

ACTION ON COMBINED BIOFILMS OF ESSENTIAL OIL COMPLEX WITH SURFACTANTS SYNTHESIZED BY *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMB B-7241 IN THE PRESENCE OF BACTERIAL INDUCERS

D. Blagodyr¹, T. Pirog^{1,2}

¹National University of Food Technologies

²Institute of Microbiology and Virology of NASU

Key words:

Biological inducer
Surfactant
Essential oil
Synergism
Dual-species biofilm

Article history:

Received 12.11.2024
Received in revised form
27.11.2024
Accepted 09.12.2024

Corresponding author:

T. Pirog
E-mail:
tapirog@nuft.edu.ua

Citation: Благодир Д. О., Пирог Т. П. (2024). Дія на комбіновані біоплівки комплексу ефірних олій з поверхнево-активними речовинами, синтезованими *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 за наявності бактеріальних індукторів. *Наукові праці НУХТ*, 30(6), 39—48.
DOI: 10.24263/2225-2924-2024-30-6-5

ABSTRACT

The degree of destruction of dual-species bacterial biofilms under the action of a complex of tea tree essential oil with *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241 surfactants synthesized in the presence of competitive Gram-negative bacteria was investigated. The IMB B-7241 strain was cultured in a liquid medium containing purified glycerol and biodiesel production waste as a carbon source, in equimolar carbon concentrations (3% and 5% by volume, respectively). Live and inactivated cells of the Gram-negative bacterium *Enterobacter cloacae* C-8 were used as inducers, as well as the corresponding supernatant. Inductors were introduced in amount of 2.5—10% (v/v) into a medium in the beginning of *A. calcoaceticus* IMB B-7241 cultivation. *E. cloacae* C-8 was grown in a liquid medium with 0.5% glucose by weight. The degree of biofilm destruction (%) was calculated as the difference between cell adhesion in untreated and biocide-treated (surfactants, oil, and their mixture) wells of a polystyrene plate.

It was found that, depending on the physiological state of the inducer and the degree of glycerol purification in the *A. calcoaceticus* IMB B-7241 cultivation medium, surfactants were synthesized, which in combination with essential oil, more effectively destroyed dual-species biofilms than the corresponding biocides. For example, the degree of destruction of biofilms formed by *Escherichia coli* IEM-1 with *Pseudomonas sp.* MI-2, as well as *Bacillus subtilis* BT-2 with *Staphylococcus aureus* BMS-1, under the influence of the mixture of oil and surfactants was 3—34% higher compared to the use of individual biocide preparations.

Thus, the study demonstrated the potential of using a combination of tea tree oil and *A. calcoaceticus* IMB B-7241 surfactants, synthesized on glycerol of varying quality in the presence of *E. cloacae* C-8, to increase the degree of destruction of combined biofilms.

DOI: 10.24263/2225-2924-2024-30-6-5

ДІЯ НА КОМБІНОВАНІ БІОПЛІВКИ КОМПЛЕКСУ ЕФІРНИХ ОЛІЙ З ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИМИ РЕЧОВИНАМИ, СИНТЕЗОВАНИМИ *ACINETOBACTER CALSOACETICUS* ІМВ В-7241 ЗА НАЯВНОСТІ БАКТЕРІАЛЬНИХ ІНДУКТОРІВ

Д. О. Благодар¹, Т. П. Пирог^{1,2}

¹Національний університет харчових технологій

²Інститут мікробіології та вірусології НАНУ

У статті досліджено ступінь деструкції двовидових бактеріальних біоплівки за дії комплексу ефірної олії чайного дерева з поверхнево-активними речовинами *Acinetobacter calcoaceticus* ІМВ В-7241, синтезованими за наявності конкурентних грамнегативних бактерій. Культивування штаму ІМВ В-7241 здійснювали у рідкому середовищі, що містило як джерело вуглецю очищений гліцерин і відходи виробництва біодизелю в еквімолярній за вуглецем концентрації (об'ємною часткою 3 і 5% відповідно). Як індуктори використовували живі та інактивовані клітини грамнегативних бактерій *Enterobacter cloacae* С-8, а також відповідний супернатант, які вносили у кількості 2,5—10% у середовище на початку процесу культивування *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241. *E. cloacae* С-8 вижили у рідкому середовищі з глюкозою масовою часткою 0,5%. Ступінь руйнування біоплівки (%) обчислювали як різницю між адгезією клітин у необроблених і оброблених біоцидами (поверхнево-активні речовини, олія, а також їх суміш) лунках полістиролового пластику.

