

УДК 578.861.2:534.321.9

## ДІЯ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА СФОРМОВАНІ БІОПЛІВКИ ТА ЗДАТНІСТЬ ДО ЇХ ФОРМУВАННЯ *S.AUREUS*

Мішина М.М.

Харківський національний медичний університет

Розвиток і характер гнійних післяопераційних ускладнень залежить по-перше, від властивостей мікроорганізмів, їх мутації та появи нових ізолятів, а у відомих патогенів розвиваються захисні механізми проти застосованих протимікробних засобів [1]. Результатом такого стану речей є зниження ефективності антибактеріальної профілактики й терапії, збільшення числа резистентної мікрофлори, неухильне зростання кількості гнійно-септичних захворювань [2, 3] і ускладнень у післяопераційному періоді [4]. Одним з основних факторів, що впливають на частоту розвитку гнійно-септичних ускладнень в хірургічній практиці, є формування біоплівки мікроорганізмами [5, 6].

Великою проблемою є те, що біоплівки утворюються на поверхні виробів медичного призначення – катетерах, дренажних пристроях, ендотрахеальних трубках, імплантатах, хірургічних нитках. Це стає причиною тяжких ускладнень гнійно-запальних процесів або основою несприятливого перебігу післяопераційного періоду та формування хронічних вогнищ запалення [7, 8].

Багатьма науковими дослідниками показано, що найчастіше етіологічними чинниками гнійно-запальних післяопераційних ускладнень є стафілококи [9, 10]. Висока летальність при стафілококових інфекціях пов'язана з індукуванням факторів патогенності та переважанням полірезистентних до антибіотиків штамів [11].

Незважаючи на розробку сучасних препаратів і впровадження новітніх технологій для боротьби з патогенними мікроорганізмами, питання терапії гнійно-запальних процесів залишається відкритим.

Тому дана робота присвячена вивченню впливу ультразвукового випромінювання на сформовані біоплівки та здатність до вторинного формування біоплівок ізолятами *S.aureus*.

### Матеріали й методи

Матеріал від хворих з гострою деструктивною пневмонією забирали та доставляли в лабораторію згідно з вимогами взяття і доставки матеріалу для мікробіологічних досліджень, запропонованих медичною академією післядипломної освіти ім. П.Л. Шупика, м. Київ [12]. Матеріалом для дослідження служили: ранава тканина, гній з плевральних порожнин та абсцесів легенів, перев'язувальний і шовний матеріал, катетери та

дренажні конструкції. Вилучення бактеріальної культури проводилося за загальноприйнятими методами [13]. Приготування суспензій мікроорганізмів із визначеною концентрацією мікробних клітин проводилося за допомогою електронного приладу Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema a.s., Чехія) за шкалою McFarland згідно з інструкцією до приладу.

Ферментативну ідентифікацію проводили за допомогою ідентифікаційних наборів МІКРО-ЛА-ТЕСТ, які призначені для проведення стандартної ідентифікації з використанням мікрометодів і дозволяють проводити ідентифікацію більшості клінічно важливих мікроорганізмів у короткий термін.

Вимірювання оптичної щільності біоплівки, утвореної мікроорганізмами, збудниками гнійно-запальних процесів, виконували на поверхні 96-коміркової полістиролової панелі після інкубації інокуляту впродовж 24 годин [14]. Після інкубації інокульовані дослідні біоплівки мікроорганізмів розміщували у зону дії ультразвукового випромінювання (ультразвукові хвилі низької інтенсивності від 2 до 3 Вт/см<sup>2</sup>; робоча частота коливань – 26,5 кГц; амплітуда коливань – від 50 до 80 мкм) протягом 10 хвилин, а потім за порівнянням оптичної щільності дослідних та контрольних сформованих біоплівок робили висновок про ступінь руйнування біоплівок. Планктонні клітини засівали на поживний агар, термостатували протягом доби, готували бактеріальну суспензію й інокулювали у комірки планшету, додавали суспензійне поживне середовище й термостатували у вологій камері протягом доби. Далі оцінювали ступінь агрегації мікробних клітин. Кількісним вираженням ступеню руйнування біоплівки й здатності до агрегації опромінених планктонних клітин є значення оптичної щільності на спектрофотометрі «Multiskan EX 355» при 540 нм. Результат визначався в умовних одиницях оптичної щільності (од.ощ.) біоплівкоутворення мікроорганізмами [15].

