернігівського Полісся, інвентаризація і доповнення регіональних видових списків. Особливо важливими є фауністичні дослідження біоти тих територій регіону, які межують із мегаполісами та потенційно можуть бути втраченими через забудови житловими кварталами внаслідок поступового розширення міських меж. До таких територій належить Биківнянський ліс, розташований на східній околиці м. Києва. Отримані дані можуть бути використані при складанні чи доповненні вже існуючих регіональних фауністичних списків і кадастрів.

**Метою дослідження** є визначення видового складу павуків, їхньої таксономічної структури на території Биківнянського лісового масиву як складової частини Чернігівського Полісся.

**Об'єкти та методи досліджень.** Згідно з геоботанічним районуванням територія досліджень належить до Остерського геоботанічного району, Чернігівсько-Новгородсьверського (Східнополіського) геоботанічного округу дубово-соснових і соснових лісів Поліської підпровінції Європейської широколистяної області. Округ розташований на схід від Дніпра в межах Донецько-Дніпровської западини і займає на сході знижений південно-західний край Середньоруської височини. Ландшафт району типowo поліський, природна рослинність збереглась добре. Переважають соснові ліси, значно менше дубово-

соснових, дубових і вільхових. Серед лучних біотопів переважають справжні луки костриці лучної та кунічника наземного, рідше – мітлиці білої та тонкої, костриці червоної, тонконога лучного. Наявні також остепнені луки мітлиці Сирейщикова, типчака борознистого, осоки ранньої. Іноді значні площі займають болотисті луки осоки стрункої, лепешняків великого та плавучого, бекманії звичайної, мітлиці собачої, а також торф'янисті – щучникові та дрібноосокові [12].

Фауністичний матеріал зібрано на території Биківнянського лісового масиву в межах східних околиць міста Києва у період із квітня по листопад 2017 р., також у роботі використано власні збори 2013 р. Застосовано стандартні методи польових досліджень: ручне збирання з підстилки, стовбурів дерев за допомогою ексгаустера, косіння за допомогою стандартного ентомологічного сачка по рослинності та ґрунтові пастки Барбера [13]. Досліджено ділянки соснового лісу, псамофільного трав'янистого оселища та березового лісу. Загалом зібрано та камерально оброблено 2076 екземплярів павуків на різних стадіях розвитку. Номенклатуру та географічне поширення видів наведено за "Каталогом павуків світу", родини, роди та види подано в алфавітному порядку [23], типи ареалів подано за [21]. Фауністичний матеріал зберігається на кафедрі екології та зоології Київського національного університету імені Тараса Шевченка.

Для порівняння видових угруповань павуків використано індекс фауністичної подібності Жакара. Для оцінювання біорізноманіття угруповань павуків досліджених біотопів застосовано індекс Шеннона [13].

Прийняті в роботі умовні скорочення та позначення:

- (1) – псамофільне трав'янисте оселище, пастки Барбера;
- (2) – псамофільне трав'янисте оселище, косіння ентомологічним сачком;
- (3) – сосновий ліс, пастки Барбера;
- (4) – сосновий ліс, косіння ентомологічним сачком;
- (5) – сосновий ліс, ручне збирання;
- (6) – березовий ліс,

© Сінгаєвський Є., Гриник Є., Балан П., 2022

косіння ентомологічним сачком; (7) – березовий ліс, ручне збирання; ♂ – самець; ♀ – самка.

**Результати та їх обговорення.** У результаті досліджень на території Биківнянського лісового масиву, розташованого на південній околиці Чернігівського Полісся, виявлено 123 види павуків із 21 родини. Загалом, з урахуванням результатів наших досліджень і літературних даних, список павуків Чернігівського Полісся нараховує на тепер щонайменше 389 видів із 29 родин.

Найбільш широко представлені у фауністичних зборах родини Linyphiidae (28 видів; 22,8 % від загальної кількості виявлених видів), Gnaphosidae (17 видів; 13,8 %) та Lycosidae (15 видів; 12,2 %). Підрахунок кількісних показників у зборах із досліджуваних біотопів показав, що найбільш представленими у підстилковому ярусі теж є родини Lycosidae, що становлять 41,8 % від загальної кількості екземплярів. Частка представників родин Gnaphosidae та Linyphiidae становить 24,6 та 12,5 %, відповідно. Масовим видом у підстилковому ярусі соснового лісу був *Pardosa lugubris*.

У результаті досліджень виявлено 26 видів павуків із 13 родин, що вказуються вперше для території Чернігівського Полісся (у табл. 1 вони позначені "\*\*"), до яких належать 14 видів, що вказуються вперше для Українського Полісся (позначені "\*\*"). Нижче наводимо дані щодо фауністичного матеріалу, періоду, місця та способу збирання, поширення, деяких екологічних особливостей (за літературними джерелами) та знахідок цих видів на території Чернігівського Полісся.

Родина **Araneidae: *Gibbaranea gibbosa*** (Walckenaer, 1802). **Матеріал: (2):** ♂, 12.04.2017. **Поширення:** Європа, Туреччина, Кавказ [23]. **Примітки:** дендробіонт, мешкає у кроні дерев та кущів, не є рідкісним видом, але його складно виявити у природі; статевозрілі особини зустрічаються з весни до осені [20]. Вперше вказується для території Українського Полісся.

Родина **Cheiracanthiidae: *Cheiracanthium oncognathum*** Thorell, 1871. **Матеріал: (1):** ♂, 12–24.05.2017. **Поширення:** Європа, західноєвропейська частина Росії [23]. **Примітки:** мешкає на низькорослому чагарнику та деревах, на узліссях; термофільний вид, не є рідкісним, але складно виявити у природі; статевозрілі особини зустрічаються з кінця весни до пізньої осені [1, 20]. Вперше вказується для території Українського Полісся.

Родина **Dictynidae: *Lathys humilis*** (Blackwall, 1855). **Матеріал: (3):** 2♂♂, 12–24.05.2017. **Поширення:** Європа, Туреччина, Кавказ, Іран, Центральна Азія, інтродукований вид у Канаді [23]. **Примітки:** на кущах і травах на добре освітленій місцевості, на гілках та стовбурах, у підстилці у соснових лісах, іноді також на поверхні ґрунту, найбільш поширений вид роду *Lathys* (Simon, 1884); самки зустрічаються протягом року, самці – з ранньої весни до середини літа [14, 20]. Вперше вказується для території Чернігівського Полісся, раніше відомий з Київського Полісся [7, 11].

Родина **Gnaphosidae: *Berlandina cinerea*** (Menge, 1872). **Матеріал: (1):** 14♂♂, 24.06–12.05.2017. **(3):** ♂, 12–24.05.2017. **Поширення:** Європа, на схід до південного Сибіру, Іран, Казахстан [23]. **Примітки:** зустрічається у сухих піщаних локаціях, під лишайниками або вереском [20]. Вперше вказується для території Чернігівського Полісся, раніше відомий із Новгород-Сіверського Полісся [7].

