

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ПЕРМСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ  
УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ АКАДЕМИКА Е.А. ВАГНЕРА»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
(ФГБОУ ВО ПГМУ им. академика Е.А. Вагнера  
Минздрава России)  
ИНН 5902290120/КПП 590201001  
ОРГН 1025900528873  
ОКПО 01963404 ОКАТО 57401000000  
614990 г. Пермь, ул. Петропавловская, 26  
Тел. (342) 217-10-31, факс (342) 217-10-30  
Телефон для справок: (342) 212-04-04  
E-mail: rector@psma.ru

15.11.2018 № 8685  
На № \_\_\_\_\_ от \_\_\_\_\_

**Отчет**  
по оценке выживаемости микроорганизмов при экспозиции в насыщенной  
кислородом воде

На базе кафедры микробиологии и вирусологии ФГБОУ ВО «ПГМУ имени академика Е.А. Вагнера» проведены исследования по оценке влияния воды, насыщенной кислородом, торговой марки «O<sub>2</sub> alive» на представителей некоторых видов бактерий в планктонной культуре и биопленке.

**Объекты и методы исследования.** Объектами исследования являлись референтные и клинические штаммы бактерий: *Staphylococcus aureus* ATCC®25923, *Staphylococcus epidermidis* ATCC®29887, *Escherichia coli* ATCC®25922, *Streptococcus* sp., *Candida albicans*.

Суспензии клеток ночных культур бактерий, стандартизованных до 2,0 по стандарту McFarland ( $10^8$  клеток/мл) и 100-кратно разведенных ( $10^6$  клеток/мл), двукратно отмывали от ростовой среды в физиологическом растворе и ресуспендировали в 100 мл воды, обогащенной кислородом или 0,9% NaCl (контроль), выдерживали в течение 1 ч и 4 ч соответственно, готовили серийные разведения и проводили высевы на селективные агаризованные среды.

Биопленки формировали в лунках 96-луночного плоскодонного иммунохимического полистиролового планшета в течение 24 часов, затем двукратно отмывали от планктонной культуры в физиологическом растворе и добавляли 100

мкл обогащенной кислородом воды или 0,9% NaCl (контроль), и также выдерживали в течение 1 ч и 4 ч. Количество жизнеспособных клеток в биопленках оценивали по числу колониеобразующих единиц (КОЕ/мл), для чего обрабатывали планшеты ультразвуком 5 раз по 1 мин (Elma Ultrasonic 30S, Германия). Полученную суспензию бактерий разводили децимально в круглодонных иммунохимических планшетах и высевали на селективные агаризованные среды.

Биомассу биопленки оценивали согласно O'Toole [O'Toole et al., 1998]. Измеряли оптическую плотность спиртовых растворов после экстракции генцианвиолета на планшетном ридере Tecan infinite M200 (Tecan, Швейцария) при длине волны 570 нм в ОЕ.

Статистический анализ проводили с использованием программ Microsoft office Excel и STATISTICA 10. Показатели представлены в виде среднего арифметического и его ошибки ( $M \pm m$ ). Достоверность различий средних величин определяли с помощью *t*-критерия.

**Результаты.** В высокой концентрации бактерии всех референтных штаммов были устойчивы в воде, обогащенной кислородом: их численность не различалась от контроля (таблица). При использовании бактерий *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, в концентрации  $10^6$  клеток/мл выявлена тенденция к снижению числа клеток в планктоне в опыте по сравнению с контролем: 1,52E+06 vs 2,38E+05, 1,02E+06 vs 5,67E+05, 4,86E+07 vs 1,94E+07, соответственно, но разница была статистически не достоверна.

