

© Елисеєва І. В., Бабич Є. М., Білозерський В. І., Ждамарова Л. А., Колпак С. А.

УДК 616-097:579.871.1:576.524

**Елисеєва І. В., Бабич Є. М., Білозерський В. І., Ждамарова Л. А.,
Колпак С. А.**

**ВПЛИВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ БАКТЕРІАЛЬНИХ
АНТИГЕННИХ ПРЕПАРАТІВ ЗБУДНИКА ДИФТЕРІЇ,
ОДЕРЖАНИХ ЗА ДОПОМОГОЮ ФІЗИЧНИХ ЧИННИКІВ,
НА АДГЕЗІЮ ТЕСТ-ШТАМІВ *S. DIPHTHERIAE*
Державна установа «Інститут мікробіології та імунології
імені І. І. Мечникова НАМН України» (м. Харків)**

babych_em@ukr.net

Дане дослідження було виконано за темою НДР «Дослідження імуногенності дифтерійного анатоксину сумісно з поверхневими антигенами *S. diphtheriae* і методи подвійного контролю їх безпечності» (№ державної реєстрації: 0114U000246) у відповідності з планом науково-дослідних робіт Державної установи «Інститут мікробіології та імунології імені І. І. Мечникова НАМН України».

Вступ. Як відомо, дифтерійний анатоксин спрямований на формування гуморального анитоксичного дифтерійного імунітету і не перешкоджає колонізації збудником слизових оболонок верхніх дихальних шляхів, інвазії патогена в епітеліальні клітини й поширенню інфекції у вогнищі захворювання. В результаті, як показали події 90-х років минулого сторіччя на території країн СНД, незважаючи на масову імунопрофілактику дифтерії серед населення, котра здійснюється у більшості країн світу впродовж десятиріч, можливі епідемічні підйоми цієї небезпечної інфекції. Одним з ймовірних напрямків удосконалення існуючих дифтерійних вакцин є розробка бактеріального антигенного компонента, котрий володів би антиколонізаційною дією відносно збудника дифтерії та стимулював клітинний імунітет, і введення його у склад дифтерійної вакцини.

Раніше нами був запропонований спосіб отримання дифтерійного бактеріального антигена за допомогою ультразвукової дезінтеграції мікробної маси коринебактерій дифтерії [3]. В даному дослідженні ми приготували аналогічний антигенний препарат з використанням іншого фізичного фактору – електромагнітного випромінення надзвичайно високої частоти. Було вивчено дію обох антигенних препаратів на адгезію тест-штамів *S. diphtheriae* до еритроцитів людини 0 (I) групи крові.

Встановлення механізмів адгезії *Corynebacterium diphtheriae* має суттєве значення для розробки засобів специфічної профілактики колонізації патогеном слизових оболонок дихальних шляхів людини та розвитку стану бактеріоносійства, котре є основою епідемічного процесу дифтерії серед населення [2, 14]. Якщо механізми адгезії для грамнегативних бактерій вивчені в достатній мірі, перед дослідниками стоїть ще низка невирішених питань щодо адгезії грампозитивних бактерій [9].

За даними літератури відомо, що у *S. diphtheriae* адгезія первинно опосередковується філаментозними структурами, іменованими пілі або фімбрії, котрі є ковалентними полімерами набору білків піліна ковалентно прикріплених до бактеріальної клітинної стінки. *S. diphtheriae* продукує три різних структури пілей: SpaA-, SpaD- і SpaH-типи пілей. Подібно до інших пілей, прототип пілей SpaA складається з піліну SpaA, формуючого стрижень пілі, та двох малих пілінів SpaB і SpaC, розташованих на основі та на верхівці пілей, відповідно. Малі піліни SpaB/SpaC є вирішальними для бактеріального зв'язування з фарингеальними клітинами людини, і представляють великі адгезини коринебактерій. Подібно до багатьох грам-позитивних мікробів, складання коринебактеріальних пілей здійснюється шляхом дво-крокового механізму, за допомогою якого піліни ковалентно полімеризуються через ензим транспептидазу, іменовану пілін-специфічною сортазою. Генерований полімер пілей, відповідно, прикріплюється до пептидоглікану клітинної стінки через пілін основи за допомогою службової або не-полімеризуючої сортази SrtF, котра є гомологом сортази класу D і розташована в іншій області хромосоми, ніж п'ять класів C сортаз (транспептидаз), іменованих від SrtA до SrtE і кодованих трьома локусами пілей. За допомогою механізму, котрий каталізує фермент сортаза, багато поверхневих білків грам-позитивних бактерій ковалентно пов'язані з пептидогліканом клітинної стінки [12].

