

УДК 579.22:657.04:534-8

Некоторые особенности влияния ультразвука на микроорганизмы

Антушева Т. И.

В статье представлен краткий обзор современной научно-методической литературы, характеризующей ультразвуковые воздействия на биообъекты. Описаны механизмы и некоторые особенности влияния данного физического фактора на микроорганизмы. Рассмотрены различные биологические эффекты, возникающие у бактерий под действием ультразвуковых полей разной интенсивности и частоты. Приведены примеры и изложены перспективы практического применения ультразвуковых технологий в микробиологии.

Ключевые слова: ультразвук, кавитация, биообъекты, бактерицидный эффект, звуко-химические реакции, микроорганизмы, биологические свойства.

Some features of the effect of ultrasound on microorganisms

Antusheva T. I.

The article presents a review of current scientific and methodical literature characterizing the effects of ultrasound on biological objects. The mechanisms and some of the features of the influence of physical factors on microorganisms are

described. The different biological effects occurring in bacteria under the influence of ultrasonic fields of different intensity and frequency are considered. The examples and prospects of practical application of ultrasonic technology in microbiology are given.

Keywords: ultrasound, cavitation, biological objects, bactericidal effect, sound-chemical reactions, micro-organisms, biological properties.

Введение

В процессе эволюционного развития биообъектов на формирование их биологических свойств оказывали влияние многие абиотические факторы, в том числе природные фоновые излучения [21]. В последние десятилетия в связи с резко возросшей антропогенной и техногенной нагрузкой произошло резкое повышение уровня абиотических излучений и, соответственно, увеличилось влияние этих факторов на биоклетки, что с большой вероятностью может способствовать фенотипическим изменениям биологических свойств, вплоть до развития мутаций [4]. Поэтому, в современной микробиологии актуальными являются вопросы изучения особенностей и механизмов влияния внешних физических факторов на состояние микроорганизмов, в частности на бактерии, для возможного использования этих воздействий в решении прикладных задач и внедрения новых технологий в медицине и биологии.

Одним из факторов, способным влиять на функциональное состояние микроорганизмов, является ультразвук (УЗ) [1, 8, 25, 29, 31]. Несмотря на то, что УЗ давно используют в различных отраслях науки, техники, медицины его влияние на микроорганизмы требует более детального изучения. Ультразвуковые волны обладают большой механической энергией

и вызывают ряд физических, химических и биологических явлений. Поэтому не случаен интерес к изучению влияния и механизмам действия этого физического фактора на биологические объекты [1, 5, 13, 31].

Ультразвуковыми называются упругие акустические волны, способные распространяться в материальных средах (твердых, жидких, газообразных) [10]. Нижняя граница УЗ лежит в области 16—20 кГц, верхняя достигает сотен мегагерц. Обе границы достаточно условны и находятся за пределами слышимости человека [1]. Упругость обеспечивает возвращение в исходное положение частиц среды, смещенных под воздействием внешних сил. Частицы среды при этом не переносятся в направлении распространения волн, а лишь колеблются около положения равновесия. Возмущение от частиц, колеблющихся в каждом слое около положения равновесия, передается от слоя к слою по направлению распространения волны. Таким образом в акустической волне происходит перенос энергии без переноса вещества. Волны бывают продольными, если направление колебаний частиц совпадает с направлением распространения волн, и поперечными, если эти направления взаимно перпендикулярны [5, 12]. В газообразных и жидких средах, в том числе в мягких тканях макроорганизмов и в клетках микроорганизмов, состоящих на 75 % из воды, распространяются продольные волны [1, 31].

При прохождении УЗ в биологических объектах частицы среды совершают интенсивные колебательные движения с большими ускорениями, при этом на расстояниях, равных половине длины звуковой волны, в облучаемой среде могут возникать разности давлений от единиц до десятков атмосфер. Столь интенсивные воздействия на структуру биологических объектов приводят к различным эффектам, физическая природа которых связана с действием факторов, сопутствующих распространению ультразвука в среде: механического, теплового, физико-химического [37].