Для статистичної обробки результатів використовували програму Excel для персонального комп'ютера й Biostat [16, 17].

### Результати дослідження та їх обговорення

У результаті проведення дослідження впливу випромінювання ультразвуком *in vitro* на суспензійну культуру ізолятів *S.aureus* було встановлено (рис.1), що після опромінення суспензійної культури *S.aureus* протягом 10 хвилин ультразвуковими хвилями низької інтенсивності та інкубації протягом доби при  $t=37^{\circ}$  С у вологій камері спостерігається тенденція до зниження оптичної щільності біомаси, що складається з планктонних клітин й сформованої біоплівки порівняно з оптичною щільністю біоплівки *S.aureus* до опромінення ( $0,59\pm 0,06$  й  $0,65\pm 0,06$  од.ощ. відповідно), а щільність добових біоплівок була нижче за контрольні значення у 1,8 рази ( $1,28\pm 0,27$  й  $2,26\pm 0,26$  од.ощ. відповідно).

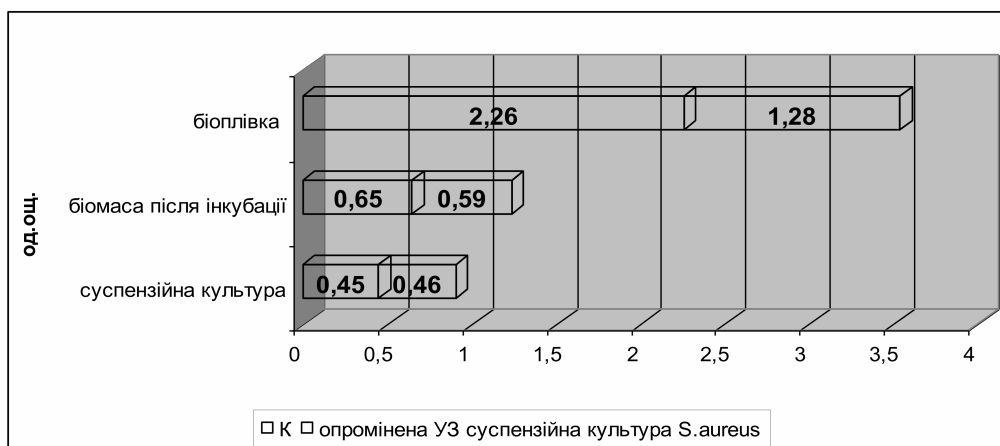


Рис. 1. Дія ультразвукового випромінювання протягом 10 хвилин на суспензійну культуру ізолятів *S.aureus*.

При визначенні впливу ультразвукового випромінювання на добові сформовані біоплівки ізолятів *S.aureus* було встановлено (рис.2), що під впливом застосування ультразвукового випромінювання здатність

до формування нових біоплівок й до агрегації знижується у 2,3 рази ( $1,73 \pm 0,36$  й  $3,99 \pm 0,16$  од. оц. відповідно).

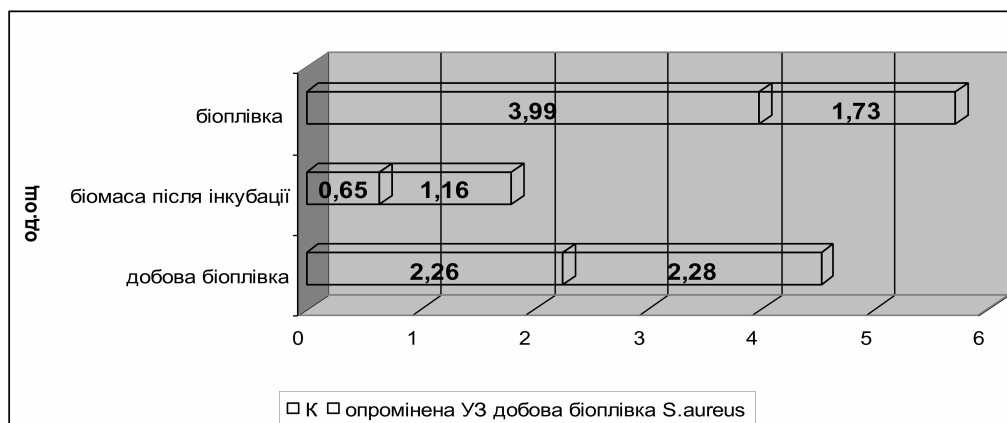


Рис.2. Вплив УЗ випромінювання на сформовані добові біоплівки *S.aureus*.