**Drassyllus praeficus** (L. Koch, 1866). **Матеріал: (1):** ♀, 24.05–08.06.2017; 2♀♀, 07–23.07.2017. **Поширення:** Європа, на схід до Центральної Азії [23]. **Примітки:** зустрічається в сухих і відкритих місцевостях, таких як схили, кам'янисті степи, сухі луки та виноградники, рідкісний

вид; самці та самки зустрічаються із травня по серпень [20]. Вперше вказується для території Чернігівського Полісся, раніше відомий з Волинського [2] та Новгород-Сіверського Полісся [7].

**Micaria dives** (Lucas, 1846). **Матеріал: (1):** ♂, 12–24.05.2017; ♂, 24.05–08.06.2017; ♂, 08–22.06.2017. **Поширення:** Європа, Туреччина, Ізраїль, Кавказ, Росія (від європейської частини до Далекого Сходу), Іран, Центральна Азія, Індія, Китай, Корея, Японія [23]. **Примітки:** зустрічаються в різних типах ксеротермних біотопів і степів, на піщаних дюнах, більш-менш відкритих лісових біотопах, чагарниках і парках, у заростях маквісів – вічнозелених колючих чагарників [17]; самці реєструються із квітня по серпень, самки – протягом травня [20]. Вперше вказується для території Українського Полісся.

**Micaria formicaria** (Sundevall, 1831). **Матеріал: (1):** ♀, 31.08–18.09.2017. **Поширення:** Європа, Туреччина, Кавказ, Росія (від європейської частини до Далекого Сходу), Іран, Казахстан, Китай [23]. **Примітки:** мешкають у сухих біотопах, на пісках [1]; самці реєструються із травня по серпень, самки – із травня по вересень [20]. Вперше вказується для території Українського Полісся.

**Zelotes exiguus** (Müller & Schenkel, 1895). **Матеріал: (3):** ♂, 12–24.05.2017; 4♂♂, 24.05–08.06.2017; 9♂♂, 2♀♀, 08–22.06.2017; ♂, 2♀♀, 22.06–07.07.2017; ♂, ♀, 07–23.07.2017; 3♀♀, 23.07–04.08.2017; 3♀♀, 04–22.08.2017. **Поширення:** Європа, Росія (від європейської частини до Далекого Сходу), Китай, Корея, Японія [23]. **Примітки:** мешкають у ксерофітних біотопах: світлих лісах, вересовищах; самці та самки зустрічаються влітку [20]. Вперше вказується для території Чернігівського Полісся, раніше відомий з Київського [7] та Волинського Полісся [3].

**Zelotes longipes** (L. Koch, 1866). **Матеріал: (1):** 3♀♀, 24.05–08.06.2017; ♀, 22.06–07.07.2017; ♂, 07–23.07.2017; ♂, ♀, 23.07–04.08.2017; 3♂♂, 2♀♀, 04–22.08.2017; 2♀♀, 22–31.08.2017; 3♂♂, ♀, 31.08–18.09.2017; 2♀♀, 18.09–02.10.2017; 2♂♂, 02–16.10.2017.

**Поширення:** Європа, Туреччина, Кавказ, Росія (від європейської частини до Далекого Сходу), Іран, Центральна Азія, Монголія, Китай [23]. **Примітки:** зустрічається на піщаних дюнах, під заростями вереску, у світлих хвойних лісах, у денний період переховується у підстилці та під камінням; самці та самки зустрічаються із квітня по грудень [20]. Вперше вказується для території Чернігівського Полісся, раніше відомий з Новгород-Сіверського Полісся [7].

Родина **Hahniidae: *Hahnia ononidum*** Simon, 1875. **Матеріал: (3):** 13♂♂, 26.04–12.05.2017; 7♂♂, 12–24.05.2017; ♀, 24.05–08.06.2017; ♀, 22.06–07.07.2017. **Поширення:** США, Канада, Європа, Туреччина, Росія (від європейської частини до Далекого Сходу), Казахстан [23]. **Примітки:** часто можна знайти в листяному опаді та моху у вологих лісах; самці реєструються із січня по травень та у грудні, самки – із січня по червень, у вересні та грудні [20]. Вперше вказується для території Чернігівського Полісся, раніше відомий з Волинського Полісся [7, 11].

Родина **Linyphiidae: *Lepthyphantes minutus*** (Blackwall, 1833). **Матеріал: (3):** ♂, 26.04–12.05.2017. **Поширення:** Європа, Алжир [23]. **Примітки:** мешкає переважно у хвойних лісах на стовбурах дерев і в опалому листі [18]; статевозрілі особини зустрічаються протягом року [20]. Вперше вказується для території Чернігівського Полісся, раніше відомий з Новгород-Сіверського Полісся [4].

**Styloctetor romanus** (O. Pickard-Cambridge, 1873). **Матеріал: (1):** 3♂♂, ♀, 31.03–12.04.2017; ♂, ♀, 26.04–

12.05.2017; ♂, 24.05–08.06.2017; ♂, 22–31.08.2017. **Поширення:** Європа, Північна Африка, Туреччина, Кавказ, Росія (від європейської частини до Далекого Сходу), Казахстан, Іран, Центральна Азія, Китай [23]. **Примітки:** віддає перевагу місцям із сухими умовами існування [20]. Вперше вказується для території Українського Полісся.

*Thyreosthenius biovatus* (O. Pickard-Cambridge, 1875). **Матеріал:** (1): ♀, 12–26.04.2017. **Поширення:** Європа, європейська частина Росії до Далекого Північного Сходу [23]. **Примітки:** мешкає в мурашниках мурах роду *Formica*; самці зустрічаються к травні – червні та вересні, самки – у березні – червні та серпні – жовтні [20]. Вперше вказується для території Українського Полісся.

*Trichoncus affinis* Kulczyński, 1894. **Матеріал:** (3): ♂, 26.04–12.05.2017; 17♂♂, 4♀♀, 12–24.05.2017; 21♂♂, 1♀♀, 24.05–08.06.2017; 10♂♂, 9♀♀, 08–22.06.2017; 2♀♀, 22.06–07.07.2017; ♀, 07–23.07.2017; 2♀♀, 23.07–04.08.2017. **Поширення:** Європа, Кавказ, Грузія та Росія [23]. **Примітки:** мешкає в сухих і теплих місцях серед низької рослинності; самці зустрічаються протягом квітня – вересня, дорослі самки – у лютому та протягом квітня – жовтня [20]. Вперше вказується для території Чернігівського Полісся, раніше відомий з Київського Полісся [7].

