

Количество лактозопозитивных колоний в опытном и контрольном образцах в двух разведениях по два повторения в каждой

образцы	Количество колониеобразующих единиц (КОЕ)				медиана
	Разведение 10^{-3}		Разведение 10^{-4}		
	1 повторение	2 повторение	1 повторение	2 повторение	
опытный	33	37	3	5	35
контрольный	25	33	3	4	31,5

Значение медианы для опытного образца составило 35КОЕ, для контрольного 31,5КОЕ. При сравнении опытного и контрольного образца статистически достоверных различий по количеству КОЕ выявлено не было.

Выводы

Добавление в почву удобрения «Байкал-ЭМ» не влияло на численность колиформных бактерий.

Список литературы:

1. Аллахвердиев, С.Р. Современные технологии в органическом земледелии / С.Р. Аллахвердиев, В.И. Ерошенко // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2017. – №1. – С.76-79

2. Общая микробиология. Иллюстрированное учебное пособие. / Н.В. Литусов. – Екатеринбург. – 2015. – 517 с.

3. Соколов, М.С. Методология и показатели санитарно-микробиологического контроля безопасности почвы / М.С. Соколов, Д.М. Соколов, С.Н. Тымчук, В.Е. Ларин // Биосфера. – 2014. – Т.2. – № 2. – С. 158-169

УДК 57.083.12

Зубарева А.С., Гитман Т.А., Зорников Д.Л.
**ОТРАБОТКА МЕТОДИКИ ПОДСЧЕТА ЖИЗНЕСПОСОБНЫХ
БАКТЕРИАЛЬНЫХ КЛЕТОК ESCHERICHIA COLI В
БАКТЕРИАЛЬНЫХ БИОПЛЕНКАХ НА ПОВЕРХНОСТИ
МЕТАЛЛИЧЕСКОГО ВИНТА**

Кафедра микробиологии, вирусологии и иммунологии
Уральский государственный медицинский университет
Екатеринбург, Российская Федерация

Zubareva A.S., Gitman T.A., Zornikov D.L.
**THE METHOD OF CALCULATING VIABLE BACTERIAL CELLS WITHIN
BIOFILM OF ESCHERICHIA COLI ON METAL SCREW**

Department of Microbiology, Virology and Immunology
Ural State Medical University

Yekaterinburg, Russian Federation

Email: ananaszus@gmail.com

Аннотация. Отработана методика подсчета жизнеспособных бактериальных клеток внутри биопленок *Escherichia coli* на поверхности стальных винтов.

Annotation. In this research was performed the method of calculating viable bacterial cells within biofilm of *Escherichia coli* on metal screw.

Ключевые слова: *Escherichia coli*, бактериальные биопленки, культуральный метод, металлический винт.

Key words: *Escherichia coli*, bacterial biofilms, culture method, metal screw.

Введение

Известно, что 99% бактерий существуют в природных экосистемах в виде специфически организованных, прикрепленных к субстрату биопленок. Бактерии составляют 5-35% массы биопленки, остальная часть — межбактериальный матрикс [2]. Структурная природа биопленок может защищать клетки от действия антимикробных агентов и факторов иммунной защиты человека. Инфекции, ассоциированные с бактериальными биопленками, являются насущной проблемой современной медицины. В настоящее время активно разрабатываются подходы к их профилактике и лечению [1].

Образование биопленок на поверхности имплантатов является проблемой в травматологии. Формирование биопленок, за счет устойчивости к воздействию различных факторов, может приводить к отторжению имплантатов, сепсису. Перспективным направлением в травматологии и ортопедии является создание свойств имплантата, при которых не будет происходить образование биопленки. В настоящее время ряд исследователей пытается решить эту проблему при помощи нанесения на поверхности имплантатов покрытий с различными антибиотиками либо напылением серебра. Одним из вариантов решения проблемы имплантат-ассоциированных инфекций является нанесение на травматологические имплантаты специальных покрытий, которые обеспечивают локальное длительное по времени высвобождение антибактериальных веществ в непосредственной близости от имплантата [2].