Відомими факторами адгезії *S. diphtheriae* є поверхневий білок ліпоарабіноманнан-подібний ліпоглікан CdiLAM, поверхневий білок DIP1281, поверхневі білки, іменовані від SpaA до SpaI, які кодуються трьома кластерами генів пілей, закріплені на клітинній стінці, кожний з котрих містить сортуєчий сигнал клітинної стінки з консервативним LPXTG мотивом [8, 10].

Кожний кластер генів пілей кодує різні структури пілей. Одержані антитіла проти індивідуальних пілінів; мічені золотом, вони виявлені при електронній мікроскопії [5-9, 13].

Під час колонізації слизових оболонок тканин-специфічна адгезія може залучати і поверхневі вуглеводи клітинної стінки бактерій, котрі зв'язують специфічні поверхневі лектини клітини хазяїна або,

навпаки, поверхневі бактеріальні протеїни зв'язують специфічні поверхневі вуглеводи або білки клітини хазяїна [1].

Ультраструктурний аналіз, проведений за допомогою атомно-силової мікроскопії, показав, що існує значна різниця у макромолекулярних поверхневих структурах штамів *S. diphtheriae* відносно числа та довжини пілей. Встановлено, що адгезія різних штамів *S. diphtheriae* до епітеліальних клітин та інвазія цих клітин не є строго парним процесом [11]. Також не знайдено кореляції між адгезією патогена і формуванням пілей та інвазією та формуванням пілей. Використовуючи РНК гібридизацію та Вестерн блоттинг спостерігалися паттерни експресії штам-специфічних пілей. Як показали вимірювання трансепітеліальної резистентності моношлюх клітин Детройт 562 і флуоресцентна мікроскопія, жоден з досліджених штамів *S. diphtheriae* не пошкоджував життєздатність клітини хазяїна. Отже можна припустити, що штам *S. diphtheriae* можуть використовувати епітеліальні клітини як нішу оточуючого середовища, що забезпечує захист проти антитіл і макрофагів [11]. Враховуючи наведені дані, на даному етапі досліджень неможливо зрозуміти і передбачити особливості колонізаційного процесу різних штамів кориннебактерій дифтерії.

Метою досліджень стало вивчення впливу експериментальних бактеріальних антигенних препаратів збудника дифтерії, одержаних за допомогою фізичних чинників – ультразвукового опромінення (УЗО) та електромагнітного випромінювання надзвичайно високої частоти (ЕМВ НЗВЧ) на адгезивні властивості тест-штаму *S. diphtheriae*.

Об'єкт і методи дослідження. Для вивчення впливу ультразвукового опромінення на адгезивні властивості культури *S. diphtheriae* були взяті музейний штам *S. diphtheriae* var. *gravis*, tox+, № 255 і циркулюючий штам *S. diphtheriae* var. *gravis*, tox+, new та експериментальні бактеріальні антигенні препарати двох серій, одержані з виробничого штаму *S. diphtheriae* var. *gravis*, tox+, massachussets, за авторським способом [3]. Антигенні препарати були виготовлені за допомогою ультразвукової дезінтеграції двома різними джерелами випромінювання в умовах виробництва ПАТ «Фармстандарт-Біолік» і містили різні концентрації білку – від 0,02 мг/мл до 0,14 мг/мл. Дослідження адгезії проводилися за відомим методом [4]. Досліджувані експериментальні бактеріальні антигенні препарати додавалися до формалінізованих еритроцитів людини групи крові 0 (I) в еквівалентному об'ємі за півгодини до внесення суспензії тест-штамів збудника та витримувалися в умовах термостату при температурі 37°C; за контроль був взятий фізіологічний розчин.