Аналізуючи результати щодо ультразвукового опромінення добової біомаси ізолятів *S.aureus* можна констатувати той факт, що відбувається пригнічення

здатності до формування біоплівок у 3,6 рази (рис.3) порівняно з контролем ( $1,11 \pm 0,35$  й  $3,99 \pm 0,16$  од.оц. відповідно).

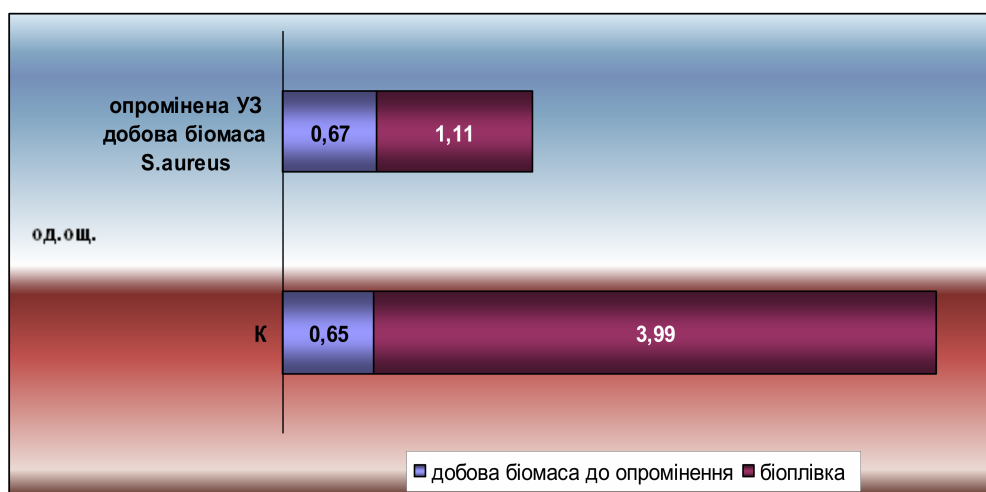


Рис.3. Вплив УЗ випромінювання на добову біомасу штамів *S.aureus*.

Таким чином, проведені дослідження дозволили встановити, що для попередження утворення біоплівки *S.aureus*, а також для інгібіції сформованих біоплівки *S.aureus* доречно використовувати дію низькоінтенсивного ультразвукового випромінювання як на планктонні клітини, так й на добову біомасу *S.aureus* та біоплівку.