Таблица 1

**Количество жизнеспособных клеток в планктоне/биопленке и биомасса биопленки при экспозиции бактерий в воде, насыщенной кислородом**

A

Штамм бактерий, условия эксперимента		Планктон		Биопленка			
		Жизнеспособность, КОЕ/мл		Жизнеспособность, КОЕ/мл		Биомасса биопленки ОП <sub>570</sub>	
		Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль
Sa	$10^8$	3,99E+08 ± 2,07E+08	7,58E+08 ± 4,83E+08	2,88E+06± 2,23E+06	1,93E+06± 2,02E+06	0,170± 0,004	0,135± 0,003*

Se	1 ч	6,50E+08 ± 2,12E+08	4,05E+08 ± 8,19E+07	2,81E+05± 1,54E+05	3,06E+05± 1,15E+05	0,113± 0,006	0,106± 0,015
Ec		3,63E+08 ± 6,72E+07	2,09E+08 ± 1,79E+08	1,28E+07± 6,36E+06	8,50E+06± 1,06E+06	0,648± 0,033	0,842± 0,001*
Sa	$10^6$	2,38E+05 ± 1,94E+05	1,52E+06 ± 1,07E+06	8,08E+06± 8,29E+06	7,09E+06± 2,93E+06	0,198± 0,028	0,137± 0,013*
Se		5,67E+05 ± 3,40E+05	1,02E+06 ± 7,65E+05	2,04E+06± 1,60E+06	1,32E+07± 2,19E+07	0,146± 0,023	0,100± 0,011
Ec		1,94E+07 ± 9,44E+06	4,86E+07 ± 1,53E+06	5,55E+07± 1,52E+06	4,66E+07± 7,67E+06	0,896± 0,042	0,953± 0,116

### Б

Штамм бактерий, условия эксперимента	Планктон		Биопленка				
	Жизнеспособность, КОЕ/мл		Жизнеспособность, КОЕ/мл		Биомасса биопленки, ОП <sub>570</sub>		
	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	
St	$10^8$	9,52E+08± 6,36E+07	6,68E+08 ± 8,12E+08	1,76E+07± 2,74E+05	5,51E+06± 2,77E+06	0,302± 0,004	0,312± 0,006
Ca		6,13E+06± 8,84E+05	1,55E+07 ± 1,34E+07	1,13E+04± 6,13E+03	2,85E+04± 1,63E+04	0,416± 0,004	0,388± 0,015*
St	$10^6$	2,09E+07± 2,32E+06	3,53E+07 ± 1,03E+07	2,88E+07± 1,96E+07	1,87E+07± 1,35E+07	0,334± 0,010	0,325± 0,016
Ca		2,17E+03 7,64E+02	6,83E+03 4,04E+03	8,54E+03 6,61E+03	1,45E+04 6,61E+03	0,489 0,052	0,505 0,043

Примечание. Sa – *S. aureus*, Se – *S. epidermidis*, Ec – *E. coli*, St – *Streptococcus* sp., Ca – *C. albicans*.

Необходимо отметить, что биомасса биопленок *E. coli*, сформированная при разных концентрациях инокулюма, была несколько меньше после экспозиции в кислородобогащенной воде через 1 и 4 ч, и в первом случае разница была статистически значимая. Биопленка *S. aureus*, напротив, после обработки была выше в обоих вариантах эксперимента. При этом количество жизнеспособных клеток в биопленках в опыте и в контроле не различалось ни для одного из штаммов.

Вода, обогащенная кислородом, не влияла ни на количество клеток в планктоне/биопленке, ни на биомассу биопленок *Streptococcus* sp. Интересно, что во всех вариантах в планктоне и биопленке число кандид незначительно снижалось после экспозиции с водой, насыщенной кислородом, по сравнению с контролем, но

эта разница была статистически не достоверна. Биомасса биопленки *C. albicans* после обработки исследуемой водой не изменялась.

**Заключение.** Установлено, что клетки референтных и клинических штаммов условно-патогенных бактерий, как в планктонной, так и в сессильной культуре сохраняли свою жизнеспособность после экспозиции в воде, обогащенной кислородом. Следовательно, можно предположить отсутствие существенного влияния на исследованные виды биоты желудочно-кишечного тракта человека при хроническом употреблении исследуемой воды.

Ответственный исполнитель  
д.м.н., профессор

Л.В. Кириченко

Исполнитель  
д.м.н., профессор

М.В. Кузнецова