Дія іншого фізичного фактору – електромагнітного випромінювання надзвичайно високої частоти (ЕМВ НЗВЧ, 61,0 ГГц) на адгезивні властивості музейної культури *S. diphtheriae* var. *gravis*, tox+, №

255 – досліджувалася із застосуванням генератора електромагнітного випромінювання, наданого Інститутом радіофізики і електроніки НАНУ ім. О. Я. Ускова. Всього було приготовлено 4 суспензії мікробних клітин: 2 дослідні – з культури *S. diphtheriae* № 255, опроміненої ЕМВ НЗВЧ (61 ГГц) впродовж 4 годин, та 2 контрольні – з частини тієї ж самої культури, але не опроміненої ЕМВ НЗВЧ. Концентрацію мікроорганізмів було взято в двох варіантах: 10⁹ КУО/мл та 14•10⁹ КУО/мл як для дослідних, так і для контрольних суспензій.

До пробірок № 1 (дослід) і № 2 (контроль) вносили по 0,5 мл зависі формалінізованих еритроцитів людини та, відповідно, по 0,5 мл досліджуваних антигенних препаратів (СНД та СНк), виготовлених з опроміненої та не опроміненої культури *S. diphtheriae*. Суміші інкубували при температурі 37°C впродовж 30 хвилин, час від часу збовтуючи. До пробірок із сумішами додавали по 0,5 мл добової тест-культури *S. diphtheriae* № 255 в концентрації 10⁹ КУО/мл. Знов інкубували суміші у термостаті при температурі 37°C впродовж 30 хвилин, час від часу збовтуючи.

На ретельно знежирених предметних скельцях готували мазки, котрі висушували при кімнатній температурі, фіксували фіксатором Май-Грюнвальд та фарбували за Романовським-Гімзою. Проводили мікроскопію, підраховуючи кількість еритроцитів, що адгезували бактерії, та кількість бактерій, адгезованих на кожному з них. В кожному препараті досліджували 50 еритроцитів.

Результати досліджень та їх обговорення. За результатами мікроскопії мазків визначали наступні показники: середній показник адгезії (СПА), коефіцієнт адгезії (КА) та індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ). У нижченаведених **таблицях** представлені середні показники адгезії двох тест-штамів *S. diphtheriae*, одержані під впливом експериментальних бактеріальних антигенних препаратів, виготовлених за допомогою ультразвукової дезінтеграції (**табл. 1, 2**).

Підсумовуючи результати, наведені у **таблицях 1 і 2**, можна стверджувати, що експериментальні бактеріальні антигенні препарати обох серій достовірно підвищили всі показники адгезії для обох тест-штамів *S. diphtheriae*: СПА – у 2,2 рази та у 1,6, КА – у 1,4 рази та у 1,2 рази, ІАМ – у 1,4 рази та у 1,7 рази, відповідно (t>2; p<0,05). Одержані результати дають підстави вважати, що експериментальні бактеріаль-

Таблиця 1.

Показники адгезії тест-штаму *S. diphtheriae* var. *gravis*, tox+, № 255 під впливом експериментальних бактеріальних антигенних препаратів збудника дифтерії, виготовлених за допомогою ультразвукової дезінтеграції

Середні показники адгезії	Антигенні препарати				
	К	С1	С2 1:10	С2 1:30	С2 1:100
СПА	1,55±0,015	3,15±0,02	3,2±0,01	3,3±0,02	3,65±0,025
КА	67,0±0,3	79,0±0,3	77,35±0,4	77,7±0,29	73,65±0,075
ІАМ	2,5±0,03	3,95±0,05	4,15±0,01	4,2±0,02	4,25±0,025

ні антигенні препарати, виготовлені за допомогою ультразвукової дезінтеграції мікроорганізмів, містили молекулярні структури, котрі сприяли адгезії тест-штамів дифтерії до формалінованих еритроцитів людини.