Отсюда, весьма актуальным направлением исследований является поиск и отработка надежных и доступных методов оценки влияния данных покрытий на жизнеспособность бактерий внутри биопленки.

Цель исследования – отработать методику подсчета жизнеспособных бактериальных клеток *Escherichia coli* ATCC 352/8, содержащихся в бактериальных биопленках на поверхности металлического винта.

Материалы и методы исследования

Исследование проводили на кафедре микробиологии, вирусологии и иммунологии Уральского государственного медицинского университета.

В качестве исследуемой культуры использовали музейный штамм *E. coli* ATCC 352/8.

Стальной винт (длина 16 мм, диаметр резьбы 3 мм) предварительно очищали и помещали на 15 минут в дистиллированную воду для удаления растворимых веществ. Далее очищенный винт стерилизовали в воздушном стерилизаторе. Стерильный винт помещали в пробирку с 24-часовой бульонной культурой *E. coli* ATCC 352/8 и инкубировали при температуре 37°C в аэробных условиях в течение 48 часов.

После инкубирования винт с помощью дозатора трижды отмывали 1 см³ стерильного физиологического раствора для удаления планктонных форм бактерий. Очищенный от планктонных форм бактерий винт помещали в эппендорф с 1 см³ стерильного физиологического раствора.

Эппендорф, содержащий исследуемый винт и 1 мл стерильного физиологического раствора вортексировали в течение 1 минуты. После этого стерильным пинцетом перемещали винт в следующий эппендорф с 1 мл стерильного физиологического раствора и снова вортексировали в течение 1 минуты. Далее данную процедуру повторяли еще 3 раза.

Из 5 полученных бактериальных суспензий готовили серии десятикратных разведений (от 10⁰ до 10⁻⁴). Далее из каждого разведения выполняли посев по 200 мкл суспензии на 2 чашки с агаром Эндо. Посевы инкубировали при температуре 37°C в аэробных условиях в течение 24 часов. После чего производили подсчет образовавшихся лактозопозитивных колоний.

Результаты исследования и их обсуждение

Количество колониеобразующих единиц (КОЕ) *E. coli*, полученных при посеве после 1, 2, 3, 4 и 5 минут вортексирования винта, представлены в таблице 1.

Таблица 1

Количество КОЕ *E. coli* после 1, 2, 3, 4 и 5 минут вортексирования винта в стерильном физиологическом растворе (посев 200 мкл раствора)

Разведение	Минуты вортексирования									
	1		2		3		4		5	
	П.1	П.2	П.1	П.2	П.1	П.2	П.1	П.2	П.1	П.2
10 ⁰	-	-	1010	990	390	514	27	44	23	20
10 ⁻¹	-	-	517	712	30	34	5	5	1	2
10 ⁻²	-	-	45	75	52	109	0	1	0	0
10 ⁻³	469	336	9	14	1	0	0	0	0	0
10 ⁻⁴	162	334	0	1	0	0	0	0	0	0

*П.1/П.2 – Повторение 1/Повторение 2.

Далее на основе полученных результатов рассчитывали исходные количества бактериальных клеток, полученных после вортексирования винта в

1 мл физиологического раствора. В каждой серии учитывали результаты двух наиболее показательных чашек (с количеством КОЕ максимально близким к диапазону 30-300) из соседних разведений (таблица 2). С этой целью полученные в каждой пробе количества КОЕ (после посева 200 мкл раствора) умножали на 5 (для приведения к количеству, содержащемуся в общем объеме бактериальной суспензии) и на разведение бактериальной культуры.

Таблица 2

Исходное количество КОЕ *E. coli* после 1, 2, 3, 4 и 5 минут вортиксирования винта в стерильном физиологическом растворе.

