

DOI: 10.26693/jmbs03.07.053

УДК 537.533.9:579.841.11

Скляр Н. І.¹, Саркіс-Іванова В. В.¹, Осолодченко Т. П.¹,
Пономаренко С. В.¹, Маркович І. Г.²

ДОСЛІДЖЕННЯ ДІЇ ПОТОКУ РЕЛЯТИВІСТСЬКИХ ЕЛЕКТРОНІВ НА БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ШТАМІВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

¹ ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова» Національної академії медичних наук України», Харків, Україна

² Національна академія медичних наук України, Київ, Україна

sklyarimi@ukr.net

У даному дослідженні визначено режими роботи електронного прискорювача, які забезпечують бактеріостатичний та бактерицидний ефект щодо тест-штамів *Pseudomonas aeruginosa* у модельних зразках. Встановлено практично лінійну залежність доза-зниження кількості життєздатних бактерій. Показано, що бактеріостатична післядія електронного пучка спостерігалась при енергетичних навантаженнях від 0,8 до 3,8 кГр. Бактерицидний ефект спостерігався після опромінення тест-штамів дозами, починаючи з 4,0 кГр.

З'ясовано, що опромінення модельних зразків сублетальними дозами релятивістських електронів спричиняє у 10,0–20,0% появу фенотипових модифікацій, які характеризувались зникненням або зниженням активності окремих ферментів, властивих тест-штамам *P. aeruginosa*. Вказані зміни не залежали від дози опромінення штамів електронним пучком. Усі виявлені фенотипові зміни зникали через 1–3 пасажа культур, тобто виявились неспадкоємними. Показники адгезивної активності штамів після опромінення не мали статистично значимих змін. Визначено пригнічення біоплівкоутворюючої здатності тест-штамів синьогнійних паличок у 1,7–6,6 разів.

Ключові слова: електронний пучок, *Pseudomonas aeruginosa*, ростові, біохімічні властивості, адгезивна активність, біоплівкоутворення.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Робота є фрагментом планової науково-дослідної роботи «Вивчення біологічних ефектів дії потоку релятивістських електронів», № державної реєстрації 0116U000865.

Вступ. Представники групи неферментуючих грамнегативних бактерій (НФГНБ), зокрема *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*), є невибагливими до живильних середовищ мікроорганізмами. Загальним для цієї групи є вегетування у вологому

середовищі та широке поширення у довірлі: воді, ґрунті, рослинах. Потрапивши в умови закритого приміщення, наприклад лікарняного стаціонару, вони не тільки добре зберігаються, але можуть навіть розмножуватися в будь-яких вологих місцях: туалетах, душах, в судинах з різними розчинами, трубопроводах. Завдяки здатності існувати у вологому середовищі НФГНБ контамінують найрізноманітніші розчини (в тому числі і дезінфектанти), обладнання (в тих місцях, де можливий застій рідини) і поверхні. Крім того, за даними літератури ці бактерії мають високу стійкість до дезінфекційних розчинів [4, 11].

Результати вивчення етіологічної структури гнійно-запальних захворювань, післяопераційних ускладнень, шпитальних інфекцій та ін. засвідчують провідну роль грамнегативних бактерій, зокрема, *P. aeruginosa*. Підтверджено клональний зв'язок між клінічними та вилученими з госпітального довірлі ізолятами *P. aeruginosa*, що вірогідно становлять основний резервуар інфекції в лікарні [3, 5].

Одним із головних напрямів у боротьбі з шпитальними інфекціями, в тому числі викликаних *P. aeruginosa*, є переривання ланцюга передачі інфекції, що досягається шляхом належної дезінфекції поверхонь, стерилізації інструментів та розчинів. Нині у світі проводяться широкомасштабні дослідження щодо застосування фізичних чинників як альтернативи загальнозживаним технологіям знезараження та стерилізації різноманітних об'єктів. Одним із нових методів, що зараз знаходиться в стадії випробування та вдосконалення, є метод знезараження за допомогою електронного пучка. Обробка контамінованих мікроорганізмами матеріалів за допомогою потоку релятивістських електронів має ряд переваг перед традиційними технологіями – миттєвість дії, відсутність витратних матеріалів, безпека, низькі енерговитрати, універсальність, відсутність теплового ефекту та ін. [1, 6, 8].