У таблиці 3 наведені результати вивчення дії антигенного препарату, одержаного під впливом ЕМВ НЗВЧ.

Проведені дослідження та розрахунки показали, що попереднє витримання формалінованих еритроцитів з препаратами, виготовленими за допомогою ЕМВ НЗВЧ, призводило до зниження індексу адгезивності мікроорганізмів у 1,8 рази у порівнянні з контролем ($t > 2$; $p < 0,05$). При цьому рівень адгезії з інтервалу $2,5 \leq IAM \leq 4,0$ – група середньоадгезивних мікроорганізмів змінився на інтервал $1,76 \leq IAM \leq 2,5$ – група низькоадгезивних мікроорганізмів.

Отже, експериментальні бактеріальні антигенні препарати, виготовлені за допомогою ЕМВ НЗВЧ, діяли протилежно у порівнянні з дією УЗО, зменшуючи показники адгезії тест-штаму.

Висновки. Таким чином, різні фізичні фактори по-різному впливають на поверхневі структури бактеріальних клітин коринебактерій, про механізми їх дії на даному етапі досліджень можна лише здогадуватися. Можливо, при ультразвуковому опроміненні у рідку фазу суспензії вивільняються поверхневі білки-піліни, на основі котрих здійснюється складання (полімеризація) пілей і прикріплення їх до пептидоглікану клітинної стінки коринебактерій. При збереженні активності полімеризуючих сортаз, здійснюючих складання пілей, адгезивність

тест-штаму підвищується. Дезінтегруюча дія ЕМВ НЗВЧ, очевидно, відрізняється у порівнянні з дією УЗО і призводить до відокремлення поверхневих молекулярних структур, котрі конкурентно блокують адгезивні рецептори еритроцитів, і при внесенні суспензії тест-штаму мікробні клітини в певній мірі відсторонюються від прикріплення до еритроцитів, і адгезивність тест-культури зменшується.

Перспективи подальших досліджень. Щоб робити остаточні висновки про механізми процесів адгезії коринебактерій дифтерії за участю їх поверхневих молекулярних структур, необхідні дослідження процесів колонізації патогена на молекулярному рівні.

Таблиця 2.

Показники адгезії тест-штаму *C. diphtheriae* var. *gravis*, tox+, new під впливом експериментальних бактеріальних антигенних препаратів збудника дифтерії, виготовлених за допомогою ультразвукової дезінтеграції

Середні показники адгезії	Антигенні препарати				
	K	C1	C2 1:10	C2 1:30	C2 1:100
СПА	1,9±0,015	3,35±0,02	3,1±0,025	3,05±0,015	2,85±0,015
КА	64,0±0,23	75,3±0,19	72,65±0,35	76,3±0,225	73,0±0,1
IAM	2,95±0,015	3,55±0,045	4,3±0,025	3,95±0,017	3,9±0,015

Таблиця 3.

Показники адгезії тест-штаму *C. diphtheriae* var. *gravis*, tox+, № 255 під впливом експериментальних бактеріальних антигенних препаратів, виготовлених з опроміненої ЕМВ НЗВЧ (СНд) та не опроміненої (СНк) дифтерійної культури

Оптична щільність суспензій	СПА		КА		IAM	
	СНд	СНк	СНд	СНк	СНд	СНк
1 млрд.	1,7±0,04	3,4±0,04	68,7±0,9	86,3±0,2	2,3±0,07	4,0±0,06
14 млрд.	1,1±0,02	2,6±0,05	59,0±0,5	75,4±0,15	1,9±0,01	3,5±0,07