Одним из механизмов воздействия УЗ на биообъекты являются звукохимические реакции. Химические превращения наблюдаются при интенсивности УЗ от долей Вт/см² до десятков или сотен Вт/см² на частотах от 1 кГц до нескольких МГц. Так как эти частоты на много порядков меньше собственных частот колебаний молекул, химических изменений в системе вследствие резонансного поглощения УЗ не наблюдается и варьирование частоты в указанном диапазоне мало сказывается на характере возникающих в биосистеме реакций [31].

Биологическое действие ультразвуковых волн связывают в большей степени с явлением кавитации [1]. Кавитацией называется процесс образования в жидкой среде полостей, заполненных парами самой жидкости, которые возникают под действием больших разрывающих напряжений и в следующее мгновение захлопываются, сопровождаясь большими давлениями и локальным нагревом среды. Явление кавитации носит локальный характер и не перемещается в среде. Импульсы давления, возникающие при смыкании кавитационных камер, способны разрушать не только твердые и жидкие тела, но и многие биообъекты, в частности микроорганизмы [1, 24, 31].

Химическое действие УЗ при кавитации, возможно, обусловлено образованием на стенках кавитационной полости электрических микрозарядов с последующим электронным пробоем. Однако многие экспериментальные факты в рамках такого представления объяснить не удастся. Наиболее оправданным является представление о тепловом механизме химического действия кавитации, так как при адиабатическом сжатии кавитационного пузырька температура в нем может достигать 104 К [1]. Большинство химических превращений под действием УЗ происходит в водных растворах. При высокой температуре молекулы воды внутри кавитационного пузырька переходят в возбужденное состояние и расщепляются на радикалы Н⁺, ОН⁻, а также, возможно, ионизируются с образованием гидратированных электронов, т. е. электронов с присоединенными к ним нейтральными молекулами воды. Частично

радикалы рекомбинируют, причем состав конечных радикальных и молекулярных продуктов разложения воды в ультразвуковом поле зависит от природы растворенного в воде газа [43]. Так, при воздействии УЗ на воду, в которой растворен воздух, образуются оксиды азота и перекись водорода [10]. Кроме того, пропускание ультразвука через вещества ускоряет ход некоторых химических реакций. Обычно ускоряются реакции, идущие в присутствии H_2O_2 и H^+ , и особенно окислительные реакции под воздействием атомарного кислорода [3]. Ускорение ряда химических реакций обусловлено действием различных физико-химических эффектов, связанных с ультразвуковой дегазацией, диспергированием, эмульгированием, локальным нагреванием при кавитации и др. Под действием УЗ происходит детонация дихлористого азота, что способствует расщеплению белковых частиц [3]. Таким образом, ультразвуковые колебания могут применяться для инициирования химических реакций, осуществления ряда новых методов синтеза и ускорения медленных реакций в органической системе.

Имеются данные, что образование свободных радикалов OH^- и H^+ под действием УЗ вызывает изменение рН в биологических тканях в щелочную или кислую сторону в зависимости от интенсивности и продолжительности воздействия. Изменение рН воспаленных тканей в щелочную сторону вызывает анальгезирующий эффект вследствие резкого уменьшения воспалительных явлений, что используется в физиотерапии [17, 26].

Помимо химического воздействия, в зависимости от интенсивности и длительности облучения, УЗ оказывает различное механическое воздействие на биологические объекты. Так, при малых интенсивностях (до $2-3 \text{ Вт/см}^2$) на частотах порядка 10^5-10^6 Гц колебания частиц биологической среды производят своеобразный микромассаж тканевых элементов, способствующий лучшему обмену веществ [17, 26]. Для организма человека и животных такое воздействие улучшает снабжение тканей кровью и лимфой. Повышение интенсивности УЗ может привести к возникновению в биологических средах кавитации, а следовательно, и к механическому разрушению клеток и тканей; кавитационными

«зародышами» при этом служат всегда имеющиеся в цитоплазме биологических клеток газовые пузырьки.