Встановлено, що залежно від фізіологічного стану індуктора і ступеня очищення гліцерину в середовищі культивування *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 синтезувалися поверхнево-активні речовини, які у комплексі з ефірною олією ефективніше руйнували двовидові біоплівки, ніж відповідні біоциди. Так, ступінь деструкції біоплівки *Escherichia coli* ІЕМ-1 з *Pseudomonas* sp. МІ-2, а також *Bacillus subtilis* БТ-2 з *Staphylococcus aureus* БМС-1 під впливом суміші олії з поверхнево-активними речовинами був на 3—34% вищим порівняно з використанням монопрепаратів біоцидів.

Отже, у результаті досліджень встановлено можливість використання комплексу олії чайного дерева і поверхнево-активних речовин *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, синтезованих на гліцерині різної якості за наявності *E. cloacae* С-8, для підвищення ступеня руйнування комбінованих біоплівок.

Ключові слова: біологічні індуктори, поверхнево-активні речовини, ефірні олії, синергізм, двовидові біоплівки.

Постановка проблеми. Мікробні інфекції, спричинені біоплівками, є серйозною проблемою в медицині і харчовій промисловості (Tan та ін., 2020). Більшість досліджень стосуються одновидових біоплівок (Lohse, Gulati, & Johnson, 2018), проте понад 10 років тому (Peters, & Novot, 2013) було встановлено, що більшість інфекцій спричинена полімікробними біоплівками.

Мікроорганізми у складі комбінованих біоплівок реалізують синергетичні взаємодії, характеризуються вищим ступенем колонізації поверхонь і вищою біологічною активністю. У свою чергу, це призводить до посилення патогенності та резистентності до антимікробних препаратів (Ceresa, Fracchia, Fedeli, Porta, & Banat, 2021; Jeong, Khan, Tabassum, Cho, & Kim, 2024). Так, інфекції, зумовлені полімікробними біоплівками, є причиною значно вищої смертності порівняно з спричиненими одновидовими біоплівками (El-Halfawy, Czarny, & Flannagan, 2020; Sivakumar та ін., 2023).

Огляд останніх досліджень і публікацій. Поодинокі літературні дані свідчать про використання мікробних поверхнево-активних ліпопептидів і гліколіпідів для руйнування двовидових біоплівок (Ceresa та ін., 2021), хоча частіше зустрічаються повідомлення про деструкцію комбінованих бактеріальних і бактеріально-дріжджових біоплівок за наявності антибіотиків (Rodrigues, 2017; Sivakumar та ін., 2023).

Оскільки полімікробні біоплівки часто виявляються стійкими до дії монобіоцидів, натеper для їх руйнування зазвичай використовують комплекс антимікробних сполук (Tan та ін., 2020; Bai та ін., 2022; Cho та ін., 2024). Зокрема, достатньо ефективним є використання ефірних олій у поєднанні з антибіотиками (Budzuńska, Różalska, Sadowska, & Różalska, 2017; Maione та ін., 2022). Проте актуальною проблемою сьогодення є стрімкий розвиток мультирезистентних мікроорганізмів, стійких до антибіотиків (Huemer, Mairpady Shambat, Brugger, & Zinkernagel, 2020), що є причиною пошуку альтернативних природних біоцидів.

Нетоксичні, біодеградабельні й екологічно безпечні мікробні поверхнево-активні речовини (ПАР) є ефективними деструкторами одновидових біоплівок як у вигляді монопрепаратів, так і в комплексі з іншими антимікробними (Ceresa, Fracchia, Fedeli, Porta, & Banat, 2021). Унікальний механізм антимікробної активності поверхнево-активних речовин, який полягає в порушенні цілісності цитоплазматичної мембрани практично унеможливує появу стійких до цих сполук патогенних мікроорганізмів (Puylol McKenna та ін., 2024).

У попередніх дослідженнях було встановлено здатність до ефективної деструкції одновидових біоплівок поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих за наявності конкурентних грамположитивних бактерій (Pirog, & Ivanov, 2022), а також синергізм біологічної активності (у тому числі й здатності до руйнування біоплівки) суміші ефірних олій та поверхнево-активних, утворених штамом IMB B-7241 у присутності еукаріотичного індуктора (Pirog, Kliuchka, & Kliuchka, 2023). Натеper внесення у середовище культивування продуцентів вторинних метаболітів (у тому числі й поверхнево-активних речовин) конкурентних мікроорганізмів (індукторів) є простим, дешевим і ефективним механізмом регуляції їх синтезу та біологічної активності (Wang, Miao, Qiao, Xu, & Cheng, 2022; Zhao та ін., 2022).