*Typhochrestus digitatus* (O. Pickard-Cambridge, 1873). **Матеріал:** (1): ♂, 27.10–20.11.2017. **Поширення:** Європа, Північна Африка [23]. **Примітки:** віддає перевагу сухим і теплим місцям; самці зустрічаються протягом січня – червня та жовтня – грудня, самки активні у січні – липні та вересні – грудні [20]. Вперше вказується для території Українського Полісся.

Родина **Liocranidae:** *Scotina palliardii* (L. Koch, 1881). **Матеріал:** (3): ♂, 31.03–12.04.2017. **Поширення:** Європа, Туреччина, Корея [23]. **Примітки:** мешкає у мохово-трав'яному і підстилковому шарі сухих лук і вересовищ; самці зустрічаються протягом року, самки – з лютого по грудень [20]. Вперше вказується для території Чернігівського Полісся, раніше відомий з Волинського Полісся [7, 11].

Родина **Lycosidae:** *Acantholycosa lignaria* (Clerck, 1757). **Матеріал:** (1): ♂, ♀, 12–24.05.2017; ♂, 24.05–08.06.2017. **Поширення:** Європа, європейська частина Росії до Далекого Сходу, Китай [23]. **Примітки:** віддає перевагу відкритим місцям, мешкає серед повалених стовбурів дерев; дорослі самці та самки зустрічаються в літній період [20]. Вперше вказується для території Українського Полісся.

*Alopecosa cursor* (Hahn, 1831). **Матеріал:** (1): 7♂♂, 31.03–12.04.2017. **Поширення:** Європа, Туреччина, Кавказ, Росія (від європейської частини до Південного Сибіру), Іран, Центральна Азія, Китай [23]. **Примітки:** мешкають у моху і трав'янистій рослинності на відкритих сухих ділянках; дорослі самці та самки трапляються із квітня по червень [20]. Вперше вказується для території Українського Полісся.

*Alopecosa sulzeri* (Pavesi, 1873). **Матеріал:** (1): 3♂♂, 26.04–12.05.2017; ♂, 12–24.05.2017; 4♂♂, ♀, 24.05–08.06.2017; 3♂♂, 08–22.06.2017; ♂, 22.06–07.07.2017; ♂, ♀, 31.08–18.09.2017. (3): ♂, 24.05–08.06.2017. **Поширення:** Європа, Кавказ, європейська частина Росії до Південного Сибіру, Казахстан [23]. **Примітки:** мешкає в сухих і добре освітлюваних гірських районах та на низькогір'ї, рідко зустрічається в низинах, частий вид у лісостепових ландшафтах Східної Європи; дорослі самці та самки трапляються із травня по липень [20]. Вперше вказується для території Чернігівського Полісся, раніше відомий з Київського Полісся [7].

*Alopecosa taeniopus* (Kulczyński, 1895). **Матеріал:** (1): 2♂♂, 2♀♀, 18.09–02.10.2017; 2♂♂, 02–16.10.2017; 3♂♂, 16–27.10.2017. (7): ♂, 18.10.2013. **Поширення:** від Греції до Китаю [23]. Вперше вказується для території Українського Полісся.

Родина **Pisauridae:** *Pisaura novicia* (L. Koch, 1878). **Матеріал:** (1): ♀, 24.05–08.06.2017. (3): 2♂♂, 12–24.05.2017. **Поширення:** від Середземномор'я до Центральної Азії [23]. **Примітки:** дорослі самці зустрічаються протягом квітня – червня, дорослі самки – у квітні – липні та вересні [20]. Вперше вказується для території Українського Полісся.

Родина **Salticidae:** *Attulus saltator* (O. P.-Cambridge, 1868). **Матеріал:** (1): 4♂♂, 26.04–12.05.2017; ♂, 12–24.05.2017. **Поширення:** Європа, Туреччина, Росія (від європейської частини до Південного Сибіру) [23]. **Примітки:** мешкає у розрідженій рослинності на піщаних ґрунтах, у степових луках і на узліссях, рідкісний вид; дорослі самці та самки трапляються з березня по листопад [23]. Вперше вказується для території Чернігівського Полісся, раніше відомий з Новгород-Сіверського Полісся [7].

Родина **Theridiidae:** *Asagena meridionalis* Kulczyński, 1894. **Матеріал:** (1): ♂, 12–24.05.2017. (3): 2♂♂, 12–24.05.2017; ♂, 23.07–04.08.2017. **Поширення:** Центральна, Південно-Східна та Східна Європа, Кавказ (Росія, Грузія) [23]. **Примітки:** мешкає у підстилці у відкритих дубово-соснових лісах; дорослі самці зустрічаються протягом квітня – травня і з липня по грудень, самки періодично трапляються протягом року: у січні, червні, вересні та грудні [20]. Вперше вказується для території Українського Полісся.

Родина **Thomisidae:** *Ozyptila scabricula* (Westring, 1851). **Матеріал:** (1): 4♂♂, 31.03–12.04.2017, ♂, 12–26.04.2017; ♂, 22–31.08.2017; 3♂♂, ♀, 31.08–18.09.2017; ♀, 18.09–02.10.2017. (3): ♀, 22.06–07.07.2017. **Поширення:** Європа, Кавказ, Росія (від європейської частини до Далекого Сходу), Центральна Азія, Китай, Корея [23]. **Примітки:** мешкає на піщаних дюнах, під заростями вереску, на піщаних ділянках під соснами, сухих луках [15]; дорослі самці зустрічаються протягом травня – червня та у вересні, самки – із квітня по липень [20]. Вперше вказується для території Чернігівського Полісся, раніше відомий з Новгород-Сіверського Полісся [7].

Родина **Titanoecidae:** *Titanoeca quadriguttata* (Hahn, 1833). **Матеріал:** (1): ♀, 08–22.06.2017. **Поширення:** Європа, Росія (від європейської частини до Південного Сибіру), Казахстан, Китай [23]. **Примітки:** мешкають на сонячних прогрітих ділянках ґрунту під камінням; весняно-літній вид, дорослі самці і самки зустрічаються протягом травня – червня [20]. Вперше вказується для території Українського Полісся.

*Titanoeca spominima* (Taczanowski, 1866). **Матеріал:** (3): 2♂♂, 12–24.05.2017; 8♂♂, ♀, 24.05–08.06.2017; 3♂♂, 08–22.06.2017. **Поширення:** Швеція, Фінляндія, Центральна Європа, Сербія, Албанія, Україна, європейська частина Росії [23]. **Примітки:** мешкають на піщаних ґрунтах із розрідженим рослинним покривом у відкритих місцях, що добре прогриваються; весняно-літній вид, дорослі самці та самки зустрічаються із квітня по серпень [20]. Вперше вказується для території Українського Полісся.