Впровадження інноваційних технологій на сучасному етапі повинно супроводжуватись екологічною оцінкою їх впливу на генетичний апарат різноманітних живих організмів, у т.ч. мікробних популяцій. Опромінення електронним пучком в дозі 25 кГр протягом кількох секунд будь якого біологічного об'єкта викликає летальні пошкодження ДНК клітини [12]. Мікроорганізми, які за умови недостатньо ефективних режимів знезараження залишаються життєздатними, імовірно можуть отримати сублетальні пошкодження генетичного апарату, що може призвести до мутагенних змін біологічних властивостей. Загроза розповсюдження мікробних популяцій зі зміненими у бік посилення персистентними властивостями та підвищеною резистентністю до протимікробних засобів визначає необхідність проведення експериментальних досліджень щодо генетичної безпечності технології та визначення найбільш результативних режимів роботи прискорювача електронів.

Мета дослідження: визначення впливу потоку релятивістських електронів на біологічні властивості штамів *P. aeruginosa* (ростові, культуральні, біохімічні, персистентні) у модельних об'єктах.

Матеріал і методи дослідження. Як тест-штами було використано референтний штам *P. aeruginosa* ATCC 27853 та 5 циркулюючих штамів, вилучених з об'єктів внутрішнього середовища хірургічного стаціонару.

Приготування модельних зразків мікроорганізмів із визначеною концентрацією мікробних клітин проводили з використанням електронного приладу Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema a.s., Чехія) за шкалою McFarland згідно з інструкцією до приладу та Інформаційним листом «Стандартизація приготування мікробних суспензій» [13]. Число живих мікроорганізмів – колонієутворюючі одиниці (КУО) визначали методом серійних розведень із послідовним висівом на поживний агар. Вихідна концентрація тест-штамів становила 10^9 КУО/мл.

Для визначення біохімічної активності тест-культур мікроорганізмів використовували API системи виробництва bio Mérieux, Франція – ID 32 GN відповідно до інструкції виробника.

Вивчення впливу електронного пучка на адгезивні властивості тест-штамів проводили за методикою дослідження адгезивного потенціалу мікроорганізмів [2]. Для оцінки адгезивних властивостей штамів використовували наступні критерії: середній показник адгезії (СПА), коефіцієнт адгезії (КА) та індекс адгезивності мікроорганізмів (ІАМ). Щодо критеріїв оцінки адгезивних властивостей, то мікроорганізм вважають неадгезивним при $ІАМ \leq 1,75$; низькоадгезивним – від 1,76 до 2,5; середньоадгезивним – від 2,51 до 4,0; та високоадгезивним при $ІАМ$ більш ніж 4,0 [2].

Дослідження здатності до формування біоплівки мікроорганізмами проводили планшетним методом згідно з методикою O'Toole G. [10]. Визначення проводили в стерильних плоскодонних планшетах для імуноферментного аналізу. Як рідке поживне середовище використовували трипказосоевий бульйон (TSB), виробництва bioMérieux, Франція. Для візуалізації біоплівок використовували 0,1% спиртовий розчин барвнику кристал віолету. Оптичну щільність вмісту лунок вимірювали на фотометрі StatFax 303 Plus при довжині хвилі 630 нм. Результати фіксували в одиницях оптичної щільності (од).

Фізична частина роботи (опромінення об'єктів потоком релятивістських електронів) проведена на базі ННЦ «Харківський фізико-технічний Інститут» НАН України. Було використано лінійний резонансний імпульсний прискорювач електронів з вимірюючою системою параметрів пучка, на хвилі, що біжить з частотою 2850 МГц, зібраний за традиційною схемою. Параметри формуючого ним пучка такі: енергія пучка електронів – від 3 до 5 MeV; імпульс струму електронів – 0,5 А; тривалість струмового імпульса – 2 нс, кут розходження пучка 10-120°; діаметр пучка 1,5 см; частота імпульсів від 2 до 5 Гц. Опромінення модельних об'єктів потоком релятивістських електронів проводилось на відстані до 30 см від випускного вікна прискорювача.