Інтерес до ефірних олій як складників комплексу з ПАР *A. calcoaceticus* IMB B-7241 для руйнування двовидових біоплівки був зумовлений тим, що ефірні олії складаються з багатьох біологічно активних компонентів, і тому малоімовірно видається виникнення резистентних до них мікроорганізмів (Feudjieu та ін., 2023). Зазначимо, що на сьогодні в доступній літературі нам не вдалося знайти повідомлень про використання суміші мікробних поверхнево-активних речовин з іншими

біоцидами, у тому числі й ефірними оліями, для руйнування двовидових бактеріальних чи бактеріально-дріжджових біоплівки.

Мета досліджень: дослідити ступінь деструкції двовидових бактеріальних біоплівок за дії комплексу ефірної олії чайного дерева з поверхнево-активними речовинами *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, синтезованими за наявності конкурентних грамнегативних бактерій.

Матеріали і методи. Основним об'єктом досліджень був виділений із забрудненого нафтою зразка ґрунту штам нафтоокиснювальних бактерій, ідентифікований як *Acinetobacter calcoaceticus* К-4 (Pirog, Shevchuk, Voloshina, & Gregirchak, 2005). Зазначений штам зареєстрований у Депозитарії мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного Національної академії наук України за номером ІМВ В-7241.

Як біологічний індуктор використовували *Enterobacter cloacae* С-8, як тест-культури для дослідження здатності ПАР, олії та їх суміші руйнувати біоплівки — штамми бактерій *Escherichia coli* ІЕМ-1, *Bacillus subtilis* БТ-2, *Staphylococcus aureus* БМС-1, *Pseudomonas* sp. МІ-2 з колекції живих культур кафедри біотехнології і мікробіології Національного університету харчових технологій.

Культивування штаму ІМВ В-7241 здійснювали в рідкому середовищі, що містило як джерело вуглецю очищений гліцерин і відходи виробництва біодизелю в еквімолярній за вуглецем концентрації (об'ємною часткою 3 і 5% відповідно). Як індуктори використовували живі та інактивовані клітини *E. cloacae* С-8, а також відповідний супернатант, які вносили у кількості 2,5—10% у середовище на початку процесу культивування *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241. Детально склад середовища для вирощування продуцента ПАР та спосіб підготовки індуктора описано раніше (Пирог, Іванов, & Ярова, 2021).

У дослідженнях використовували розчини ПАР *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 різної концентрації (5—640 мкг/мл).

Дослідження ступеня деструкції двовидових бактеріальних біоплівок здійснювали як описано в праці (Zacchino, Butassi, Cordisco, & Svetaz, 2017; Jeong, Khan, Tabassum, Cho, & Kim, 2024) з деякими модифікаціями. Для формування біоплівки в лунки полістиролового планшету вносили 180 мкл м'ясо-пептонного бульйону (МПБ) та 20 мкл суміші суспензії одностовових бактеріальних тест-культур, вирощених на м'ясо-пептонному агарі. Суміш інкубували упродовж 24 год при оптимальній для бактеріальних тест-культур температурі. Далі культуральну рідину зливали у кристалізатор і вносили у мікропланшети 180 мкл свіжого МПБ і 20 мкл суміші суспензії тест-культур, і знову інкубували впродовж наступних 24 год. Такого вирощування упродовж 48 год достатньо для формування біоплівки у лунках мікропланшета. Через 48 год культуральну рідину зливали у кристалізатор, а в лунки мікропланшета (з попередньо сформованою на них біоплівкою тест-культури) вносили по 200 мкл препаратів ПАР, ефірної олії чайного дерева (використана від виробника «Ароматика» без додаткової обробки), а також їх суміші певної концентрації (5—640 мкг/мл). У контрольні варіанти (лунки) вносили стерильну водопровідну воду (200 мкл). Через 24 год експозиції лунки тричі промивали 200 мкл дистильованої води і визначали кількість адгезованих клітин за допомо-

гою спектрофотометричним методом. Ступінь руйнування біоплівки (%) обчислювали як різницю між адгезією клітин у необроблених і оброблених ПАР біоцидами лунках полістиролового планшета.

