

УДК 576,8:537.31

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ЭЛЕКТРИЧЕСКОГО СОПРОТИВЛЕНИЯ БАКТЕРИЙ

Л.Б. Козлов, А.Н. Марченко, Е.В. Сперанская,
В.В. Мефодьев, Ю.В. Устюжанин

ГОУ ВПО «Тюменская государственная медицинская академия Росздрав»,
г. Тюмень, kozlov@tyumsma.ru

Проведен анализ электрокинетических свойств 6 различных спорадических и 6 госпитальных штаммов бактерий (*Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Hafnia alvei*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*). Установлена возможность использования электрического сопротивления бактерий для определения их концентрации в процессе размножения на питательных средах.

Ключевые слова: бактерии, электрическое сопротивление.

MICROBIOLOGICAL ASPECTS ELECTRICAL RESISTANCE OF THE BACTERIUMS

L.B. Kozlov, A.N. Marchenko, Ye.V. Speranskaja,
V.V. Mefodyev, Yu.V. Ustyzhanin

Tyumen state medical academy, Tyumen
kozlov@tyumsma.ru

Analysis of electrokinetic properties leads by six the different sporadic and six hospital strains of bacteria (*Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Hafnia alvei*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*) was initialized. In results, the possibility of usage of electrical resistance of bacteria for the purpose of their concentration during reproduction in nutritional mediums was defined.

Keywords: bacteria, electrical resistance.

Введение

В настоящее время нет комплексных экспресс-методов изучения динамики репродуктивной активности микробных популяций при выращивании на питательных средах. В процессе культивирования в оптимальных условиях происходит репродукция бактерий и количественное увеличение их популяции. Одновременно с размножением бактерий в жидкой питательной среде происходит и отмирание микроб-

ных клеток [3]. В лабораторной практике широко используется метод определения концентрации микробных клеток по стандартам мутности, который, однако, не дает представления о количестве бактерий, обладающих репродуктивной активностью. Бактериологический метод определения концентрации бактерий, находящихся в стадии репродукции, по результатам подсчета изолированных колоний в конечных разведениях исследуемой микробной популяции

в лабораторной диагностике инфекционных болезней практически не применяется из-за расхода средств на дополнительные питательные среды и длительного срока проведения анализа (24–48 час. в зависимости от вида исследуемой микробной культуры). Поэтому разработка экспресс-метода определения концентрации микробных клеток, находящихся в стадии репродукции или отмирания, является актуальной задачей и позволит непосредственно в процессе культивирования бактерий определять концентрацию репродуктивных и отмирающих бактерий. Это найдет применение при определении срока максимальной репродуктивной активности бактерий в целях получения стандартных диагностических, лечебных и профилактических препаратов.

Цель исследования

На основании изучения электрокинетических свойств различных микробных популяций определить возможность использования электрического сопротивления бактерий для определения их концентрации в процессе размножения на питательных средах.

Материал и методы

Объектом изучения служили следующие культуры бактерий: *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Citrobacter freundii*, *Hafnia alvei*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*. Исследовано 6 спорадических и 6 госпитальных штаммов данных видов микроорганизмов. Культуры бактерий, выделенные от больных и с объектов больничной среды, накапливали на скошенном мясопептонном агаре (МПА) в течение 12 час. при температуре 37°C, затем разводили полученную взвесь бактерий по стандарту мутности на 5 ед., соответствующему 500 тыс. микроб-

ных клеток (мк) в 1мл. Методом серийных разведений готовили концентрацию микробной взвеси в количестве 50 мк в 1 мл и вносили суспензию на поверхность шести бактериологических чашек с кровяным МПА, равномерно распределяя ее по поверхности питательной среды. Через 4–8–12–16–20–24 час. учитывали рост бактерий на поверхности питательной среды. Заметный рост колоний наблюдали через 8 час. культивирования. Через 8–12–16–20–24 час. проводили смыв выросшей культуры физиологическим раствором хлорида натрия и в объеме 2 мл вносили в плексиглазовые пластины, используемые в лабораторной практике для серологических реакций. Электрическое сопротивление взвеси бактерий определяли с помощью цифрового мультиметра (Mini digital multimeter) марки M832 в пределе измерения 2000 Ом с разрешением 1 Ом и точностью $\pm 0,8\%$ единиц счета, при максимальном напряжении на щупах 2,8 В. В качестве щупов использовали стальные электроды. Регистрировали максимальные показатели электрического сопротивления микробной взвеси.