Опромінення електронним пучком тест-культур в модельних розчинах проведено в 12 режимах, що відрізнялись по величині енергетичного навантаження, починаючи з 0,1 кГр. Бактерицидну та бактериостатичну дію електронного пучка оцінювали після бактеріологічного дослідження опромінених зразків упродовж шести днів.

Досліди проводили в трьох повторях. Одержані результати статистично обробляли загальноприйнятими методами статистики за допомогою пакету програм «Statistica v. 8.0».

Результати дослідження та їх обговорення. За результатами вивчення ростових властивостей тест-культур *P. aeruginosa* у модельних зразках після їх опромінення потоком релятивістських електронів встановлено, що дози до 0,8 кГр не мали статистично значимого впливу на дану ознаку як референтного так і циркулюючих штамів. Відмінна від контролю бактериостатична післядія електронного пучка для всіх штамів *P. aeruginosa* спостерігалась на I добу спостереження при енергетичному навантаженні від 0,8 кГр, на III – VI добу – від 1,6 кГр ($p < 0,05$) (рис. 1).

Доза опромінення 3,8 кГр пригнічувала розмноження бактерій впродовж трьох днів, але на VI добу референтний та 2 циркулюючих штами відновили вказану здатність. Імовірно, що бактеріальні



Рис. 1. Життєздатність тест-штамів *P. aeruginosa* в модельних зразках після опромінення електронним пучком, де I – перший день спостереження після опромінення, III – третій день, VI – шостий день

клітини тест-штамів після дії потоку релятивістських електронів тимчасово знаходиться у стані некультурабельності, який характеризується їх метаболічною активністю та відсутністю розмноження на оптимальних поживних середовищах [9]. Бактерицидний ефект на об'єкти дослідження спостерігався після опромінення дозами, починаючи з 4,0 кГр.

Для подальшого дослідження біологічних властивостей тест-штамів *P. aeruginosa* за впливу електронно-пучкового опромінення були використані

режими роботи прискорювача 1,6 та 3,0 кГр, які за попередніми результатами викликали лише часткову загибель мікробних клітин. Як критерій наявності тривалої модифікації у тест-штамів використовували факт збереження зміненої після обробки ознаки продовж десяти пасажів.

Результати дослідження морфологічних, культуральних та типових біохімічних ознак тест-штамів *P. aeruginosa* до опромінення (контроль) та після дії електронного пучка в дозах 1,6 та 3,0 кГр представлені в таблиці 1.

Таблиця 1 – Біологічна характеристика тест-штамів *P. aeruginosa* до та після опромінення потоком релятивістських електронів

№ п/п	Біологічні властивості, що вивчалися	Результат			
		штами після опромінення		контроль	
		опис ознаки	% штамів	опис ознаки	% штамів
1	2	3	4	5	6
1	Морфологічні	Палички, середнього розміру	100	Палички, середнього розміру	100
2	Тінкторіальні	Грамнегативні	100	Грамнегативні	100
3	Культуральні	«Перламутрові» напівпрозорі колонії, мають синьо-зелений пігмент	100	«Перламутрові» напівпрозорі колонії, мають синьо-зелений пігмент	100
4	Біохімічні: ферментація				
4.1	L-рамноза	–	91,7 ± 8,3	–	100
4.2	N-ацетилглюкозамін	+	83,4 ± 16,7	+	100
4.3	D-рибоза	+	100	+	100
4.4	Іносітол	–	100	–	100
4.5	D-сахароза	–	100	–	100
4.6	D-мальтоза	–	100	–	100
4.7	ітаконова кислота	+	100	+	100
4.8	суберинова кислота	–	100	–	100
4.9	Малонат	+	100	+	100