Усі дослідження були проведені в трьох повторах і кожен експеримент включав у себе 3—5 паралельних вимірювань. Статистичну обробку експериментальних даних здійснювали, як описано раніше (Пирог, Іванов, & Ярова, 2021). Вважали, що відмінності між середніми показниками є статистично достовірними, якщо значення $p < 0,05$.

Викладення основних результатів дослідження. За проведеними дослідженнями було встановлено, що деструкція подвійної біоплівки *B. subtilis* БТ-2 та *S. aureus* БМС-1 під впливом комплексу ефірної олії чайного дерева та ПАР, утворених у середовищі з очищеним гліцерином за наявності індуктора у різному фізіологічному стані, була вищою на 6—25 і 3—7% порівняно з показниками, встановленими для монопрепаратів олії і поверхнево-активних речовин відповідно табл. 1. Причому найвищий ступінь руйнування подвійної біоплівки (72—82%) спостерігався лише за найвищих з досліджуваних (320—640 мкг/мл) концентрацій ефірної олії та ПАР у суміші.

Таблиця 1. Деструкція двовидової біоплівки *Bacillus subtilis* БТ-2 з *Staphylococcus aureus* БМС-1 за дії комплексу ефірної олії чайного дерева з поверхнево-активними речовинами *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 і відповідних монобіоцидів

Антимікробна сполука (субстрат для біосинтезу ПАР)	Індуктор у середовищі культивування продуцента ПАР	Руйнування (%) біоплівки за концентрації (мкг/мл)			
		640	320	160	80
Олія	—	64	50	46	41
Поверхнево-активні речовини (очищений гліцерин)	Контроль (без індуктора)	44	43	40	36
	Живі клітини	75	70	н.в.	н.в.
	Інактивовані клітини	70	67	60	54
	Супернатант	74	71	66	61
Поверхнево-активні речовини (відходи виробництва біодизелю)	Контроль (без індуктора)	35	30	26	23
	Живі клітини	73	65	61	54
	Інактивовані клітини	68	66	59	51
	Супернатант	75	69	61	58
Комплекс поверхнево-активних речовин (очищений гліцерин) з олією	Контроль (без індуктора)	57	51	48	41
	Живі клітини	82	75	67	66
	Інактивовані клітини	70	72	66	61
	Супернатант	76	72	69	68
Комплекс поверхнево-активних речовин (відходи виробництва біодизелю) з олією	Контроль (без індуктора)	65	58	53	46
	Живі клітини	88	86	79	73
	Інактивовані клітини	79	75	75	73
	Супернатант	87	86	78	75

Примітки: під час визначення ступеня деструкції біоплівки похибка не перевищувала 5%; н.в. — не визначали.

У той же час ступінь руйнування цієї подвійної біоплівки грампозитивних бактерій після обробки сумішшю ефірної олії і поверхнево-активних речовин, синтезованих на відходах виробництва біодизелю за наявності усіх типів дріжджового

індуктора, був на 15—34 і 11—27% вищим, ніж за дії тільки олії чи тільки препаратів ПАР (див. табл. 1). Зазначимо, що на відміну від дії комплексу олії з ПАР, синтезованими на очищеному гліцерині, під впливом суміші олії з поверхнево-активними речовинами, утвореними на відходах виробництва біодизелю, високий ступінь руйнування двовидової біоплівки (73—88%) досягався у діапазоні всіх досліджуваних концентрацій біоцидів (80—640 мкг/мл).

Підвищення деструкції двовидової біоплівки *B. subtilis* БТ-2 та *S. aureus* БМС-1 спостерігали у разі використання у комплексі з олією не тільки поверхнево-активних речовин, синтезованих за наявності дріжджів у різному фізіологічному стані, а й ПАР, утворених у середовищі без індуктора (див. табл. 1). Так, ступінь руйнування біоплівки під впливом поверхнево-активних речовин, синтезованих на очищеному гліцерині і відходах виробництва біодизелю становив 36—44 і 23—35%, а після обробки комплексом цих ПАР з олією підвищувався на 5—13 і 23—30% відповідно.

На наступному етапі досліджували деструкцію двовидової біоплівки грамнегативних бактерій *E. coli* ІЕМ-1 з *Pseudomonas* sp. МІ-2 після обробки сумішшю ефірної олії чайного дерева з поверхнево-активними речовинами, синтезованими *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 за наявності прокаріотичного індуктора в різному фізіологічному стані (табл. 2).