Серед 26 нових для регіону досліджень видів переважають широкоареальні елементи – 15 видів, з них 6 – з євразійським типом поширення, 4 – з палеарктичним, 3 – з європейсько-сибірським, по 1 виду – із голарктичним і західно-центрально-палеарктичним. До видів з європейським типом ареалу належать *Lepthyphantes minutus*, *Trichoncus affinis*, *Typhochrestus digitatus* і

*T. spominima*. Європейсько-давньосередземноморський тип ареалу притаманний ще чотирьом видам – це *Alopecosa cursor*, *Lathys humilis*, *Drassyllus praeficus* та *Ozyptila scabricula*. Два види з європейсько-кавказьким типом ареалу: *Asagena meridionalis* та *Gibbaranea gibbosa*. До павуків зі скіфським типом ареалу належить *Alopecosa taeniopus*.

З вищенаведеного еколого-фауністичного огляду 14 видів були зафіксовані лише для лучного біотопу (псамофільного трав'янистого оселища): це типові фотофільні види наземного та підстилкового ярусу, що віддають перевагу відкритим місцеперебуванням, які добре освітлені (*Acantholycosa lignaria*, *Alopecosa cursor*, *Attulus saltator*, *Cheiracanthium oncognathum*, *D. praeficus*, *Micaria dives*, *M. formicaria*, *Styloctetor romanus*, *Titanoeca quadriguttata*, *T. spominima*, *Thyreosthenius biovatus*, *Typhochrestus digitatus*, *Zelotes longipes* та *Gibbaranea gibbosa*, виявлений у трав'яному ярусі). У підстилковому ярусі в доволі розрідженому сосновому лісі, що межує із житловою забудовою, виявлено шість видів (*Hahnia ononidum*, *L. humilis*, *L. minutus*, *Scotina palliardi*, *T. affinis* та *Zelotes exiguus*). У підстилковому ярусі псамофільного трав'янистого оселища та соснового лісу, який знаходиться поруч, знайдено п'ять спільних видів: *Alopecosa sulzeri*, *Berlandina cinerea* та *Ozyptila scabricula* (кількісно ці види значно більше представлені саме в лучному біотопі), а також *Asagena meridionalis* та *Pisaura novicia*. У підстилковому ярусі псамофільного трав'янистого оселища виявлено *Alopecosa taeniopus*, який також був знайдений під час ручного збирання у підстилці березового лісу.

*P. novicia* виявлений у ярусі хортобію псамофільного трав'янистого оселища разом із *P. mirabilis*. Обидва види мають спільний ареал, можуть зустрічатись в одних і тих самих стаціях у біотопі, також між двома видами не знайдено фенологічних відмінностей, що підтверджується нашими результатами. Через схожість у морфології копулятивного апарату цих видів у багатьох фауністичних працях, де вказується вид *P. mirabilis*, частина матеріалу може належати до виду *P. novicia* [19].

Серед загальної кількості виявлених видів п'ять (*Hahnia nava*, *Centromerus incilium*, *Sintula spiniger*, *Stemonyphantes lineatus* та *Trochosa terricola*) знайдено в усіх трьох типах досліджених біотопів. *S. spiniger* – один із чотирьох видів роду *Sintula* Simon, 1884, відомий на території України. Його вважають рідкісним видом [16]. Раніше вид був виявлений на території Київського Полісся у біотопі соснового лісу [5].

Спорідненість видових комплексів павуків соснового лісу та псамофільного трав'янистого оселища незначна. Значення індексу фауністичної подібності Жакара, розрахованого на основі виявлених видових комплексів павуків досліджених ярусів рослинності, дорівнює 0,23. Таку відмінність у видових угрупованнях павуків можна пояснити суттєвою різницею у структурі рослинності оселищ та мікрокліматичних умов, які тут формуються. Значення індексу фауністичної подібності угруповань павуків соснового та березового лісу дорівнює 0,1, а псамофільного трав'янистого оселища та березового лісу – лише 0,09. Дослідження видових угруповань павуків березового лісу мали попередній, ознайомчий характер і потребують подальшого застосування кількісних та якісних методів збирання протягом усього вегетаційного періоду. На сьогодні тут виявлено лише 16 видів павуків із 7 родин. До 6 видів, знайдених лише в березовому лісі, належать звичайні представники, яких

легко можна виявити у підстилковому шарі та обстежуючи рослинні яруси (табл. 1). Значення індексу біорізноманіття Шеннона дорівнює 2,78.

Для ярусів хортобію та підстилки псамофільного трав'янистого оселища Биківнянського лісового масиву виявлено 72 види павуків, що належать до 15 родин. Переважають представники родин Gnaphosidae – 15 видів, Linyphiidae та Lycosidae – по 13 видів, які разом становлять 56,9 % від наявного видового багатства. По 7 видів виявлено з родин Salticidae та Thomisidae (разом 19,4 %). В угрупованні павуків цього біотопу 42 види (58,3 % від загалу) із 10 родин знайдено лише тут. Це фотофільні представники родин Gnaphosidae (зокрема *Callilepis nocturna*, *Drassodes pubescens*, *Haplodrassus signifer*, *Zelotes electus*, *Z. latreillei*), Linyphiidae (*Agyneta rurestris*, *Erigone dentipalpis*, *Trichopterna cito*), Lycosidae (*Alopecosa farinosa*, *Pardosa agrestis*, *Trochosa ruricola*, *Xerolycosa miniata*), Salticidae (*Aelurillus v-insignitus*, *Asianellus festivus*, *Attulus saltator*, *A. zimmermanni*, *Phlegra fasciata*), Thomisidae (*Ebrechtella tricuspadata*) і Titanoecidae.

У досліджених ярусах рослинності соснового лісу та підстилці виявлено 72 види павуків із 19 родин. Переважають в угрупованні представники родин Linyphiidae (16 видів, або 22,2 % від загалу), Lycosidae (8 видів, або 11,1 %), Gnaphosidae (7 видів, або 9,7 %). Частка останніх двох родин порівняно з видовим угрупованням павуків відкритого лучного псамофільного трав'янистого оселища тут зменшується, натомість зростає присутність лісових видів із родини Linyphiidae, які є важливим компонентом у населенні членистоногих підстилкового ярусу лісових біотопів. Серед інших груп значною тут є частка видів родин Salticidae, Theridiidae та Thomisidae – представлені по 6 видів (по 8,3 %). Загалом частка видів цих шести родин становить 68,1 % від виявленого видового багатства. Як і у відкритому лучному оселищі, для угруповання павуків соснового лісу характерна присутність 42 видів із 17 родин, які в інших біотопах нами не були виявлені. Більшість із них належать до родини Linyphiidae, це такі лісові види, як *Diplostyla concolor*, *Lepthyphantes minutus*, *Palliduphantes pallidus*, *Tapinocyba insecta*, *Tenuiphantes flavipes*, *Walckenaeria cucullata*. Також тут виявлені види, екологічно пов'язані із сосною звичайною: *Philodromus margaritatus* (родина Philodromidae), *Dendryphantes rudis*, *Marpissa muscosa* (Salticidae), *Coriarachne depressa* (родина Thomisidae), які мешкають на корі або у шпаринах кори стовбурів дерев і знаходять тут здобич. Серед колопрядів типовим мешканцем рослинних ярусів хвойних лісів є *Cercidia prominens* та *Cyclosa conica*. Серед представників родин Gnaphosidae та Miturgidae у герпетобії виявлені *Haplodrassus silvestris* та *Zora silvestris* і *Z. spinimana*. *Crustulina guttata* та *Euryopsis flavomaculata* із родини тенетників (Theridiidae) є типовими мешканцями підстилкового ярусу хвойних лісів.