Закінчення табл. 1

№ п/п	Біологічні властивості, що вивчались	Результат			
		штами після опромінення		контроль	
		опис ознаки	% штамів	опис ознаки	% штамів
1	2	3	4	5	6
4.10	Ацетат	+	83,4 ± 16,7	+	100
4.11	молочна кислота	+	100	+	100
4.12	L-аланін	+	100	+	100
4.13	D-манітол	+	100	+	100
4.14	D-глюкоза	+	100	+	100
4.15	Саліцин	-	100	-	100
4.16	D-мелібіоза	-	100	-	100
4.17	L-фуктоза (ферментація)	-	100	-	100
4.18	D-сорбітол	-	100	-	100
4.19	L-арабіноза	-	100	-	100
4.20	пропіонова кислота	+	100	+	100
4.21	капронова кислота	+	100	+	100
4.22	валеріанова кислота	+	100	+	100
4.23	L тринатрію цитрат	+	100	+	100
4.24	L-гістидин	+	100	+	100
4.25	калію-5-кетоглюконат	-	100	-	100
4.26	Глікоген	-	100	-	100
4.27	3- гідроксibenзойна кислота	-	100	-	100
4.28	калію-2-кетоглюконат	+	100	+	100
4.29	3-гідроксі-В-масляна кислота	+	100	+	100
4.30	4- гідроксibenзойна кислота	+	100	+	100
5	Біохімічні: гідроліз				
5.1	L-серин	+	100	+	100
5.2	L-пролін	+	100	+	100

Примітки: (+) – наявність ознаки; (-) – відсутність ознаки.

Морфологічні, тінкторіальні та культуральні ознаки тест-штамів *P. aeruginosa* після електронно-пучкової обробки не змінювались. Бактерії реагували на опромінення електронним пучком зниженням або зникненням ферментативної активності, а саме з вивчених 32 біохімічних ознак відмічено відсутність ферментації L-рамнози, N-ацетилглюкозаміну, ацетату в 25,0% досліджень. Вказані фенотипові зміни не залежали від дози опромінення штамів електронним пучком і зникали через 1-3 пасажу культур, тобто виявились неспадкоємними.

Здатність мікроорганізмів прикріплюватись до об'єктів, будь то клітини епітелію чи слизових оболонок макроорганізму, або різноманітні абіотичні поверхні, є початковим та безумовно одним з найважливіших етапів персистенції [14]. Тому, наступним етапом досліджень було вивчення адгезивних властивостей тест-штамів *P. aeruginosa* у залежно-

сті від поглинутої дози потоку релятивістських електронів.

Взяті в дослідження тест-штами характеризувались різною здатністю до адгезії: 1 штам *P. aeruginosa* був низькоадгезивним; 2, у т.ч. *P. aeruginosa* ATCC 27853 – середньоадгезивними та 2 виявились високоадгезивними. Результати дослідження змін адгезивної активності бактерій за впливу сублетального електронно-пучкового опромінення представлені в **таблиці 2**.

Встановлено, що за умов впливу потоку релятивістських електронів всі показники, які характеризують процес адгезії, у всіх взятих у дослідження тест-штамів статистично не відрізнялись від контрольних показників ($p > 0,05$).

Наступним за процесом адгезії у життєвому циклі мікроорганізмів є процес розмноження та переходу у стан біоплівки, добре структурованих

Таблиця 2 – Показники адгезії тест-штамів *P. aeruginosa* у залежності від поглинутої дози потоку релятивістських електронів

Тест-штами за ступенем адгезивності	Доза опромінення	Показники адгезії, (M±m)		
		СПА	КА, (%)	IAM
Низькоадгезивний	1,6 кГр	1,75 ± 0,21	79,3 ± 1,65	2,21 ± 0,88
	3,0 кГр	1,66 ± 0,29	66,9±0,36	2,48 ± 0,26
	контроль (без опромінення)	1,73 ± 0,34	73,6 ± 0,21	2,36 ± 0,26
Середньоадгезивні (n = 2)	1,6 кГр	1,50 ± 0,23	44,55 ± 3,19	3,37 ± 0,33
	3,0 кГр	1,51 ± 0,31	40,91 ± 2,22	3,69 ± 0,41
	контроль (без опромінення)	1,54 ± 0,16	42,67 ± 2,7	3,61 ± 0,17
Високоадгезивні (n = 2)	1,6 кГр	3,89 ± 0,73	81,55 ± 4,19	4,77 ± 0,53
	3,0 кГр	3,91 ± 0,31	77,51 ± 4,12	5,02 ± 0,43
	контроль (без опромінення)	4,14 ± 1,06	88,37 ± 3,66	4,68 ± 0,37

багатоклітинних спільнот, інкорпорованих в екстрацелюлярний полімерний матрикс власного виробництва. Для значної частини видів ця форма існування забезпечує оптимальні умови для реалізації патогенного та колонізаційного потенціалу, а також сприяє збереженню метаболічно неактивної частини популяції, що має надзвичайно низький рівень чутливості до впливу протимікробних засобів [7].