## References

1. Gaydash I.S. Sensitivity to antibiotics of causative agents of surgical inflammatory diseases / I.S. Gaydash, V.V. Flegontova, M.Yu. Shevchenko [et al.] // Ukraine Chemotherapeutic Journal. – 2001. – № 2. – P. 29-32.
2. Grigoriev E.G. Surgery of severe purulent processes. – Novosibirsk: Nauka, 2000. – 314 p.
3. Zaslavsky N.V. Survival features of bacteria in microbial communities / Zaslavskaya N.V., Artyomenko N.K., Chizhevskaya M.M., Tets V.V. // Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. – 2000. – № 2. – P. 2-19.
4. Iftodiy A.G. Prevention and complex treatment of postoperative inflammatory complications in abdominal surgery / Iftodiy A.G., Pischak V.P. Sydoruk I.Y. – Chernivtsi: Med. Academy, 2004. – 200 p.
5. Ilina T.S. Biofilms as a way of bacterial existence in environment and host: the phenomenon, genetic control and systems for regulation of their development / Ilina T.S., Romanova Yu.M., Gunzburg A.L. // Genetics. – 2004. – № 40 (11). – P. 1-12.
6. Mavrov I.I. Quorum sensing and biofilms in microorganisms. Biofilms and the problem of antibiotic therapy effectiveness / Mavrov I.I., Vasilchenko V.N., Belozyorov A.P. // Dermatology and Venerology. – 2007. – № 4 (38). – P. 19-22.
7. Oleskin A.V. Colonial organization and intercellular communication in microorganisms / Oleskin A.V., Botvinko I.V., Tsavkelova E.A. // Soros Educational Journal. – 2003. – Volume 2. – № 7. – P. 24-32.
8. Costerton J. W., Stewart P. S., Greenberg E. P. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections// Science. – 1999. – V. 284. – P. 1318– 1322.
9. Maliovaniy V.V. Complex treatment of purulent destructive lung disease / Maliovaniy V.V., Rudick V.D. // Galician Drug Gazette. – 2002. – № 3, P.199-200.
10. Donlan, R.M. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms / R.M. Donlan, J.W. Costerton // Clin. Microbiol. Rev. – 2002. – Vol. 15, № 2. – P. 167–193.
11. Fadeev S.B. Biofilm formation by causative agents of surgical soft tissue infections / Fadeev S.B., Nemtseva N.V. // Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology. – 2009. – № 4. – P. 114-117.
12. Bilko I.P. Requirements for taking and delivering material for microbiological study / Bilko I.P. // Current Infections. – 2001. – №3. – P. 106-109.
13. Guidelines for the use of standardized microbiological (bacteriological) methods in clinical diagnostic laboratories / Annex I to the Order of the Ministry of Health № 535 of 22 April 1985. - 123 p.
14. Patent for Utility Model 47944 Ukraine, IPC G09B23/00. Reproduction of microbial biofilms in vitro / A.Ya. Tsyganenko, M.M. Mishina, R.A. Kurbanov (UA); Kharkiv National Medical University. – № u200910353; Appl. 12.10.2009, Publ. 25.02.2010, Bull. № 4.
15. Patent for Utility Model 81485 Ukraine, IPC G01N21/01. Method of evaluating the effectiveness of low-intensity ultrasound radiation exposure to the destruction of primary biofilms and prevention of the formation of secondary biofilms by microorganisms / Davydenko V.B., Davydenko N.V., Paschenko Yu.V., Mishina M.M., Mishin M.Yu., Katasonov Yu.O., Dubovik O.S., Kharkiv National Medical University. – № u2013 02375, Appl. 25.02.2013, Publ. 06.25.2013, Bull. № 12.
16. Lapach S.N. Statistical methods in biomedical studies using Excel / Lapach S.N., Chubenko A.V., Babich P.N. – K.: MORION, 2000. – 320 p.
17. Methods of statistical processing of medical information for research / V.P. Osipov, E.M. Lukyanova, Yu.G. Antipkin [et al.] – K.: Planet of Humans, 2002. –200 p.

УДК 578.861.2:534.321.9

## ДІЯ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ НА СФОРМОВАНІ БІОПЛІВКИ ТА ЗДАТНІСТЬ ДО ЇХ ФОРМУВАННЯ *S.AUREUS*

Мішина М.М.

Проведено мікробіологічне дослідження клінічного матеріалу, виділеного від хворих з гнійно-запальними процесами, з метою виявлення здатності до утворення біоплівки, а також вивчення впливу низькоінтенсивного ультразвукового випромінювання на сформовані біоплівки та їх здатність до агрегації. Проведені дослідження показали, що низькоінтенсивне ультразвукове випромінювання здатне руйнувати сформовані біоплівки і подавляти здатність мікрофлори до утворення вторинних біоплівки.

**Ключові слова:** ультразвукове випромінювання, біоплівки, *S.aureus*.

УДК 578.861.2:534.321.9

## ДЕЙСТВИЕ УЛЬТРАЗВУКОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ НА СФОРМИРОВАННЫЕ БИОПЛЕНКИ И СПОСОБНОСТЬ К ИХ ФОРМИРОВАНИЮ *S.AUREUS*

Мишина М.М.

Проведено микробиологическое исследование клинического материала, выделенного от больных с гнойно-воспалительными процессами, с целью обнаружения способности к образованию биопленок, а также изучения влияния низкоинтенсивного ультразвукового излучения на сформированные биопленки и их способность к агрегации. Проведенные исследования показали, что низкоинтенсивное ультразвуковое излучение способно разрушать сформированные биопленки и подавлять способность микрофлоры к образованию вторичных биопленок.

**Ключевые слова:** ультразвуковое излучение, биопленки, *S.aureus*.

UDK 578.861.2:534.321.9

## EFFECT OF ULTRASOUND RADIATION ON FORMED BIOFILMS AND ABILITY TO THEIR FORMATION IN *S.AUREUS*

Mishina M.M.

Microbiological research of the clinical material received from with inflammatory processes was carried on that to detect ability to form biofilms and to study effect of low-intensity ultrasound radiation on formed biofilms and their aggregation ability. Performed research showed that ultrasound radiation of low intensity could destroy biofilms

and inhibit ability of microorganisms to form secondary biofilms.

**Key words:** ultrasound radiation, biofilms, *S.aureus*.