На основі кількісного та якісного аналізу власного фауністичного матеріалу отримані значення індексу біорізноманіття Шеннона для видових угруповань павуків псамофільного трав'янистого оселища та соснового лісу. Вони ідентичні – по 4,277 біт. Це може свідчити про потенційно високий рівень видового багатства та різноманіття фауни павуків Биківнянського лісового масиву, а отже, є перспективи для проведення подальших комплексних аранеологічних досліджень та розширення наукових знань про аранеофауну Чернігівського Полісся.

Таблиця 1. Видовий склад та біотопічний розподіл павуків Биківнянського лісового масиву

1 №	2 Родина/вид	3 Знахідки
	<b>1. Agelenidae</b>	
1	<i>Agelena labyrinthica</i>	1
2	<i>Tegenaria lapicidarum</i>	3
	<b>2. Anyphaenidae</b>	
3	<i>Anyphaena accentuata</i>	6
	<b>3. Araneidae</b>	
4	<i>Agalenatea redii</i>	1, 3
5	<i>Araneus diadematus</i>	3
6	<i>Cercidia prominens</i>	3
7	<i>Cyclosa conica</i>	4
8	<i>Gibbaranea bituberculata</i>	6
9	** <i>Gibbaranea gibbosa</i>	2
10	<i>Hypsosinga sanguinea</i>	2, 3
11	<i>Mangora acalypha</i>	2, 4
	<b>4. Cheiracanthiidae</b>	
12	** <i>Cheiracanthium oncognathum</i>	1
	<b>5. Dictynidae</b>	
13	* <i>Lathys humilis</i>	3
	<b>6. Dysderidae</b>	
14	<i>Harpactea rubicunda</i>	3
	<b>7. Gnaphosidae</b>	
15	* <i>Berlandina cinerea</i>	1, 3
16	<i>Callilepis nocturna</i>	1
17	<i>Drassodes pubescens</i>	1
18	* <i>Drassyllus praeficus</i>	1
19	<i>Drassyllus pusillus</i>	1, 3
20	<i>Haplodrassus signifer</i>	1
21	<i>Haplodrassus silvestris</i>	3
22	<i>Haplodrassus umbratilis</i>	1, 3
23	** <i>Micaria dives</i>	1
24	** <i>Micaria formicaria</i>	1
25	<i>Micaria fulgens</i>	1
26	<i>Zelotes apricorum</i>	1, 3
27	<i>Zelotes electus</i>	1
28	* <i>Zelotes exiguus</i>	3
29	<i>Zelotes latreillei</i>	1
30	* <i>Zelotes longipes</i>	1
31	<i>Zelotes subterraneus</i>	1, 3
	<b>8. Hahniidae</b>	
32	<i>Hahnia nava</i>	1, 3, 7
33	* <i>Hahnia ononidum</i>	3
	<b>9. Linyphiidae</b>	
34	<i>Agyneta fuscipalpa</i>	3
35	<i>Agyneta rurestris</i>	1
36	<i>Agyneta subtilis</i>	1
37	<i>Araeoncus humilis</i>	1
38	<i>Centromerus incilium</i>	1, 3, 7
39	<i>Centromerus sylvaticus</i>	7
40	<i>Ceratinella brevis</i>	3, 7
41	<i>Diplostyla concolor</i>	3
42	<i>Erigone dentipalpis</i>	1
43	* <i>Lepthyphantes minutus</i>	3
44	<i>Macrargus carpenteri</i>	7
45	<i>Macrargus rufus</i>	3, 7
46	<i>Palliduphantes pallidus</i>	3
47	<i>Pelecopsis parallela</i>	1
48	<i>Sintula spiniger</i>	1, 3, 7
49	<i>Stemonyphantes lineatus</i>	1, 3, 7
50	** <i>Styloctetor romanus</i>	1
51	<i>Tapinocyba insecta</i>	3
52	<i>Tapinopa longidens</i>	7
53	<i>Tenuiphantes flavipes</i>	3
54	** <i>Thyreosthenius biovatus</i>	1
55	* <i>Trichoncus affinis</i>	3
56	<i>Trichopterna cito</i>	1