За результатами визначення біоплівкоутворюючої здатності неопромінених тест-штамів встановлено, що діапазон показників оптичної щільності екстрагованого барвника варіював від 0,4056 до 0,7402 од. (таблиця 3).

За впливу сублетальної дози потоку релятивістських електронів вказаний діапазон становив від

Таблиця 3 – Показники біоплівкоутворюючої здатності тест-штамів *P. aeruginosa* у залежності від поглинутої дози потоку релятивістських електронів

Тест-штами	Доза опромінення	Показники оптичної щільності екстрагованого барвника, од., (M ± m)
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	1,6 кГр	0,4352±0,0015*
	3,0 кГр	0,4322±0,0021*
	контроль (без опромінення)	0,7402±0,0009
Циркулюючі штами <i>P. aeruginosa</i> (n = 4)	1,6 кГр	0,0657±0,0218*
	3,0 кГр	0,0692±0,0305*
	контроль (без опромінення)	0,4056±0,1211

Примітка: * – різниця достовірна (p < 0,05) відносно контролю.

0,0657 до 0,4322 од. У всіх тест-штамів відмічено достовірне зниження біоплівкоутворюючої активності. Референтна культура *P. aeruginosa* ATCC 27853 мала у середньому у 1,6 разів менші показники оптичної щільності елюатів з біоплівок, утворених штамом після його опромінення електронним пучком (p < 0,05). Циркулюючі штами виявились більш чутливими до електронно-пучкового опромінення: у середньому показники знижувались у 6,6 разів (p < 0,001). Зазначено, що вказані зміни не залежали від дози опромінення – показники оптичної щільності екстрагованого барвника за впливу на тест-штами дози 1,6 кГр та 3,0 кГр статистично між собою не відрізнялись (p > 0,05).

Висновки

1. За результатами вивчення протимікробної післядії 12 енергетичних режимів застосування електронного пучка визначено, що дози до 0,8 кГр не мали статистично значимого впливу на тест-штами *P. aeruginosa* у модельних зразках. Бактеріостатична післядія електронного пучка спостерігалась при енергетичних навантаженнях від 0,8 до 3,8 кГр. Бактерицидний ефект спостерігався після опромінення тест-штамів дозами, починаючи з 4,0 кГр.
2. Опромінення модельних зразків тест-культур *P. aeruginosa* дозами, при яких синьогнійної палички зберігають життєздатність, спричиняє у 20,0–25,0% появу фенотипових модифікацій, які характеризувались зникненням або зниженням ферментативної активності, властивій конкретному виду. Усі виявлені фенотипові зміни зникали через 1–3 пасажу культур, тобто виявились неспадкоємними.
3. Показники адгезивної активності штамів після опромінення не мала статистично значимих змін. Визначено пригнічення біоплівкоутворюючої здатності тест-штамів синьогнійних паличок у 1,7–6,6 разів.

Перспективи подальших досліджень. Отримані результати дослідження дозволяють на даному етапі позитивно оцінити технологію знезараження за допомогою потоку релятивістських електронів з екологічних позицій, що вимагає подальшого вивчення впливу фізичного чинника на вірулентні властивості та чутливість до протимікробних препаратів тест-штамів.