Таблиця 2. Вплив поверхнево-активних речовин *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241, ефірної олії чайного дерева та їх суміші на двовидову біоплівку *Escherichia coli* ІЕМ-1 з *Pseudomonas* sp. МІ-2

Антимікробна сполука (субстрат для біосинтезу ПАР)	Індуктор у середовищі культивування продуцента ПАР	Руйнування (%) біоплівки за концентрації (мкг/мл)			
		640	320	160	80
Олія	—	67	65	61	56
Поверхнево-активні речовини (очищений гліцерин)	Контроль (без індуктора)	60	58	53	47
	Живі клітини	75	73	70	68
	Інактивовані клітини	71	71	68	66
	Супернатант	74	72	70	67
Поверхнево-активні речовини (відходи виробництва біодизелю)	Контроль (без індуктора)	58	56	54	50
	Живі клітини	81	82	80	80
	Інактивовані клітини	79	77	73	69
	Супернатант	84	83	80	77
Комплекс поверхнево-активних речовин (очищений гліцерин) з олією	Контроль (без індуктора)	69	67	64	60
	Живі клітини	89	87	84	83
	Інактивовані клітини	85	86	84	80
	Супернатант	90	88	89	84
Комплекс поверхнево-активних речовин (відходи виробництва біодизелю) з олією	Контроль (без індуктора)	62	63	60	56
	Живі клітини	93	90	89	86
	Інактивовані клітини	83	82	79	77
	Супернатант	95	93	93	88

Експерименти показали, що незалежно від умов культивування *A. calcoaceticus* ІМВ В-7241 (очищений гліцерин чи відходи виробництва біодизелю як субстрат, середовище без індуктора, за наявності живих, інактивованих клітин *E. cloacae* С-

8 чи відповідного супернатанту) синтезовані поверхнево-активні речовини в комплексі з ефірною олією ефективніше руйнували комбіновану біоплівку грамнегативних бактерій порівняно з дією тільки ефірної олії чи тільки препаратів ПАР. Зазначимо, що така закономірність спостерігалася у всьому діапазоні досліджуваних концентрації біоцидів (80—640 мкг/мл). Винятком була деструкція біоплівки під впливом суміші олії з ПАР, синтезованими у середовищі з відходами виробництва біодизелю чи очищеним гліцерином без індуктора (56—62 і 60—69% відповідно), що була практично такою самою, як і після обробки тільки олією (56—67%). У той же час за дії на двовидову біоплівку комплексу олії з препаратами ПАР, утвореними за наявності у середовищі з обома субстратами індуктора у вигляді живих, інактивованих клітин чи супернатанту, ступінь її руйнування був на 16—32 і 4—19% вищим порівняно з обробкою монопрепаратами ефірної олії і поверхнево-активних речовин відповідно (див. табл. 2).

Зазначимо, що натепер у літературі є небагато інформації про деструкцію полівидових біоплівок за дії комплексних препаратів біоцидів, зокрема суміші ефірних олій чи їх компонентів з антибіотиками (Budzyńska, Różalska, Sadowska, & Różalska, 2017; Maione та ін., 2022), полілактатом (Scaffaro, Lopresti, D'Arrigo, Marino, & Nostro, 2018), суміші наночастинок хітозану з куркуміном (Tan, Leonhard, Moser, Ma, & Schneider-Stickler, 2020), ϵ -полі-*L*-лізином (Baї та ін., 2022), наночастинок золота з фукуїданом (Tabassum та ін., 2023).

Так, у праці (Maione та ін., 2022) показано, що за дії суміші міртенолу (складова ефірної олії мирту звичайного) з антибіотиками каспофунгіном або меропенемом ступінь руйнування бактеріально-дріжджової біоплівки *Klebsiella pneumoniae* та *Candida auris* досягав 80%, проте був нижчим за деструкцію такої біоплівки (100%) у разі використання міртенолу як монопрепарату.

В іншій праці (Budzyńska, Różalska, Sadowska, & Różalska, 2017) автори повідомили про позитивний ефект від використання ефірної олії гвоздики у комплексі з антибіотиками для руйнування дріжджово-бактеріальної біоплівки *C. auris* і *S. aureus*. Так, деструкція біоплівки за дії суміші ефірної олії з флуконазолом і мупіроцином становила 58,6 та 61,1% відповідно, що у 4 і 10 разів вище, ніж за використання антибіотиків окремо. Після обробки цієї біоплівки трикомпонентною сумішшю (обидва антибіотики і ефірна олія гвоздики) ступінь руйнування був вищим майже у 5 разів порівняно з дією монопрепаратів біоцидів.