При распространении УЗ в биологических средах происходит его поглощение и преобразование акустической энергии в тепловую [1]. Характерно, что образование тепла осуществляется не равномерно по всей толще тканей, а проявляется наиболее заметно на границах сред с волновыми сопротивлениями [36]. Однако значительное повышение интенсивности УЗ и увеличение длительности его воздействия могут привести к чрезмерному нагреву биологических структур и к их разрушению. Поэтому тепловой эффект наряду с кавитацией используют в качестве основных действующих факторов в ряде ультразвуковых хирургических операций, например для регенерации поврежденных тканей [36, 39].

Причиной изменений, возникающих в биологических объектах под действием УЗ, могут быть также вторичные эффекты физико-химического характера. Так, благодаря образованию акустических потоков, происходит энергичное перемешивание внутриклеточных микроскопических структур. Кавитация в среде приводит к разрыву молекулярных связей, молекулы воды, как уже описывалось выше, распадаются на свободные радикалы $\text{OH}\cdot$ и $\text{H}\cdot$, что является первопричиной действия УЗ. Подобным же образом происходит расщепление под действием УЗ высокомолекулярных соединений в биологических объектах (например, крахмала, нуклеиновых кислот, белковых веществ) [31, 35].

Наиболее удобным и наглядным материалом для исследования влияния УЗ на биологические свойства живых организмов являются микроорганизмы и простейшие, поскольку именно на одноклеточных организмах в естественной среде обитания или в суспензии возможно получить наиболее очевидные результаты влияния УЗ на отдельные биологические клетки.

Одной из основных особенностей воздействия УЗ на микроорганизмы можно считать его влияние на клеточные мембраны. Действие УЗ может приводить к существенному изменению механических, электрических и иных свойств клеточных мембран, а также к нарушению внутреннего состава клеток и изменению концентраций веществ, растворенных в цитоплазме [18, 23, 28, 31]. При длительном воздействии УЗ последствия остаются в течение некоторого времени после прекращения облучения, и нормальная жизнедеятельность клетки может не восстановиться в течении минут, часов или даже дней [31]. Разрыв клеточных мембран и нарушение механической целостности клеток — наиболее очевидное из возможных последствий ультразвукового облучения [23]. Установлено, что особенно опасен для микроорганизмов низкочастотный УЗ, т. к. мощный низкочастотный ультразвук способен механически разрывать клеточные мембраны, что приводит к нарушению целостности и гибели клеток [18, 34]. Однако даже при низких частотах механическое повреждение и гибель клеток происходят только при достаточно высоких интенсивностях УЗ, существенно превышающих физиологические дозы [28].

Изменение свойств мембраны под действием УЗ обусловлено по большей части «отрыванием» мощным излучением макромолекул и молекулярных комплексов с внешней поверхности мембраны. Оторванные соединения растворяются в окружающей среде и могут снова «вернуться» на свое прежнее место через некоторое время после прекращения ультразвукового воздействия. Оставшись без определенных составляющих, мембранные каналы меняют свою проводимость и иные свойства, в результате чего мембрана начинает аномально функционировать. У некоторых бактерий под действием УЗ наблюдается генерация мембраной электрического потенциала действия. Это вынужденное возбуждение связано с описанным выше изменением электрических свойств мембраны [24, 31].