References

1. Alimov AS. Prakticheskoye primeneniye elektronnykh uskoriteley. *Preprint Research and Development Institute for Nuclear Physics Moscow State University* № 2011. 13/877. Moscow; 2011. 40 p. [Russian]
2. Brilis VI, Brilene TA. Metodika izucheniya adgezivnogo protsessa mikroorganizmov. *Laboratornoye delo*. 1986; 4: 210-2. [Russian]
3. Chernyavskiy VI, Biryukova SV, Grishina Yel. Nefermentiruyushchiye gramnegativnyye bakterii v etiologii nozokomial'nykh infektsiy i problemy antibiotikorezistentnosti. *Annaly Mechnikovskogo instituta*. 2010; 4: 5-13. [Russian]
4. Peleg AY, Hooper DC. Hospital-Acquired Infections Due to Gram-Negative Bacteria. *N Engl J Med*. 2010 May 13; 362 (19): 1804-13. PMID: 20463340. PMCID: PMC3107499. Doi: 10.1056/NEJMra0904124
5. Fazeli H, Akbari R, Moghim S. Pseudomonas aeruginosa infections in patients, hospital means, and personnel's specimens. *Med Sci*. 2012 Apr; 17(4): 332–7. PMCID: PMC3526125. PMID: 23267393
6. Hamm Robert W. *Industrial Accelerators and Their Applications*. Ed by: Robert W Hamm (R & M Technical Enterprises, California, USA), Marianne E Hamm (R & M Technical Enterprises, California, USA). London: World Scientific Pub Co Inc; 2012. 436 p.
7. Hall-Stoodley LJ, Costerton W, Stoodley P. Bacterial biofilms: from the natural environment to infectious diseases. *Nature Reviews. Microbiology*. 2004; 2(2): 95–108. PMID: 15040259. DOI: 10.1038/nrmicro821
8. Smith MA. Evaluation of potential induced radioactivity in medical products as a function of electron energy in electron beam sterilization. *Radiation Physics and Chemistry*. 2012; 81: 57-63. DOI: 10.1016/j.radphyschem.2011.08.007
9. Oliver JD, Kjelleberg S. *Formation of viable but nonculturable cells. Starvation in bacteria*. New York: Plenum Press; 1993: 239-72.
10. O'Toole GA, Pratt GL, Watnick AP. Genetic approaches to study of biofilms. *Methods in Enzymology*. 1999; 310: 91-109. PMID: 10547784
11. Salmanov A, Atakishizade SA. Znachenije rezistentnosti bakteriy k antiseptikam i dezinfektantov v profilaktike vnutribol'nichnykh infektsiy. Innovatsionnyye tekhnologii infektsionnogo kontrolya: dezinfektsiya, sterilizatsiya, monitoring nozokomial'nykh infektsiy, ratsional'naya ispol'zovaniya antimikrobnykh preparatov, antimikrobnaya rezistentnost'. *Mater. mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii (Kyiv 20.04.2015) Agrar Media Grupp*. 2015: 44-54. [Russian]
12. Sokovnin SYu, Kotov YuA, Mesyats GA. Issledovaniye deystviya impul'snogo chastotnogo elektronnoho puchka na mikroorganizmy v vodnykh rastvorakh. *Ekologiya*. 1996; 3: 222-4. [Russian]
13. *Standartizatsiya prigotovleniya mikrobnykh suspenziy: Informatsionnoye pis'mo o novovvedenyakh v sisteme zdra-vookhraneniya №163-2006*. K: Ukrmedpatentinform; 2006. 10 p. (Normativnyy dokument. MZ Ukrainy; Ukrmedpatentinform. Informatsionny list). [Russian]
14. 14 Usvyatsov BYa, Khustudinova L, Pashuta LI. Rol' faktorov persistentsii i virulentnosti pri mikroekologicheskikh izmeneniyakh v organizme cheloveka. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii i immunobiologii*. 2006; 4: 58-61. [Russian]

УДК 537.533.9:579.841.11

ИССЛЕДОВАНИЯ ДЕЙСТВИЯ ПОТОКА РЕЛЯТИВИСТСКИХ ЭЛЕКТРОНОВ НА БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ШТАММОВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*

Скляр Н. И., Саркис-Иванова В. В., Осолодченко Т. П.,
Пономаренко С. В., Маркович И. Г.

Резюме. В данном исследовании определены режимы работы электронного ускорителя, которые обеспечивают бактериостатический и бактерицидный эффект в отношении тест-штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в модельных образцах. Установлено практически линейную зависимость доза-снижения количества жизнеспособных бактерий. Показано, что бактериостатическое последствие электронного пучка наблюдалось при энергетических нагрузках от 0,8 до 3,8 кГр. Бактерицидный эффект наблюдался после облучения тест-штаммов дозами, начиная с 4,0 кГр.