Scaffaro із співавт. (Scaffaro, Lopresti, D'Arrigo, Marino, & Nostro, 2018) також встановили синергичний ефект дії комплексу карвакролу (компонент ефірних олій) з полімолочною кислотою на двовидову біоплівку *S. aureus* і *Candida albicans*, деструкція якої досягала 88—96%, що вище, ніж після обробки монопрепаратом карвакролу.

У праці (Tan, Leonhard, Moser, Ma, & Schneider-Stickler, 2019) показано, що ступінь руйнування двовидової дріжджово-бактеріальної біоплівки *S. aureus* і *C. albicans* під впливом комплексу 2-амінобензімідазолу та куркуміну у концентрації 200 мкг/мл становив 73,3%, що вище ніж за використання даних антимікробних сполук окремо.

Tan із співавт. (Tan та ін., 2020) встановили, що суміш куркуміну з позитивно зарядженими наночастинками хітозану у концентрації 400 мкг/мл ефективніше руйнувала двовидову біоплівку *S. aureus* і *C. albicans*, ніж куркумін (деструкція

84,36 і 70% відповідно).

У праці (Вai та ін., 2022) показано, що за дії комплексу наночастинок хітозану та ϵ -полі-*L*-лізину на двовидову біоплівку *Listeria monocytogenes* з *S. aureus* кількість клітин бактерій у біоплівці знижувалася у 3 і 10 разів відповідно. Після обробки подвійної біоплівки *L. monocytogenes* з *Pseudomonas aeruginosa* сумішшю наночастинок хітозану з ϵ -полі-*L*-лізином спостерігали зниження клітин *L. monocytogenes* у 20 разів, у той час кількість клітин *P. aeruginosa* залишалася без змін.

Cho із співавт. (Cho та ін., 2024) встановили синергізм дії комплексу ϵ -полі-*L*-лізину з лізоцимом на комбіновану біоплівку *L. monocytogenes* і *P. aeruginosa*. Після обробки біоплівки сумішшю лізоциму (5 мг/мл) та ϵ -полі-*L*-лізину (1,2 та 4 мінімальних інгібуючих концентрацій) кількість клітин *L. monocytogenes* і *P. aeruginosa* зменшувалася у 33—50 разів, у той час як за дії монопрепаратів — всього у 5—7 разів.

У праці (Pati, Kurata, Horseman, & Pierce, 2021) досліджували вплив комплексу ϵ -полі-*L*-лізину з хітозаном на трикомпонентну біоплівку *P. aeruginosa*, *S. aureus* і *C. albicans*. Показано, що після обробки комбінованим біоцидом полівидової біоплівки через 24 і 48 год ступінь її руйнування становив 84 та 70% відповідно.

Tabassum із співавт. (Tabassum та ін., 2023) досліджували здатність суміші наночастинок золота з фукуїданом руйнувати бактеріально-дріжджові біоплівки *C. albicans* і *S. aureus*/*Streptococcus mutans*. Після обробки двовидової біоплівки *C. albicans* і *S. aureus* комплексним біоцидом у концентрації 2048 мкг/мл вміст клітин дріжджів і бактерій знижувався у 24 і 29 разів відповідно. За дії комплексу наночастинок золота з фукуїданом у концентрації <2048 мкг/мл на біоплівку *C. albicans* з *S. mutans* кількість дріжджових і бактеріальних клітин зменшувалася у 4,8 і 5,8 раза відповідно. Зазначимо, що антибіоплівкова активність суміші наночастинок золота з фукуїданом була дещо нижчою щодо двовидових біоплівок порівняно з активністю даного комплексного препарату щодо біоплівок тільки бактерій чи тільки дріжджів. Так, після обробки одновидових бактеріальних і дріжджової біоплівок спостерігали зниження чисельності клітин *S. aureus*, *S. mutans* і *C. albicans* у 6, 8,4 і 8 разів відповідно.

Висновки

Отже, в результаті проведеного дослідження встановлено синергізм антибіоплівкової активності щодо двовидових біоплівок грамположитивних і грамнегативних бактерій суміші ефірної олії чайного дерева з поверхнево-активними речовинами, синтезованими *A. calcoaceticus* IMB B-7241 на гліцерині різної якості за наявності прокаріотичного індуктора *E. cloacae* C-8 у різному фізіологічному стані.