Следующая важная особенность действия УЗ на микроорганизмы — изменение концентрации различных веществ в составе цитоплазмы за счет изменения равновесной концентрации веществ вне и внутри клетки:

акустическая волна создает микровихри в окружающей клетку среде, обеспечивая эффективное перемешивание раствора [1, 34, 40]. Таким образом воздействие УЗ приближает концентрацию веществ в цитоплазме, особенно ионов легких металлов, к их концентрации вне клетки [1, 40]. Это делает клетку более зависимой от состава внешней среды и может нарушить внутренние процессы жизнедеятельности. Нарушение внутреннего состава клетки и, как следствие, процессов ее жизнедеятельности, является наиболее глубоким и долгосрочным изменением. Последствия такого рода могут оставаться в силе по прошествии нескольких часов, а то и дней после окончания воздействия УЗ. По мере убывания интенсивности ультразвука эти последствия можно упорядочить следующим образом: нарушение целостности клетки – изменение свойств мембраны — изменение концентраций веществ в цитоплазме — нарушение жизнедеятельности [13, 31].

Эффекты, достигаемые в результате облучения ультразвуком биологических объектов, обычно обусловлены совместным действием многих факторов, и не всегда ясно, какой из них играет первостепенную роль. Решение ряда задач, связанных с практическим применением УЗ в микробиологии, предполагает изучение характера акустического поля, т. е. распределения в пространстве звукового давления или интенсивности [5, 10, 32].

Ультразвуковые колебания высокой интенсивности, как описывалось выше, повреждая клеточные оболочки микроорганизмов, вызывают их гибель. Еще с 1928 года ученые начали исследовать влияние УЗ на микроорганизмы и установили, что облучение бактерий группы кишечных палочек приводило к уменьшению их числа [39]. В последующие годы было опубликовано большое число работ о действии акустических волн на бактерии и вирусы. При этом выяснилось, что результаты могут быть очень разнообразные: с одной стороны, исследователи наблюдали повышение агглютинации, потерю вирулентности, или полную гибель бактерий, с другой стороны, отмечался обратный эффект — увеличение числа жизнеспособных

особей. Последнее особенно часто имело место после кратковременного облучения. Очевидно, кратковременное действие УЗ способствует механическому разделению скоплений бактериальных клеток, благодаря чему каждая отдельная клетка дает начало новой колонии [5, 25, 28, 40].

Большинство патогенных микроорганизмов чувствительны к действию низкочастотного ультразвука. Так, при облучении гноеродной микрофлоры ран УЗ низкой частоты увеличивает чувствительность бактерий, как Гр- (*P. aeruginosa*, *E. coli*), так и Гр+ (*S. aureus*) к действию дезинфицирующих и антибактериальных препаратов [20]. Эффективно применение низкочастотного ультразвука в сочетании с различными антимикробными препаратами и для лечения бактериальных инфекций, связанных с образованием биопленок. Биоакустический эффект проявляется в уменьшении жизнеспособности бактерий в биопленках в результате одновременного воздействия низкочастотного ультразвука и антимикробных препаратов [38].

Известно, что применение ультразвуковых волн малых интенсивностей (до 2 Вт/см²) обычно вызывает положительные биологические эффекты [1, 39, 40]. В опытах многих исследователей после обработки микроорганизмов ультразвуком малой интенсивности наблюдалось увеличение их чувствительности к лекарственным, противомикробным препаратам и дезинфицирующим средствам вследствие повышения проницаемости оболочки микробных клеток [20, 27, 29].

Применение сравнительно больших интенсивностей (3—10 Вт/см²) и длительное облучение, как правило, вызывают необратимые повреждения клеток, т. е. приводят к отрицательным биологическим эффектам. УЗ способствует разрыву клеточных стенок и мембран, повреждению флагеллина у подвижных форм микроорганизмов в результате возникновения высокого давления внутри клетки или появлении гидроксильных радикалов и атомарного кислорода в водной среде

цитоплазмы. Такое разрушающее действие УЗ давно используется в медицинской микробиологии [1, 24]. Известно, что при превышении определенной пороговой интенсивности УЗ, соответствующей возникновению в среде кавитации, происходит разрушение различных бактерий и вирусов; при этом имеет место прямопропорциональная зависимость между интенсивностью ультразвука и разрушающим эффектом. Именно таким образом с помощью ультразвука разрушают микобактерии туберкулеза, возбудителей тифа, коклюша, вирусы полиомиелита, энцефалита и бешенства, некоторые виды кокков (стафилококки, стрептококки) и т. д. [12, 14, 18, 24]. Ниже такого порога интенсивности УЗ не только не наступает разрушение жизнеспособных микроорганизмов, но при определенных условиях происходит стимуляция их роста и, как следствие, увеличение их числа [5, 28].

