

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

D. Blagodyr<sup>1</sup>, T. Pirog<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>National University of Food Technologies

<sup>2</sup>Institute 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* імв 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.

## ДІЯ НА КОМБІНОВАНІ БІОПЛІВКИ КОМПЛЕКСУ ЕФІРНИХ ОЛІЙ З ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИМИ РЕЧОВИНАМИ, СИНТЕЗОВАНИМИ *ACINETOBACTER CALCOACETICUS* IMB B-7241 ЗА НАЯВНОСТІ БАКТЕРІАЛЬНИХ ІНДУКТОРІВ

Д. О. Благодир<sup>1</sup>, Т. П. Пирог<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Національний університет харчових технологій

<sup>2</sup>Інститут 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* IMB B-7241, синтезованими за наявності конкурентних грамнегативних бактерій. Культивування штаму IMB B-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* C-8, а також відповідний супернатант, які вносили у кількості 2,5—10% у середовище на початку процесу культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241. *E. cloacae* C-8 вигодували 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 планшета.

Встановлено, що залежно від фізіологічного стану індуктора і ступеня очищення гліцерину в середовищі культивування *A. calcoaceticus* IMB B-7241 синтезувалися поверхнево-активні речовини, які у комплексі з ефірною олією ефективніше руйнували двовидові біоплівки, ніж відповідні біоциди. Так, ступінь деструкції біоплівки *Escherichia coli* IEM-1 з *Pseudomonas* sp. MI-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* IMB B-7241, синтезованих на гліцерині різної якості за наявності *E. cloacae* C-8, для підвищення ступеня руйнування комбінованих біоплівки.

**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 (Тап та ін., 2020). Більшість досліджень стосуються одновидових біоплівки (Lohse, Gulati, & Johnson, 2018), проте понад 10 років тому (Peters, & Noverr, 2013) було встановлено, що більшість інфекцій спричинена полімікробними біоплівками.

Мікроорганізми у складі комбінованих біоплівкок 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 біоплівкок (Ceresa та ін., 2021), хоча частіше зустрічаються повідомлення про деструкцію комбінованих бактеріальних і бактеріально-дріжджових біоплівкок 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 (Budzyńska, 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 біоплівкок 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 унеможливорює появу стійких до цих сполук патогенних мікроорганізмів (Puylol McKenna та ін., 2024).

У попередніх дослідженнях було встановлено здатність до ефективної деструкції одновидових біоплівкок поверхнево-активних речовин *Acinetobacter calcoaceticus* IMB B-7241, синтезованих за наявності конкурентних грампозитивних бактерій (Pirog, & Ivanov, 2022), а також синергізм біологічної активності (у тому числі й здатності до руйнування біоплівкок) 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 біоплівкок був зумовлений тим, що ефірні олії складаються з багатьох біологічно активних компонентів, і тому малоімовірним 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 біоплівок.

**Мета досліджень:** дослідити ступінь деструкції двовидових бактеріальних біоплівки за дії комплексу ефірної олії чайного дерева з поверхнево-активними речовинами *A. calcoaceticus* IMB B-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* K-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 IMB B-7241.

Як біологічний індуктор використовували *Enterobacter cloacae* C-8, як тест-культури для дослідження здатності ПАР, олії та їх суміші руйнувати біоплівки — штамми бактерій *Escherichia coli* IEM-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 IMB B-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* C-8, а також відповідний супернатант, які вносили у кількості 2,5—10% у середовище на початку процесу культивування *A. calcoaceticus* IMB B-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* IMB B-7241 різної концентрації (5—640 мкг/мл).

Дослідження ступеня деструкції двовидових бактеріальних біоплівки 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<br>(субстрат для біосинтезу<br>ПАР)                               | Індуктор у середовищі<br>культивування продуцента<br>ПАР | Руйнування (%) біоплівки за<br>концентрації (мкг/мл) |     |      |      |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----|------|------|
|                                                                                        |                                                          | 640                                                  | 320 | 160  | 80   |
| Олія                                                                                   | —                                                        | 64                                                   | 50  | 46   | 41   |
| Поверхнево-активні<br>речовини (очищений<br>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<br>речовини (відходи<br>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-<br>активних речовин<br>(очищений гліцерин) з<br>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-<br>активних речовин<br>(відходи виробництва<br>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<br>(субстрат для біосинтезу<br>ПАР)                               | Індуктор у середовищі<br>культивування продуцента<br>ПАР | Руйнування (%) біоплівки за<br>концентрації (мкг/мл) |     |     |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|------------------------------------------------------|-----|-----|----|
|                                                                                        |                                                          | 640                                                  | 320 | 160 | 80 |
| Олія                                                                                   | —                                                        | 67                                                   | 65  | 61  | 56 |
| Поверхнево-активні<br>речовини (очищений<br>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<br>речовини (відходи<br>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-<br>активних речовин<br>(очищений гліцерин) з<br>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-<br>активних речовин<br>(відходи виробництва<br>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 концентрацій 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 натеper 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),  $\epsilon$ -полі-*L*-лізином (Bai 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 синергійний 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 (Bai та ін., 2022) показано, що за дії комплексу наночастинок хітозану та  $\epsilon$ -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  $\epsilon$ -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  $\epsilon$ -полі-*L*-лізину з лізоцимом на комбіновану біоплівку *L. monocytogenes* і *P. aeruginosa*. Після обробки біоплівки сумішшю лізоциму (5 мг/мл) та  $\epsilon$ -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  $\epsilon$ -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 грампозитивних 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  $\epsilon$ -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  $\beta$ -lactam resistance in MRSA. *Nature Chemical Biology*, 16, 143—149. <https://doi.org/10.1038/s41589-019-0401-8>

Feudjieu, E. G., Kemege, 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.