Література

1. Абросимова О.В. Некоторые аспекты действия бактериального лектина на фагоцитирующие макрофаги мышей / О.В. Абросимова, Е.А. Горельникова, Е.И. Тихомирова, Л.В. Карпунина // Успехи современного естествознания. — 2004. — № 4. — С. 97-98.
2. Елисеева И.В. Анти-адгезивная стратегия в разработке комплексных противодифтерийных вакцин как перспективная мера снижения циркуляции *C. diphtheriae* среди населения / Елисеева И.В., Бабич Е. М., Ждамарова Л. А., Белозерский В. И., Исаенко Е. Ю., Колпак С. А. // Журнал «Детские инфекции», М.: 2015. - № 3. - С.30-33
3. Патент на Корисну модель № 86891. Спосіб отримання бактерійного дифтерійного антигену / Бабич Є.М., Єлисєєва І.В., Білозерський В.І., Ждамарова Л.А., Ісаєнко О.Ю., Бобирєва І.В., Горбач Т.В.; зареєстрований в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі 10.01.2014, номер заявки у 2013 097794; дата подання заявки: 06.08.2013; дата публікації 10.01.2014; Бюл. № 1.
4. Предтеченский В.С. Руководство по клиническим лабораторным исследованиям / В.С. Предтеченский, Е.А. Кост, Л.Г. Смирнова. — М.: Медицина, 1964. — 960 с.
5. Kisiela D.I. Conformational inactivation induces immunogenicity of the receptor-binding pocket of a bacterial adhesin / D.I. Kisiela, V.B. Rodriguez, V. Tchesnokova, H. Avagyan, P. Aprikian, Y. Liu, X.R. Wu, W.E. Thomas, E.V. Sokurenko // Proc Natl Acad Sci U S A. — 2013. — Nov 19; 110 (47). — P. 19089-19094.
6. Krachler A.M. Targeting the bacteria-host interface: strategies in anti-adhesion therapy / A.M. Krachler, K. Orth // Virulence. — 2013. — May 15; 4 (4). — P. 284-294.
7. Lorenzo-Gymez M.F. Evaluation of a therapeutic vaccine for the prevention of recurrent urinary tract infections versus prophylactic treatment with antibiotics / M.F. Lorenzo-Gymez, B. Padilla-Fernández, F.J. Garcna-Criado, J.A. Miryn-Canelo, A. Gil-Vicente, A. Nieto-Huertos [et al.] // Int Urogynecol J. — 2013. — 24. — P. 127-134.

8. Mandlik A. Pili in Gram-positive bacteria: assembly, involvement in colonization and biofilm development [Electronic resource] / A. Mandlik, A. Swierczynski, A. Das, H. Ton-That // Trends Microbiol. — 2008. — Jan; 16 (1). — P. 33-40.
9. Mokrousov I. Corynebacterium diphtheriae: genome diversity, population structure and genotyping perspectives [Text] / I. Mokrousov // Infect Genet Evol. — 2009. — Jan; 9 (1). — P. 1-15.
10. Moreira L.O. Novel lipoarabinomannan-like lipoglycan (CdiLAM) contributes to the adherence of Corynebacterium diphtheriae to epithelial cells [Text] / L.O. Moreira, A.L. Mattos-Guaraldi, A.F. Andrade // Arch Microbiol. — 2008. — Nov; 190 (5). — P. 521-530.
11. Ott L. Strain-specific differences in pili formation and the interaction of Corynebacterium diphtheriae with host cells / L. Ott, M. Hüller, J. Rheinlaender, T.E. Schdffer, M. Hensel, A. Burkovski // BMC Microbiol. — 2010. — Oct 13; 10. — P. 257.
12. Swaminathan A. Housekeeping sortase facilitates the cell wall anchoring of pilus polymers in Corynebacterium diphtheriae / A. Swaminathan, A. Mandlik, A. Swierczynski, A. Gaspar, A. Das, H. Ton-That // Mol Microbiol. — 2007. — Nov; 66 (4). — P. 961-974.
13. Scott J.R. Pili with strong attachments: Gram-positive bacteria do it differently / J.R. Scott, D. Zdhner // Mol Microbiol. — 2006. — Oct; 62 (2). — P. 320-330.
14. Yelyseyeva I.V. Anti-adhesive Therapies as a Contemporary Means to Fight Infectious Diseases and Adherence Factors of Corynebacteria diphtheriae / I.V. Yelyseyeva, Ye.M. Babych, L.A. Zhdamarova, V.I. Belozersky, Ye.Yu. Isayenko, S.A. Kolpak // Annals of Mechnikov Institute. — 2014. — № 2. — P. 7-19. (www.imiamn.org.ua/journal.htm).