Механизм бактерицидного действия УЗ в литературе объясняется двумя теориями: кавитационно-механической и кавитационно-электрохимической [24]. Согласно первой теории считают, что ультразвуковые волны, распространяясь в упругой среде, вызывают в ней попеременные сжатия и разряжения. В клетке создаются огромные давления, достигающие десятков и сотней мПа, что вызывает механическое разрушение цитоплазматических структур и гибель клетки. Кавитационно-электрохимическая теория объясняет ионизацию паров жидкостей и присутствующих в ней газов при образовании кавитационного пузырька. При разрыве пузырька происходит электрический разряд, сопровождающийся резким повышением температуры и образованием в кавитационной полости электрического поля высокого напряжения. При этом пары жидкости и высокомолекулярные соединения в кавитационной полости расщепляются на водород и гидроксильную группу с образованием активного кислорода, перекиси водорода, азотистой и азотной кислот, в результате чего происходят инактивация ферментов и коагуляция белков. Все это обуславливает гибель микробной клетки [24, 43]. Наиболее опасен для жизнедеятельности микробов низкочастотный УЗ (от 20 кГц до 100 кГц), приводящий в первую очередь к их дезинтеграции [1, 5, 18, 35]. Однако эффективность действия УЗ при одной и той же интенсивности и частоте

колебаний также зависит от продолжительности воздействия, химического состава облучаемой среды, ее вязкости, температуры, рН и исходной степени обсемененности микроорганизмами. Чем больше микроорганизмов, тем продолжительнее должно быть воздействие для достижения стерилизующего эффекта [1, 5, 14, 32].

Устойчивость бактерий к действию УЗ зависит также от их биологических свойств. Вегетативные клетки более чувствительны, чем споры, кокковые формы погибают медленнее, чем палочковидные, более крупные клетки микроорганизмов отмирают быстрее, чем мелкие (максимальная чувствительность у лептоспир, а наиболее устойчивы стафилококки) [5, 13, 24]. Низкочастотный УЗ применяют для дезинтеграции микроорганизмов при изготовления вакцин, мойки и стерилизации стеклянной тары, а также при извлечении внутриклеточных ферментов, токсинов, витаминов, нуклеиновых кислот и других компонентов клетки [14, 22]. Ведутся исследования по применению УЗ-энергии для стерилизации питьевой воды [32].

Благодаря бактерицидному эффекту действия ультразвука в настоящее время УЗ-технологии применяют для стерилизации пищевых продуктов (молоко, фруктовые соки, вина) [14, 16, 42]. Преимущество стерилизации пищевых продуктов при облучении ультразвуком заключается в том, что консервируемый продукт не подвергается, как это обычно делается, нагреву до высокой температуры, и, следовательно, его вкусовые качества остаются достаточно высокими. Интересны опыты пастеризации и гомогенизации молока: авторы утверждают, что ультразвук не только уничтожил микробы, но и сильно размельчил и раздробил капельки жира, содержащегося в молоке, вследствие чего такое молоко стало значительно лучше усваиваться организмом [35].

Успешно применяют УЗ в очистке сточных и стоячих вод [32]. Получены данные о стимуляции сообществ микроорганизмов в бассейнах биологической очистки при применении ультразвука низкой частоты.