Література

Пирог, Т. П., Иванов, М. С., Ярова, Г. А. (2021). Антимікробна активність поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих за наявності біологічних індукторів. *Наукові праці НУХТ*, 27(4), 43—52. doi: 10.24263/2225-2924-2021-27-4-6.

Bai, X., Xu, L., Singh, A. K., Qiu, X., Liu, M., Abuzeid, & Bhunia, A. K. (2022). Inactivation of polymicrobial biofilms of foodborne pathogens using epsilon poly-*L*-lysine conjugated chitosan nanoparticles. *Foods*, 11(4), 569. doi: 10.3390/foods11040569.

Budzyńska, A., Różalska, S., Sadowska, B., & Różalska, B. (2017). *Candida albicans*/*Staphylococcus aureus* dual-species biofilm as a target for the combination of essential oils and fluconazole or

mupirocin. *Mycopathologia*, 182(11—12), 989—995. doi:10.1007/s11046-017-0192-y.

Ceresa, C., Fracchia, L., Fedeli, E., Porta, C., & Banat, I. M. (2021). Recent advances in biomedical, therapeutic and pharmaceutical applications of microbial surfactants. *Pharmaceutics*, 13(4), 466. doi:10.3390/pharmaceutics1304046.

Ceresa, C., Rinaldi, M., Tessarolo, F., Maniglio, D., Fedeli, E., Tambone, E., & Fracchia, L. (2021). Inhibitory effects of lipopeptides and glycolipids on *C. albicans-Staphylococcus* spp. dual-species biofilms. *Frontiers in Microbiology*, 11, 545654. doi:10.3389/fmicb.2020.545654.

Cho, A. J., Han, S., Nahar, S., Her, E., Kang, J. G., & Ha, S. D. (2024). Synergistic effects of ϵ -poly-L-lysine and lysozyme against *Pseudomonas aeruginosa* and *Listeria monocytogenes* biofilms on beef and food contact surfaces. *Meat Science*, 214, 109534. doi:10.1016/j.meatsci.2024.109534.

El-Halfawy, O. M., Czarny, T. L., & Flannagan, R. S. (2020). Discovery of an antivirulence compound that reverses β -lactam resistance in MRSA. *Nature Chemical Biology*, 16, 143—149. <https://doi.org/10.1038/s41589-019-0401-8>

Feudjieu, E. G., Kemeagne, G. A., Tchinda, F. C., Tchamgoue, D. A., Ndedi, E. D. F. M., Matchu-enkam, G. S., & Agbor, G. A. (2023). Synergistic effects of essential oils and antibiotics against some bacterial strains. *Journal of Drug Discovery and Therapeutics*, 13(6), 73—82. doi:10.22270/jddt.v13i6.5860.

Huemer, M., Mairpady Shambat, S., Brugger, S. D., & Zinkernagel, A. S. (2020). Antibiotic resistance and persistence — implications for human health and treatment perspectives. *EMBO Reports*, 21(12), doi:10.15252/embr.202051034.

Jeong, G., Khan, F., Tabassum, N., Cho, K., & Kim, Y. (2024). Strategies for controlling polymicrobial biofilms: a focus on antibiofilm agents. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 64(2), 107243. doi:10.1016/j.ijantimicag.2024.107243.

Lohse, M., Gulati, M., & Johnson, A. (2018). Development and regulation of single- and multi-species *Candida albicans* biofilms. *Nature Reviews Microbiology*, 16, 19—31. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.107>.

Maione, A., La Pietra, A., de Alteriis, E., Mileo, A., de Falco, M., Guida, M., & Galdiero, E. (2022). Effect of myrtenol and its synergistic interactions with antimicrobial drugs in the inhibition of single and mixed biofilms of *Candida auris* and *Klebsiella pneumoniae*. *Microorganisms*, 10(9), 1773. doi:10.3390/microorganisms10091773.

Pati, B. A., Kurata, W. E., Horseman, T. S., & Pierce, L. M. (2021). Antibiofilm activity of chitosan/epsilon-poly-L-lysine hydrogels in a porcine *ex vivo* skin wound polymicrobial biofilm model. *Wound Repair and Regeneration*, 29(2), 316—326. doi:10.1111/wrr.12890.

Peters, B. M., & Noverr, M. C. (2013). *Candida albicans-Staphylococcus aureus* polymicrobial peritonitis modulates host innate immunity. *Infection and Immunity*, 81, 2178—2189.