УДК 616-097:579.871.1:576.524

ВПЛИВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ БАКТЕРІАЛЬНИХ АНТИГЕННИХ ПРЕПАРАТІВ ЗБУДНИКА ДИФТЕРІЇ, ОДЕРЖАНИХ ЗА ДОПОМОГОЮ ФІЗИЧНИХ ЧИННИКІВ, НА АДГЕЗІЮ ТЕСТ-ШТАМІВ С. DIPHThERIAE **Елисеєва І. В., Бабич Є. М., Білозерський В. І., Ждамарова Л. А., Колпак С. А.**

Резюме. Показано, що ультразвукове опромінення (130 Гц) і вплив електромагнітного випромінювання надзвичайно високої частоти (ЕМВ НЗВЧ, 61 ГГц) по-різному впливають на поверхневі структури мікробної суспензії *Corynebacteria diphtheriae*. Одержані на основі опромінення вказаними фізичними факторами дифтерійні бактеріальні антигенні препарати відмінним чином впливали на процеси адгезії тест-штамів *C. diphtheriae* до еритроцитів людини 0 (I) групи крові. Експериментальні препарати, одержані під впливом ультразвуку, істотно підвищували показники адгезії тест-штамів дифтерії до еритроцитів ($t > 2$; $p < 0,05$). Антигенні препарати, виготовлені за допомогою ЕМВ НЗВЧ, мали протилежну дію: індекс адгезивності мікроорганізмів зменшився у 1,8 рази у порівнянні з контролем ($t > 2$; $p < 0,05$).

Ключові слова: *Corynebacteria diphtheriae*, бактеріальний антиген, адгезія, ультразвукове опромінення, електромагнітне опромінення надзвичайно високої частоти.

УДК 616-097:579.871.1:576.524

ВЛИЯНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ АНТИГЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ ДИФТЕРИИ, ПОЛУЧЕННЫХ ПРИ ПОМОЩИ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ, НА АДГЕЗИЮ ТЕСТ-ШТАММОВ С. DIPHThERIAE **Елисеєва І. В., Бабич Є. М., Білозерський В. І., Ждамарова Л. А., Колпак С. А.**

Резюме. Показано, что ультразвуковое облучение (130 Гц) и воздействие электромагнитного излучения сверхвысокой частоты (ЭМИ СВЧ, 61 ГГц) по-разному воздействует на поверхностные структуры микробной суспензии *Corynebacteria diphtheriae*. Полученные на основе облучения этими физическими факторами дифтерийные бактериальные антигенные препараты различным образом влияли на процессы адгезии тест-штаммов *C. diphtheriae* к эритроцитам человека группы крови 0 (I). Экспериментальные препараты, полученные под воздействием ультразвука существенно повышали показатели адгезии тест-штаммов дифтерии к эритроцитам ($t > 2$; $p < 0,05$). Антигенные препараты, полученные при помощи ЭМИ СВЧ, оказывали противоположное действие: индекс адгезивности микроорганизмов уменьшился в 1,8 раза по сравнению с контролем ($t > 2$; $p < 0,05$).