У резидентных сообществ микроорганизмов в рассматриваемых водоемах интенсифицировался обмен веществ, увеличивалась скорость биосинтеза биологически активных соединений, ускорялась адаптация клеток к новым условиям [32]. Так, воздействие ультразвуком на клетки плесени *Aspergillus niger*, играющих важную роль в процессе очистки вод, в 1,5 раза ускоряло их развитие, что способствовало увеличению скорости утилизации веществ из сточных вод [32].

Разрушительное действие УЗ распространяется не только на бактерии, но и на некоторые вирусы. Ультразвуковые волны при частоте колебания 1—1,3 МГц в течение 10 минут оказывают бактерицидный эффект на указанные микроорганизмы. Это позволяет использовать его для инактивации и дезинтеграции вирусов и других микроорганизмов с целью получения антигенов, вакцин и диагностикумов [15, 22, 33]. Подвергая бактерии ультразвуковому воздействию определенной частоты и интенсивности, можно выделить из них не только антигены, но и токсины. Более того, действие ультразвука на выделенные токсины патогенных микроорганизмов может приводить к изменению их биологических свойств, что особенно важно для борьбы с возбудителями опасных инфекций. [2, 7, 8, 19].

В последнее время повышенное внимание к ультразвуковым технологиям в микробиологии обусловлено не только непосредственным воздействием на биообъекты, но также возможностью применения их для решения задач, связанных с изменениями физико-химических характеристик субстратов для культивирования микроорганизмов. Применение таких технологий актуально для регулирования состава искусственных питательных сред, в частности концентрации и активации молекулярного кислорода путем ультразвуковой дегазации среды [5]. Таким образом снижение концентрации кислорода в субстрате или в суспензии микроорганизмов обеспечивает микроаэрофильные условия культивирования бактерий, максимально приближая к условиям колонизации макроорганизма, что особенно важно для изучения процессов патогенеза многих инфекционных заболеваний и устойчивости к химиопрепаратам.

В настоящее время применение ультразвуковых технологий является перспективным для разработки иммунобиологических препаратов нового поколения, поскольку рассмотренные в статье процессы кавитации могут быть использованы для перемещения определенных биомолекул внутрь бактериальных клеток, вызывая направленные изменения их биологических свойств.

Список литературы

1. Акопян, В. Б. Основы взаимодействия ультразвука с биологическими объектами: Ультразвук в медицине, ветеринарии и экспериментальной биологии. М. : МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2005. - 224 с.
2. Бабич, Е. М. та ін. Імунобіологічна характеристика окремих фракцій правцевого анатоксину до та після впливу ультразвукових хвиль // Аналі Мечниковського інституту. 2012. №3. С.25-31. URL: <http://www.imiamn.org/journal.htm> (дата обращения: 10.12.2012).
3. Бакланов, А. Н., Чмиленко, Ф. А. Сонолюминисценция в химическом анализе (Обзор) [Электронный ресурс] // Методы и объекты химического анализа. 2006. т. 1, № 2. С. 105-107. URL: http://www.nbuu.gov.ua/portal/chem_biol/moca/2006_2008/pdf/01022006-105.pdf (дата обращения: 11.04.2011).
4. Балаклиец, Н. И., Тагаев, П. А. Экология и микроорганизмы. Харьков: ХООО «НЭО «ЭкоПерспектива», 2008. – 176 с.
5. Бергман, Л. Ультразвук и его применение в науке и технике. Пер. с нем. под редакцией В. С. Григорьева и Л. Д. Розенберга. М.: Изд-во иностранной литературы, 1957.- 726 с.
6. Бойко, М. М., Зайцев, О. І. Вивчення впливу ультразвуку на кінетику вилучення біологічно активних речовин з рослинної сировини. // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. 2008. Т 3. №3. - С.53-55.