Pirog, T., & Ivanov, M. (2022). Destruction of biofilms by surfactants synthesized by *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 in the presence of competitive microorganisms. *Ukrainian Food Journal*, 11(2), 291—301. doi:10.24263/2304-974X-2022-11-2-9.

Pirog, T., Kliuchka, I., & Kliuchka, L. (2023). Synergetic antimicrobial activity of a mixture of essential oils and *Acinetobacter calcoaceticus* IMV B-7241 surfactants synthesized in the presence of the eukaryotic inducer. *Ukrainian Food Journal*, 12(3), 458—472. <https://ufj.nuft.edu.ua/indexpreen.html?doi=10.24263/2304-974X-2023-12-3-11>.

Pirog, T. P., Shevchuk, T. A., Voloshina, I. N., & Gregirchak, N. N. (2005). Use of claydite-immobilized oil-oxidizing microbial cells for purification of water from oil. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 41(1), 51—55. <https://doi.org/10.1007/s10438-005-0010-z>.

Puyol McKenna, P., Naughton, P. J., Dooley, J. S. G., Ternan, N. G., Lemoine, P., & Banat, I. M. (2024). Microbial biosurfactants: antimicrobial activity and potential biomedical and therapeutic exploits. *Pharmaceutics* (Basel), 17(1), 138. doi:10.3390/ph17010138.

Rodrigues, M. E., Lopes, S. P., Pereira, C. R., Azevedo, N. F., Lourenço, A., Henriques, M., & Pereira, M. O. (2017). Polymicrobial ventilator-associated pneumonia: fighting *in vitro* *Candida albicans-Pseudomonas aeruginosa* biofilms with antifungal-antibacterial combination therapy. *PLoS One*, 12(1):e0170433. doi:10.1371/journal.pone.0170433.

Scaffaro, R., Lopresti, F., D'Arrigo, M., Marino, A., & Nostro, A. (2018). Efficacy of poly(lactic

acid)/carvacrol electrospun membranes against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* in single and mixed cultures. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 102(9), 4171—4181. doi: 10.1007/s00253-018-8879-7.

Sivakumar, S., Sithivinayagam, A., Krishnasamy, B., Govindarajan, D. K., Kothandan, R., & Kandaswamy, K. (2023). A sustainable approach to control biofilms infections and reduce medical waste: catheters coated with antibiotics inhibit single and dualspecies biofilms. *Maejo International Journal of Energy and Environmental Communication*, 5(1), 50—56. <https://doi.org/10.54279/mijeeec.v5i1.249294>.

Tabassum, N., Khan, F., Kang, M. G., Jo, D. M., Cho, K. J., & Kim, Y. M. (2023). Inhibition of polymicrobial biofilms of *Candida albicans-Staphylococcus aureus/Streptococcus mutans* by fucoi-dan-gold nanoparticles. *Marine Drugs*, 21(2), 123. doi:10.3390/md21020123.

Tan, Y., Leonhard, M., Moser, D., Ma, S., & Schneider-Stickler, B. (2019). Antibiofilm efficacy of curcumin in combination with 2-aminobenzimidazole against single- and mixed-species biofilms of *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 174, 28—34. doi:10.1016/j.colsurfb.2018.10.079.

Tan, Y., Ma, S., Moser, D., Han, F., Leonhard, M., & Schneider-Stickler, B. (2020). Preparation and antibiofilm studies of curcumin loaded chitosan nanoparticles against polymicrobial biofilms of *Candida albicans* and *Staphylococcus aureus*. *Carbohydrate Polymers*, 241, 116254. doi:10.1016/j.carbpol.2020.116254.

Wang, X. F., Miao, C. H., Qiao, B., Xu, S. J., & Cheng, J. S. (2022). Co-culture of *Bacillus amylo-liquefaciens* and recombinant *Pichia pastoris* for utilizing kitchen waste to produce fengycins. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 133(6), 560—566. <https://doi.org/10.1016/j.jbiosc.2022.02.009>.

Zacchino, S. A., Butassi, E., Cordisco, E., & Svetaz, L. A. (2017). Hybrid combinations containing natural products and antimicrobial drugs that interfere with bacterial and fungal biofilms. *Phytomedicine*, 37, 14—26. doi:10.1016/j.phymed.2017.10.021.

Zhao, S., Li, F., Yang, F., Ma, Q., Liu, L., Huang, Z., ..., & Gu, P. (2022). Microbial production of valuable chemicals by modular co-culture strategy. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 39(1):6. doi:10.1007/s11274-022-03447-6.