Ключевые слова: *Corynebacteria diphtheriae*, бактериальный антиген, адгезия, ультразвуковое облучение, электромагнитное облучение сверхвысокой частоты.

UDC 616-097:579.871.1:576.524

EFFECT OF EXPERIMENTAL PREPARATIONS OF DIPHThERIA BACTERIAL ANTIGENS, OBTAINED BY PHYSICAL FACTORS ON ADHESION OF TEST STRAINS OF C. DIPHThERIAE **Yelyseyeva I. V., Babych Ye. M., Belozersky V. I., Zhdamarova L. A., Kolpak S. A.**

Abstract. As is known, a diphtheria toxoid's directed to the formation of humoral antitoxic diphtheria immunity and does not prevent colonization of the pathogen of the mucous membranes of the upper respiratory tract, its invasion into epithelial cells and the spread of infection in the outbreak of disease. As the events of the 90s of the last century on the territory of countries of the former USSR have shown, despite of mass immunization among the population, which was realized in most countries of the world for decades, epidemic rises of this dangerous infection are probable. A possible ways to improve of existing diphtheria vaccines is a development of bacterial antigenic component, which would have the anticolonization effect on diphtheria pathogen and stimulate cell-mediated immunity, and its introduction into the diphtheria vaccine. If, according to the literature, the mechanisms of adhesion of Gram-negative bacteria sufficiently examined, the researchers is still face a number of unresolved issues in relation to the adhesion of Gram-positive bacteria. For example, ultrastructural analysis carried out by means of atomic force microscopy showed that there was a significant difference in the surface of macromolecular

structures of *C. diphtheriae* strains relative to the amount and length of the pili. It is found that the adhesion of different strains of *C. diphtheriae* to epithelial cells and invasion of these cells is not strictly coupled process. Also a correlation between the pathogen adhesion and formation of pili and the invasion and the formation of pili did not find. Using RNA hybridization and Western blotting were observed expression patterns of strain-specific pili. So, considering the given literature data, at this stage of research it is impossible to understand and anticipate the particular colonization process of different strains of *C. diphtheriae*. We have previously proposed a method of producing diphtheria bacterial antigen by ultrasonic disintegration of microbial mass of *Corynebacterium diphtheriae*. In this study, we obtained a similar antigen preparation using another physical factor — electromagnetic radiation of ultrahigh frequency. It was studied the action of both antigenic preparations on the adhesion of test strains *C. diphtheriae* to human erythrocytes of blood group 0 (I). It is shown that the ultrasonic irradiation (130 Hz) and the impact of electromagnetic radiation of ultra-high frequency (EMR UHF, 61 GHz) in different ways affected the surface structures of the microbial suspension of *Corynebacteria diphtheriae* and had the different effects on the processes of adhesion. Experimental antigenic preparations obtained under the influence of ultrasound significantly increased all indexes of adhesion of diphtheria test strains to red blood cells ($t > 2$; $p < 0.05$). These results give grounds for assuming that the investigated antigenic preparations contain a molecular structure which contributed to the adhesion of test strains of diphtheria to human formalinized red blood cells. The antigenic preparations obtained using EMR UHF, has the opposite effect: the index of adhesion of microorganisms decreased in 1,8 times compared to the control ($t > 2$; $p < 0.05$). Probably the action of EMR UHF leads to the separation of the surface molecular structures that competitively block erythrocyte adhesion receptors. When making a suspension of *Corynebacterium* test strain microbial cells are removed from attachment to the erythrocytes to a certain extent and test culture adhesiveness decreases. To clarify the essence of the processes of adhesion *Corynebacterium diphtheriae*, it's necessary to investigate pathogen colonization processes at the molecular level.

Keywords: *Corynebacteria diphtheriae*, bacterial antigen, adhesion, ultrasonic radiation, ultrahigh frequency electromagnetic radiation.

Рецензент — проф. Лобань Г. А.
Стаття надійшла 06.10.2016 року