7. Борискина, К. И. Иммуногенные свойства озвученных микробных антигенов // В сб.: Вопросы иммунологии и микробиологии. Куйбышев, 1971. - С.15.
8. Буц, В. А., Скибенко, К. П. Изменение иммуногенности клеток и супернатанта под воздействием ультразвука. // Биофизика. 1991. том 36. вып. №5. - С. 263-265.
9. Волков, Н. В. Основы ультразвуковой диагностики : учеб.-метод. пособие. Гродно : ГрГМУ, 2005. - 46 с.
10. Гайдамака, И. И. Физическая характеристика и механизм действия ультразвука. [Электронный ресурс] / Сайт медиков-радиологов. URL: <http://smham.ucoz.ru/publ/2-1-0-55> (дата обращения: 05.05.2009).
11. Гайнетдинов, Р. Х. Многопузырьковая сонолюминесценция водных растворов, хлоридов, лантанидов. // Автореф. дис. ... канд. физ.-мат. наук: Башкирский гос. ун-т. – Уфа : 2006. - 22 с.
12. Голямина, И. П. Ультразвук. Маленькая энциклопедия – М.: Советская энциклопедия, 1979. – 400 с.
13. Демин, И. Ю., Прончатов-Рубцов, Н. В. Современные акустические методы исследований в биологии и медицине (учебно-методические материалы) [Электронный ресурс] // Электронный курс лекций. URL: <http://www.unn.ru/pages/issues/aids/2007/37.pdf> (дата обращения: 20.01.2013).
14. Дрейд, А. И. Применение ультразвука. [Электронный ресурс]. 2000. URL: <http://www.rezonans-npk.ru> (дата обращения: 03.02.2009).
15. Єлисеєва, І. В. та ін. Біологічна характеристика антигенів збудника дифтерії, виділених за допомогою фізико-хімічних методів [Електронний ресурс] // Аналіз Мечніковського інституту. 2008. №3. С.25 – 31. URL: <http://www.imiamn.org/journ/> (дата обращения: 02.02.2009).
16. Зубченко, В. С., Вітряк, О. П., Ткаченко, Л. В. Вплив ультразвукової обробки на стійкість напоїв бродіння // Харчова промисловість. 2008. №7. С.51-53.
17. Зятиков, В. Н. РЕТОН. Аппарат для ультразвуковой терапии. Томск, 2007. - 138 с.

18. Исаенко, Е. Ю. Применение ультразвука для дезинтеграции микробных клеток. [Электронный ресурс] // Annals of Mechnicov Institute. 2008. №1. С.5-9 URL: <http://www.imiamn.org/journal.htm> (дата обращения: 15.11.2008).
19. Калініченко, С. В. та ін. Вплив фізичних чинників на специфічну активність та безпечність дериватів дифтерійного токсину // Эпидемиология, экология и гигиена : Сб. мат. 14-ой итоговой региональной науч.-практ. конф. Харьков, 2011. Ч.2. - С. 119-124.
20. Кирющенкова, С. В. Сравнительная микробиологическая оценка эффективности физических методов лечения гнойных ран [Электронный ресурс] // ГОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская Академия МЗ и СР РФ», Смоленск, 2005. URL: <http://www.dissercat.com/> (дата обращения: 04.05.2012)
21. Корж, О. П. Основи еволюції : навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів. Суми : Університетська книга, 2006. - 381 с.
22. Литвинова, Н. К. Пути повышения эффективности ультразвукового воздействия для выделения коклюшных антигенов и конструирования эритроцитарных диагностикумов. // Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Ростов-на-Дону, 1982. – 24 с.
23. Мошиашвили, И. Я. Селезнева, С. Н., Сандулова, С. Л. Электронномикроскопическое изучение морфологии коклюшных микробов, обработанных ультразвуком // Журн. микроб., эпид. И иммунобиологии. 1969. № 6. – С. 126–128.
24. Перельман, М. И., Моисеев, В. С. Бактерицидное действие ультразвука // Проблемы техники в медицине. - Таганрог, 1980. - 38-41.
25. Перс, И. Ф., Жданова, Л. Г. Действие ультразвука на биологические свойства бактерий кишечной группы. Сообщение IT. Изменение биохимических свойств и антигенной структуры шигелл и сальмонелл под влиянием ультразвука // ЖМЭИ. 1964. №3. - 27.
26. Пономаренко, Г. Н. Биофизические основы физиотерапии. СПб. : «ВмедА», 2003. – 152 с.
27. Сабельникова, Т. М., Черкашин, В. В., Половой, А. М. Совместное воздействие ультразвука и антисептиков на гноеродные бактерии //