Результаты и обсуждение

В работах А.Д.Евтушенко [1, 2] установлено, что бактерии, обладающие репродуктивной активностью, имеют на своей поверхности определенный по величине и знаку электрический заряд. Это позволяет по величине электрического сопротивления определять концентрацию живых микробных клеток. Поверхностный заряд микробных клеток может меняться в процессе их адсорбции и питания, что свидетельствует об их жизнеспособности. В результате этого может меняться электрическое сопротивление микробных

популяций. Повышение электрического сопротивления популяций микроорганизмов свидетельствует об их репродуктивной активности, а микробы, не обладающие электрическим сопротивлением, очевидно, находятся в стадии отмирания или анабиоза. Теоретическое обоснование возможности изменения электрического сопротивления взвеси биологических частиц нашло отражение в следующей теории. Согласно Г. Гельмгольцу — Ж. Перену на поверхности биологических частиц, находящихся в жидкой среде, возникает двойной электрический слой типа конденсатора, одна обкладка которого — заряжен-

ная поверхность биологической частицы, а другая — ионы, находящиеся в жидкости и несущие противоположный заряд.

В течение 5 минут после внесения исследуемых культур на поверхность питательной среды проводили смыв внесенных культур физиологическим раствором и определяли электрическое сопротивление суспензий, в среднем оно составило $327,8 \pm 0,9$ Ом. В эти сроки на поверхности питательных сред роста бактерий не отмечено. Через 8 час. на средах появились колонии бактерий, и проведено определение электрического сопротивления полученных суспензий (табл. 1, 2).

Таблица 1

Результаты определения электрического сопротивления изученных спорадических штаммов бактерий (в Ом)

Сроки роста бактерий (час)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Hafnia alvei</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	Средний показатель
8	852,4 ±81,6	515,9 ±41,5	714,6 ±35,7	730,0 ±52,1	770,5 ±48,6	739,8 ±66,0	720,5 ±54,3
12	604,1 ±38,9	509,4 ±55,9	609,0 ±47,8	597,3 ±41,4	740,5 ±50,9	733,8 ±96,0	602,4 ±37,3
16	529,1 ±46,7	492,0 ±41,1	547,3 ±37,1	483,1 ±34,3	649,8 ±76,7	651,1q ±61,5	558,7 ±27,1
20	429,3 ±25,1	519,5 ±23,4	510,7 ±38,6	492,1 ±46,6	481,8 ±43,4	514,9 ±50,9	491,4 ±14,6
24	389,0 ±27,3	421,6 ±44,4	426,3 ±57,9	381,0 ±59,6	424,1 ±46,2	406,3 ±49,7	408,1 ±7,3

Таблица 2

Результаты определения электрического сопротивления изученных госпитальных штаммов бактерий (в Ом)

Сроки роста культур (час)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Hafnia alvei</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	Средний показатель
8	626,1 ±47,5	481,3 ±41,2	699,8 ±15,6	726,6 ±27,6	660,8 ±38,5	518,0 ±66,0	618,8 ±39,6
12	549,8 ±49,6	621,3 ±54,4	612,1 ±76,9	700,8 ±36,7	593,1 ±48,5	662,8 ±96,0	623,3 ±24,6
16	464,0 ±37,0	504,1 ±51,9	453,6 ±50,6	551,3 ±32,3	629,9 ±48,0	532,5 ±61,5	522,6 ±28,5
20	362,9 ±38,9	446,1 ±44,7	401,6 ±35,0	460,6 ±34,3	443,7 ±42,4	464,9 ±51,0	430,0 ±16,5
24	332,3 ±23,7	296,9 ±35,2	417,0 ±49,1	367,4 ±25,3	383,1 ±29,3	396,4 ±49,4	365,5 ±19,4

Через 24 часа отмечено значительное снижение электрического сопротивления исследуемых взвесей бактерий.

Заключение

Полученные результаты исследований коррелируют с динамикой репродукции бактерий на питательных средах и свидетельствуют о возможности использования электрического сопротивления для определения интенсивности размножения бактерий. По материалам проведенных исследований подана заявка на изобретение «Способ определения максимальной концентрации жи-

вых бактерий» (ФГУ ФИПС №2010118749 от 13.05.2010).

Список литературы

1. Евтушенко А.Д. Применение микроэлектрофореза для дифференциации возбудителей кишечных инфекций // Лабор. дело. — 1971. — № 4. — С. 234–237.
2. Евтушенко А.Д. Устройство для обнаружения бактерий. // А.с. RU №288898, 1971. Бюл. №7.
3. Медицинская микробиология, вирусология и иммунология /ред. А.А. Воробьева. — М., 2004. — 691 с.