1 №	2 Родина/вид	3 Знахідки
57	<i>Troxochrus scabriculus</i>	3
58	** <i>Typhochrestus digitatus</i>	1
59	<i>Walckenaeria alticeps</i>	1, 3
60	<i>Walckenaeria antica</i>	3, 7
61	<i>Walckenaeria cucullata</i>	3
	<b>10. Liocranidae</b>	
62	<i>Agroeca cuprea</i>	1, 3
63	* <i>Scotina palliardi</i>	3
	<b>11. Lycosidae</b>	
64	** <i>Acantholycosa lignaria</i>	1
65	<i>Alopecosa aculeata</i>	3
66	<i>Alopecosa cuneata</i>	1, 3
67	** <i>Alopecosa cursor</i>	1
68	<i>Alopecosa farinosa</i>	1
69	<i>Alopecosa pulverulenta</i>	1, 3
70	* <i>Alopecosa sulzeri</i>	1, 3
71	** <i>Alopecosa taeniopus</i>	1, 7
72	<i>Aulonia albimana</i>	1, 3
73	<i>Pardosa agrestis</i>	1
74	<i>Pardosa lugubris</i>	1, 3
75	<i>Trochosa ruricola</i>	1
76	<i>Trochosa terricola</i>	1, 3, 7
77	<i>Xerolycosa miniata</i>	1
78	<i>Xerolycosa nemoralis</i>	3
	<b>12. Miturgidae</b>	
79	<i>Zora silvestris</i>	3
80	<i>Zora spinimana</i>	3
	<b>13. Oxyopidae</b>	
81	<i>Oxyopes ramosus</i>	5
	<b>14. Philodromidae</b>	
82	<i>Philodromus margaritatus</i>	3
83	<i>Thanatus arenarius</i>	1
84	<i>Thanatus formicinus</i>	1
85	<i>Thanatus sabulosus</i>	3
86	<i>Tibellus oblongus</i>	2, 4
	<b>15. Phrurolithidae</b>	
87	<i>Phrurolithus festivus</i>	1, 3
	<b>16. Pisauridae</b>	
88	<i>Pisaura mirabilis</i>	1
89	** <i>Pisaura novicia</i>	1, 3
	<b>17. Salticidae</b>	
90	<i>Aelurillus v-insignitus</i>	1
91	<i>Asianellus festivus</i>	1
92	<i>Attulus pubescens</i>	3
93	* <i>Attulus saltator</i>	1
94	<i>Attulus zimmermanni</i>	1
95	<i>Dendryphantes rudis</i>	3, 5
96	<i>Euophrys frontalis</i>	3
97	<i>Evarcha arcuata</i>	1, 2
98	<i>Evarcha falcata</i>	1, 3
99	<i>Marpissa muscosa</i>	5
100	<i>Neon reticulatus</i>	3
101	<i>Phlegra fasciata</i>	1
	<b>18. Tetragnathidae</b>	
102	<i>Pachygnatha degeeri</i>	7
103	<i>Tetragnatha striata</i>	4
	<b>19. Theridiidae</b>	
104	** <i>Asagena meridionalis</i>	1, 3
105	<i>Crustulina guttata</i>	3
106	<i>Enoplognatha ovata</i>	5
107	<i>Episinus angulatus</i>	3
108	<i>Euryopsis flavomaculata</i>	3
109	<i>Parasteatoda tepidariorum</i>	5
	<b>20. Thomisidae</b>	
110	<i>Coriarachne depressa</i>	5



Закінчення табл. 1

1	2	3
111	<i>Ebrechtella tricuspидata</i>	2
112	<i>Misumena vatia</i>	5
113	<i>Ozyptila praticola</i>	3
114	* <i>Ozyptila scabricula</i>	1, 3
115	<i>Tmarus piger</i>	2
116	<i>Xysticus audax</i>	1, 3
117	<i>Xysticus cristatus</i>	1

1	2	3
118	<i>Xysticus kochi</i>	1
119	<i>Xysticus luctator</i>	3
120	<i>Xysticus striatipes</i>	1, 7
	<b>21. Titanoecidae</b>	
121	** <i>Titanoeca quadriguttata</i>	1
122	<i>Titanoeca schineri</i>	3
123	** <i>Titanoeca spominima</i>	1

**Висновки.** У результаті дослідження угруповань павуків Биківнянського лісового масиву знайдено 123 види, які належать до 21 родини, з них 26 видів із 13 родин указуються вперше для Чернігівського Полісся, а 14 видів із 8 родин – для території Українського Полісся. З урахуванням результатів власних фауністичних зборів і літературних даних список видів павуків Чернігівського Полісся нараховує щонайменше 389 видів із 29 родин. Незважаючи на близькість розташування міських забудов та значне рекреаційне навантаження, розраховані значення індексу видового різноманіття Шеннона є доволі високими: 4,277 біт для угруповань павуків псамофільного трав'янистого оселища та соснового лісу і 2,78 біт – для березового лісу. У ярусах рослинності та підстилці псамофільного трав'янистого оселища і соснового лісу знайдено по 72 види, у березовому лісі – 16 видів. Видовий склад угруповань павуків досліджених біотопів характеризується незначним рівнем спорідненості. Значення індексу фауністичної подібності Жакара для псамофільного трав'янистого оселища та соснового лісу дорівнює 0,23, для соснового та березового лісу – 0,1, для псамофільного трав'янистого оселища та березового лісу – 0,09. У лучному біотопі переважають фотофільні представники родин Gnaphosidae, Linyphiidae та Lycosidae, які разом становлять 56,9 % від виявлених тут видів. В угрупованні павуків соснового лісу переважають види з родин Linyphiidae, Lycosidae та Gnaphosidae (43,1 % від загалу), проте частка двох останніх родин порівняно з видовим угрупованням павуків лучного біотопу тут зменшується, натомість зростає частка лісових видів з родини Linyphiidae. Виявлено явище співіснування видів *Pisaura novicia* та *P. mirabilis*, обидва види – у ярусі хортобію псамофільного трав'янистого оселища.

**Список використаних джерел**

1. Ажеганова Н. С. Краткий определитель пауков (Aranei) лесной и лесостепной зоны СССР / Н. С. Ажеганова // Определ. издав. Зоол. инст. АН СССР. – Л.: Наука, 1968. – Вып. 98. – 149 с.
2. Гірна А. Я. Павуки вторинних екосистем Шацького національного природного парку / А. Я. Гірна // Екологічні проблеми навколишнього середовища та раціонального природокористування в контексті сталого розвитку: зб. матер. III Міжнар. наук.-практ. конф., присв. пам'яті д-ра с.-г. наук, проф. Ю. В. Пилипенка (22-23 жовтня 2020 року). – Херсон: "ОЛДИ-ПЛЮС", 2020. – С. 168–170.
3. Гірна А. Я. Рідкісні та маловідомі види павуків Волинського Полісся (Україна) / А. Я. Гірна // Наук. записки Держ. природознавчого музею. – 2021. – Вып. 37. – С. 215–222.
4. Гнелица В. А. Пауки сем. Linyphiidae поймы реки Ивот (Сумская область) / В. А. Гнелица // Заповідна справа в Україні. – 2000. – Т. 6. – Вып. 1–2. – С. 77–80.
5. Гриник Є. О. Павуки (Arachnida, Aranei) Ландшафтного заказника "Яхнівський" (Київська область) / Є. О. Гриник, Є. М. Сінгаєвський // Вісн. Київ. нац. ун-ту імені Тараса Шевченка. Серія "Біологія". – 2020. – Т. 83. – Вып. 4. – С. 33–37.
6. Евтушенко К. В. Эколого-фаунистические исследования пауков Черниговского Полесья / К. В. Евтушенко // Тр. зоол. ин-та АН СССР. – 1990. – Т. 226. – С. 113–115.
7. Евтушенко К. В. Пауки (Araneae) фауны Украинского Полесья: автореф. дис. ... канд. биол. наук: спец. 03.00.08 "Зоология" / Константин Вячеславович Евтушенко. – К., 1991. – 17 с.
8. Евтушенко К. В. Фаунистические комплексы пауков (Aranei) некоторых биотопов Черниговского Полесья / К. В. Евтушенко // Вестн. зоол. – 1991. – № 1. – С. 74–76.