Установлено, что облучение модельных образцов сублетальными дозами релятивистских электронов вызывает у 10,0–20,0% появление фенотипических модификаций, которые характеризовались исчезновением или снижением активности отдельных ферментов, свойственных тест-штаммам *P.aeruginosa*. Указанные изменения не зависели от дозы облучения штаммов электронным пучком. Все выявленные фенотипические изменения исчезали через 1–3 пассажа культур, то есть оказались ненаследственными. Показатели адгезивной активности штаммов после облучения не имели статистически значимых изменений. Определено подавления биопленкообразующей способности тест-штаммов синегнойных палочек в 1,7–6,6 раз.

Ключевые слова: электронный пучок, *Pseudomonas aeruginosa*, ростовые, биохимические свойства, адгезивная активность, биопленкообразование.

UDC 537.533.9:579.841.11

Assessment of the Effect of Relativistic Electron Streaming on Biological Properties of *Pseudomonas Aeruginosa* Strains

Sklyar N. I., Sarkis-Ivanova V. V., Osolodchenko T. P., Ponomarenko S. V., Markovich I. G.

Abstract. *Pseudomonas aeruginosa* belong to a group of non-fermenting gram-negative bacteria (NFGNBs) with ubiquitous distribution, hardy and resistant to disinfectant solutions. The clonal link between clinical and isolated from hospital environment *P. aeruginosa* strains, which are believed to be the main source of infection in the hospital, has been confirmed.

An alternative to commonly used technologies of decontamination and sterilization of various objects is now the method of decontamination using an electron beam. The treatment of materials contaminated with microorganisms by a stream of relativistic electrons has a number of advantages over traditional technologies, namely instantaneous action, lack of consumables, safety, low power consumption, universality, lack of thermal effect, etc.

The purpose of the study was to determine the effect of the relativistic electron streaming on biological (growth, culture, biochemical, persistent) properties of *P. aeruginosa* strains in model objects.

Material and methods. Reference strains of *P. aeruginosa* ATCC 27853 and 5 circulating strains isolated from the internal environment of a surgical hospital were used as test strains.

Physical part of work (irradiation of objects by relativistic electrons streaming) was carried out at the National Research Centre «Kharkiv Physical-Technical Institute» of the National Academy of Sciences of Ukraine. We used a linear resonance pulsed electron accelerator with a beam-measuring system, on a wavelength running at 2850 MHz, assembled according to the traditional scheme. The irradiation of model objects by streaming the relativistic electrons was carried out at a distance of up to 30 cm from the accelerator outlet.

Results and discussion. We determined the modes of the electronic accelerator, providing bacteriostatic and bactericidal effect on *Pseudomonas aeruginosa* test strains in model samples. As a result a practically linear dose-reduction dependence of viable bacteria was established. Bacteriostatic aftereffect of the electron beam was observed at energy loads from 0.8 to 3.8 kGy. Bactericidal effect was observed after irradiation of test strains by doses starting from 4.0 kGy.

Irradiation of model samples with sublethal doses of relativistic electrons was shown to result in the appearance of phenotypic modifications in 10.0-20.0%, characterized by disappearance or reduction in the activity of certain enzymes typical for test strains of *P.aeruginosa*. 25.0% of the 32 biochemical features under investigation were found to have no fermentation of L-rhamnose, N-acetylglucosamine and acetate. The indicated changes did not depend on the dose of irradiation of the strains by an electron beam.

Conclusions. All the detected phenotypic changes disappeared through 1-3 passages of cultures; that is, they were non-hereditary. Indices of adhesive activity of strains after irradiation did not have statistically significant changes. We also noted the inhibition of the biofilm-forming ability of the test strains of *Pseudomonas aeruginosa* by 1.7–6.6 fold.

Keywords: electron beam, *Pseudomonas aeruginosa*, growth, biochemical properties, adhesive activity, biofilm formation.

The authors of this study confirm that the research and publication of the results were not associated with any conflicts regarding commercial or financial relations, relations with organizations and/or individuals who may have been related to the study, and interrelations of coauthors of the article.

Стаття надійшла 27.08.2018 р.

Рекомендована до друку на засіданні редакційної колегії після рецензування