- Тр. МВТУ им. Н.Э. Баумана, 1980. №319. - Ультразвук и другие виды энергии в хирургии. – С. 59-63.
28. Сидоров, М. А. О действии ультразвука на некоторые патогенные анаэробные и аэробные микроорганизмы // Автореф. дис. ... канд. вет. наук. – М, 1964. – 24 с.
29. Симонян, З. Г., Кавтарадзе, Ц. В. Влияние ультразвуковых волн на патогенные свойства стафилококков и их чувствительность к антибиотикам // Тр. НИкожно-венерол. института МЗГССР. 1970. Т. 13-14. – С. 381-388.
30. Смердов, А. А., Волков, С. И., Ландар, А. А. Вплив УВЧ-опромінення на інтенсивність обмінних процесів у насінні. // Вісник Полтавської державної аграрної академії. 2008. №2. - С.172-174.
31. Сорока, С. А. Влияние акустических колебаний на биологические объекты // Вибрация в технике и технологиях. 2005. № 1. - С. 39 – 41.
32. Физические основы применения ультразвука в медицине и экологии: учебно-методическое пособие. Под общ. ред. профессора С. П. Кундаса. Минск : МГЭУ им. А.Д.Сахарова, 2009. - 110 с.
33. Чуприна, Р. П. Сравнительная характеристика иммуногенных, антигенных и токсических свойств препаратов коклюшных и паракоклюшных микробов, полученных методом ультразвуковой дезинтеграции // Труды Ташкентского научно–исследовательского института вакцин и сывороток. 1970. Т. VIII, № 22. – С. 63–70.
34. Шапхаев, Э. Г., Цыренов, В. Ж., Чебунина, Е. И. Основы биотехнологии. Дезинтеграция микробных клеток. Улан-Уде, 2005. - С. 53–65.
35. Шилиев, А. С. Ультразвук в науке, технике и технологии. Гомель : Институт радиологии, 2007. - 412 с.
36. Филоненко, Е. А., Хохлова, В. А. Моделирование тепловых процессов в биологических тканях при воздействии сфокусированным ультразвуком. // Вестник Московского университета. серия 3. Физика, астрономия, 1999. №6. - С. 29-30.
37. Эльпинер, И. Е. Биофизика ультразвука. - М.: Наука, 1973. - 384с.
38. Bartley, J., Young, D. Ultrasound as a treatment for chronic rhinosinusitis. // Med. Hypotheses, 2009. V.73. №1. - P.15-17.

39. Dison, M., Pond, J. The effect of pulsed ultrasound on tissue regeneration // *Physiotherapy*. 1978. Vol. 64. №4. - P. 105-108.
40. Harvey, E. N., Loomis, A. L. High Frequency Sound Waves of Small Intensity and Their Biological Effects // *Nature*, 1928. №121 – P.622.
41. Harvey, E. N., Loomis, A. L. High Speed Photomicrography of Living Ceel Subjected to the Supersonic Vibration // *Journ. Gen. Physiol.*, 1931. №15 – С.147.
42. Thomas J. Montville, Karl R. Matthews, and Kalmia E. Kniel. *Food Microbiology: an Introduction*, Third Edition ASM Press. 2012. 570 с. URL: <http://estore.asm.org/>. (дата обращения: 10.05.2013.)
43. Weissler, A. Formation of hydrogen peroxide by ultrasonic waves: free radicals // *J. Am. Chem. Soc.* 1959. Vol. 81. - P. 1077-1081.