9. Евтушенко К. В. Видовой состав и биотопическое распределение пауков (Aranei) Черниговского Полесья / К. В. Евтушенко // Ред. журнала "Вестн. зоол. АН УССР". – К., 1991. – 19 с. – Деп. в ВИНТИ 04.06.1991, № 2339–B91.
10. Евтушенко К. В. Эвсинантропные пауки (Aranei) Черниговского Полесья / К. В. Евтушенко // Изв. Харьк. отделения УЗО. – 2000. – Т. 8. – Вып. 2. – С. 184–185.
11. Евтушенко К. В. Структура угруповань павуків (Aranei) пригрунтового ярусу чотирьох типових біотопів Шацького національного природного парку / К. В. Евтушенко // Природа Західного Полісся та прилеглих територій: зб. наук. пр. – 2013. – № 10. – С. 124–130.
12. Маринич О. М. Фізична географія України: підручник. – 3-тє вид., стер. / О. М. Маринич, П. Г. Шищенко. – К.: Т-во "Знання", КОО, 2006. – 511 с.
13. Песенко Ю. А. Принципы и методы количественного анализа в фаунистических исследованиях / Ю. А. Песенко. – М.: Наука, 1982. – 287 с.
14. Spiders new to Norway (Arachnida, Araneae) with ecological, taxonomical and faunistic comments / K. Aakra, G. H. Morka, A. Antonson et al. // Norwegian Journal of Entomology. – 2016. – Vol. 63. – P. 6–43.
15. Almqvist S. Swedish Araneae. Part 2. Families Dictynidae to Salticidae / S. Almqvist // Insect Systematic and Evolution. – 2006. – Suppl. 63. – P. 285–603.
16. Gnelitsa V. A. The genus *Sintula* (Aranei, Linyphiidae) in Ukraine, with description of a new species / V. A. Gnelitsa // Vestnik zoologii. – 2012. – Vol. 46, № 1. – P. 16–23.
17. Eleven new spider species (Arachnida: Araneae) for Switzerland discovered in vineyards in Ticino – What are possible reasons? / A. Hänggi, A. Stäubli, X. Heer et al. // Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft. 2014. – Vol. 87. – P. 215–228.
18. Machač O. Several new for the Lithuanian fauna species of spiders (Araneae) / O. Machač, P. Ivinskis, J. Rimšaitė // Naujos ir retos Lietuvos vabzdžių rūšys. – 2016. – Vol. 28. – P. 121–126.
19. New data on *Pisaura novicia* (Aranei: Pisauridae) from Eastern Europe / A. A. Nadolny, A. V. Ponomarev, N. M. Kovblyuk et al. // Arthropoda selecta. – 2011. – Vol. 21, № 3. – P. 255–267.
20. Version 12.2022 / W. Nentwig, T. Blick, R. Bosmans et al. – Online at <https://www.araneae.nmbe.ch>, accessed on 10.12.2022.
21. Polchaninova N. Yu. Catalogue of the spiders (Arachnida, Aranei) of Left-Bank Ukraine / N. Yu. Polchaninova, E. V. Prokopenko // Arthropoda Selecta. – 2013. – Supplement № 2. – 268 p.
22. Polchaninova N. Yu. An updated checklist of spiders (Arachnida: Araneae) of Left-Bank Ukraine / N. Yu. Polchaninova, E. V. Prokopenko // Arachnologische Mitteilungen. – 2019. – Vol. 57. – P. 60–64.
23. World Spider Catalog (2022). World Spider Catalog – Version 23.5. – Natural History Museum Bern, online at <http://wsc.nmbe.ch>, accessed on 10.12.2022.

**Reference**

1. Azheganova N.S. Brief guide to spiders (Aranei) of the forest and forest-steppe zone of the USSR. Opred. Izd. Zool. inst. USSR Academy of Sciences. L., Nauka: 1968, (98). 149 p. Russian.
2. Hirna A.Ya. Spiders of the secondary ecosystems of the Shatskyi National Nature Park. Ecological problems of the environment and rational nature management in the context of sustainable development: a collection of materials of the III Inter. science and practice conf., adj. in memory of Doctor of Science, Professor Yu.V. Pylypenko (October 22-23, 2020). Kherson, "OLDI-PLUS", 2020.: 168-170. Ukrainian.
3. Hirna A.Ya. Rare and poorly known spider species of the Volhynian Polissia (Ukraine). Proceedings of the State Natural History Museum. 2021; (37): 215-222. Ukrainian.
4. Gnelitsa V.A. Spiders family Linyphiidae floodplains of the Ivot River (Sum region). Nature reserves in Ukraine. 2000; (6), 1-2: 77-80. Russian.
5. Grynyk E.O., Singaevsky E.N. The spiders (Arachnida, Aranei) in the Landscape reserve "Yakhnivsky" (Kiev region). Visn. Kyivsk. un-ty. im. Tarasa Shevchenko. Ser. boil. 2020; (83), 4: 33-37. Ukrainian.
6. Yevtushenko K.V. Ecological-faunistic researches of spiders of Chernihiv Polissia. Trudi Zool. Inst. AN USSR. 1990; (206): 113–115. Russian.
7. Yevtushenko K.V. Spiders (Araneae) of the fauna of Ukrainian Polissya [dissertation]. Kiev: I.I. Schmalhausen Institute of Zoology of National Academy of Sciences of Ukraine; 1991. 17 p. Russian.
8. Yevtushenko K.V. Faunal complexes of spiders (Aranei) in some biotopes of Chernihiv Polissia. Vestn. zool. 1991; (1): 74-76. Russian