Минуты	Разведение	Повторение 1	Повторение 2	Медиана (межквартильный размах)
1	10^{-3}	$10^{6,4}$	$10^{6,2}$	$10^{6,7}$ ($10^{6,3} - 10^{7,0}$)
	10^{-4}	$10^{6,9}$	$10^{7,2}$	
2	10^{-2}	$10^{4,4}$	$10^{4,6}$	$10^{4,6}$ ($10^{4,5} - 10^{4,7}$)
	10^{-3}	$10^{4,7}$	$10^{4,8}$	
3	10^{-1}	$10^{3,2}$	$10^{3,2}$	$10^{4,1}$ ($10^{3,2} - 10^{4,5}$)
	10^{-2}	$10^{4,4}$	$10^{4,7}$	
4	10^0	$10^{2,1}$	$10^{2,3}$	$10^{2,4}$ ($10^{2,3} - 10^{2,4}$)
	10^{-1}	$10^{2,4}$	$10^{2,4}$	
5	10^0	$10^{2,1}$	$10^{2,0}$	$10^{2,0}$
	10^{-1}	$10^{1,7}$	$10^{2,0}$	

Концентрация бактерий на каждой минуте вортиксирования винта закономерно уменьшалась. С каждой минутой отмечали снижение количества КОЕ на 1-2 порядка. После 1-й минуты вортиксирования исходная концентрация бактерий была $10^{6,7}$ КОЕ/мл, тогда как после 5-й минуты фиксировали концентрацию бактерий только в 100 КОЕ/мл.

Полученные результаты позволяют предположить, что после 5 минут вортиксирования металлического винта, с находящимися на его поверхности биопленками *E. coli*, большинство микробных клеток высвобождается в раствор. Однако возможно, что на поверхности винта по-прежнему остаются бактериальные клетки, для снятия которых могут потребоваться дополнительные воздействия на биопленку (например, обработка ДНКазами). Тем не менее, предложенная методика может использоваться в качестве легко воспроизводимого подхода для подсчета живых бактериальных клеток внутри биопленок. Последнее может понадобиться при исследовании эффективности новых антибактериальных покрытий для имплантатов в травматологии.

Выводы:

1. Предложенный метод может быть использован для подсчета жизнеспособных бактериальных клеток внутри биопленок, образованных штаммом *E. coli* ATCC 352/8 на поверхности металлических винтов.

2. На 5-й минуте вортексирования винта отмечали высвобождение единичных клеток *E. coli* ATCC 352/8; фиксировали рост 100 КОЕ.

Список литературы:

1. Галимзянов Х. М. Клиническое значение биопленкообразования у бактерий / Х. М. Галимзянов, О. А. Башкина, Э. Г. Досмуханова, Р. О. Абдрахманова и др. // Астраханский медицинский журнал. – 2018. – №4
2. Тапальский Д. В. Биосовместимые композиционные антибактериальные покрытия для защиты имплантатов от микробных биопленок / Д. В. Тапальский, В. А. Осипов, Г. Н. Сухая, М. А. Ярмоленко и др. // Проблемы здоровья и экологии. – 2013. – №2. – С. 36

УДК 615.849.19:616.318-018.25-076.5

Карасов И.А.

**ВЛИЯНИЕ НИЗКОИНТЕНСИВНОГО ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ
ЗЕЛЕНОГО СПЕКТРА НА ЦИТОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
БУККАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ**

Кафедра микробиологии и вирусологии

Пермский государственный медицинский университет им.акад. Е.А. Вагнера

Пермь, Российская Федерация

Karasov I.A.

**INFLUENCE OF LOW-INTENSE LASER RADIATION OF GREEN
SPECTRUM ON THE CYTOLOGICAL FEATURES OF BUCCAL
EPITELIUM**

Microbiology and Virology Department

Acad. E.A. Wagner Perm State Medical University

Perm, Russian Federation

E-mail: imyarek.yozhin@mail.ru

Аннотация. В исследовании проведена оценка влияния низкоинтенсивного лазерного излучения зеленого спектра на цитологические особенности буккальных эпителиоцитов и их естественную колонизацию микроорганизмами. Показано, что лазерное излучение зеленого спектра не оказывает существенного влияния на цитологические особенности буккальных эпителиоцитов. При этом отмечена тенденция снижения численности клеток, в большом объеме колонизированных микроорганизмами, что может быть обусловлено снижением их функциональной активности или жизнеспособности.

Annotation. The investigation assessed the effect of low-intensity laser radiation of the green spectrum on the cytological features of buccal epithelial cells and their natural colonization by microorganisms. It was shown that laser radiation of