9. Yevtushenko K.V. Species composition and biotopic distribution of spiders (Aranei) in Chernihiv Polissia. Vestn. zool. 1991; (Dep. at VINITI 04.06.1991, №2339 – B91): 19 p. Russian.
10. Yevtushenko K.V. Eusynthetic spiders (Aranei) of Chernihiv Polissia. Izv. Kharkovsk. entomol. obschch-va. 2000; 8 (2): 184-185. Russian.
11. Yevtushenko K.V. The structure of communities of spiders (Aranei) in the subsoil layer of four typical biotopes of the Shatskyi National Nature Park. Priroda Zahidnoho Polissia ta prilehliv teritorij. Zbirn. nauk. prac. 2013; (10): 124-130. Ukrainian.
12. Marynich O.M. Physical geography of Ukraine: Pidruchnyk–publ. 3. / O.M. Marunich, P.G. Shyschenko. – "Znanya", 2006 – 511 p. Ukrainian.
13. Pesenko Yu.A. Principles and methods of quantitative analysis in faunal studies. Moscow, Nauka: 1982. 287 p. Russian.
14. Aakra K., Morka G.H., Antonson A., Farlund M., Wrånes R.E., et al. Spiders new to Norway (Arachnida, Araneae) with ecological, taxonomical and faunistic comments. Norwegian Journal of Entomology. 2016; (63): 6-43.
15. Almqvist S. Swedish Araneae, part 2 – Families Dictynidae to Salticidae. Insect Systematic and Evolution. 2006; (63): 285-603.
16. Gnelitsa V.A. The genus *Sintula* (Aranei, Linyphiidae) in Ukraine, with description of a new species. Vestnik zoologii. 2012; (46), 1: 16-23.
17. Hänggi A., Stäubli A., Heer X., Trivellone V., Pollini Paltrinieri L., et al. Eleven new spider species (Arachnida: Araneae) for Switzerland discovered in vineyards in Ticino – What are possible reasons? Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft. 2014; (87): 215-228.
18. Machač O., Ivinskis P., Rimšaitė J. Several new for the Lithuanian fauna species of spiders (Araneae). Naujos ir retos Lietuvos vabzdžių rūšys. 2016; (28): 121-126.
19. Nadolny A.A., Ponomarev A.V., Kovblyuk N.M., Dvadnenko K.V. New data on *Pisaura novicia* (Aranei: Pisauridae) from Eastern Europe. Arthropoda selecta. 2011; (21), 3: 255-267.
20. Nentwig W., Blick T., Bosmans R., Gloor D., Hänggi A., Kropf C. – Version 12.2022. Online at <https://www.araneae.nmbe.ch>, accessed on 10.12.2022.
21. Polchaninova N.Yu., Prokopenko E.V. Catalogue of the spiders (Arachnida, Aranei) of Left-Bank Ukraine. Arthropoda Selecta. 2013; (2): 268 p.
22. Polchaninova N.Yu., Prokopenko E.V. An updated checklist of spiders (Arachnida: Araneae) of Left-Bank Ukraine. Arachnologische Mitteilungen. 2019; (57): 60-64.
23. World Spider Catalog (2022). World Spider Catalog. – Version 23.5. – Natural History Museum Bern, online at <http://wsc.nmbe.ch>, accessed on 10.12.2022.

Надійшла до редколегії 26.10.2022  
Отримано виправлений варіант 28.11.2022  
Підписано до друку 28.11.2022

Received in the editorial 26.10.2022  
Received version on 28.11.2022  
Signed in the press on 28.11.2022

E. Singayevskiy<sup>1</sup>, PhD,  
E. Hrynyk<sup>2</sup>, assessor on Forest direction,  
P. Balan<sup>1</sup>, PhD

<sup>1</sup>Taras Shevchenko National University of Kyiv, Kyiv, Ukraine,

<sup>2</sup>NGO "Ukrainian Nature Conservation Group", Kyiv, Ukraine

#### TO THE STUDY OF THE FAUNA OF SPIDERS (ARACHNIDA, ARANEI) OF THE CHERNIHIV POLISSIA: SPIDERS OF THE BYKIVNIAN FOREST AREA OF THE CITY OF KYIV

*For the first time, a study of the species composition of spiders of the Bykivnyan forest area, which is located within the eastern outskirts of the city of Kyiv and the southern borders of Chernihiv Polissia, was conducted. Vegetation layers and litter of pine and birch forests and psammophilous grass habitat were examined. 123 species of spiders belonging to 21 spider families have been identified. The most widely represented in the faunal assemblages are the family Linyphiidae – 28 species (22.8 % of the total number of species detected), Gnaphosidae – 17 (13.8 %) and Lycosidae – 15 species (12.2 %). *Pardosa lugubris* was the most massive species in the litter layer of the pine forest. The Lycosidae family is also the most widely represented in the litter layer, accounting for 41.8 % of the total number of specimens. The share of representatives of the Gnaphosidae and Linyphiidae families was 24.6 % and 12.5 %, respectively. Taking into account the literature data and the obtained results, the araneofauna of Chernihiv Polissia currently includes at least 389 species from 29 spider families. 26 species from 13 spider families were identified, which are indicated for the first time for Chernihiv Polissia, including 14 species from 8 spider families that are new to the territory of Ukrainian Polissia. For species new to the region, data on faunal material, period of time, place and the method of collection, ecological features and findings of these species on the territory of Ukrainian Polissia are given. Most of the species new to the Chernihiv Polissia have a wide range of distribution – 15 of them. There were species with European range type: *Lepthyphantes minutus*, *Trichoncus affinis*, *Typhochrestus digitatus* and *Titanoeca spominima*. The European-ancient Mediterranean habitat type is characteristic of 4 more species: *Alopecosa cursor*, *Lathys humilis*, *Drassyllus praeficus* and *Ozyptila scabricula*. European-Caucasian species: *Asagena meridionalis* and *Gibbaranea gibbosa*. With the Scythian type range of *Alopecosa taeniopus*. The fact of the coexistence of *Pisaura novicia* and *P. mirabilis*, which was previously described by other authors, was confirmed. Five species: *Hahnha nava*, *Centromerus incilium*, *Sintula spiniger*, *Stemonyphantes lineatus* and *Trochosa terricola* were found in all three types of biotopes investigated. The Jacquard index of faunal similarity showed a slight similarity of the species complexes of spiders of the pine forest and the psammophilic grassland habitat – 0.23, and the value of the Shannon index for both was identical – 4.277 bits, indicating a potentially high level of species richness of the spider fauna of the Bykivnyan forest area.*

**Keywords:** species composition, species diversity, Chernihiv Polissia, spiders, fauna, Bykivnyan forest area.

Наукове видання



**ВІСНИК**  
**КИЇВСЬКОГО НАЦІОНАЛЬНОГО УНІВЕРСИТЕТУ ІМЕНІ ТАРАСА ШЕВЧЕНКА**

**БІОЛОГІЯ**

**Випуск 4(91)**

Редактор *Н. Земляна*

**Оригінал-макет виготовлено ВПЦ "Київський університет"**

Автори опублікованих матеріалів несуть повну відповідальність за підбір, точність наведених фактів, цитат, статистичних даних, відповідної галузевої термінології, імен власних та інших відомостей. Редколегія залишає за собою право скорочувати та редагувати подані матеріали.



Формат 60x84<sup>1/8</sup>. Ум. друк. арк. 4,06. Наклад 300. Зам. № 222-10527.  
Гарнітура Arial. Папір офсетний. Друк офсетний. Вид. № Б4.  
Підписано до друку 22.12.22

Видавець і виготовлювач  
ВПЦ "Київський університет"

Б-р Тараса Шевченка, 14, м. Київ, 01601, Україна  
☎ (38044) 239 32 22; (38044) 239 31 72; тел./факс (38044) 239 31 28  
e-mail: vpc\_div.chief@univ.net.ua; redaktor@univ.net.ua  
http: vpc.univ.kiev.ua

Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 1103 від 31.10.02