

## ВЛИЯНИЕ ОТВАРА *SACCHARINA JAPONICA* НА РОСТ УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Пушилина А.Д., Бахтина Е.В., Зайцева Е. А.

ФГБОУ ВО ТГМУ Минздрава России, кафедра микробиологии и вирусологии, г. Владивосток

**Ключевые слова:** Бурые водоросли, питательная среда, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, стимулирующее влияние.

**Резюме:** Изучали влияние отвара из бурой водоросли на рост условно-патогенных микроорганизмов. Подобрана концентрация отвара, максимально стимулирующая рост *Enterococcus faecalis* и *Staphylococcus epidermidis*. Данный отвар может быть применен как дополнительный компонент питательных сред.

**Resume:** The effect of decoction of brown algae *Saccharina japonica* on opportunistic microorganisms was studied. The concentration of decoction which had maximally stimulated the grows of *Enterococcus faecalis* and *Staphylococcus epidermidis* was selected. This decoction can be used as an additional component of nutrient agar.

**Актуальность.** В ходе поиска новых лекарственных форм ученые все активнее изучают морские гидробионты Дальнего Востока: бурые водоросли, морских ежей и ракообразных [3, 5]. Бурая водоросль *Saccharina japonica* известна как богатый источник различных полисахаридов (фукоидана, ламинарана и альгинатов) [1, 2]. Поскольку метаболиты бурых водорослей обладают разнообразным спектром действия на организм человека, они нашли свое применение в качестве лечебно-профилактических препаратов [9]. Выявлено стимулирующее влияние продуктов переработки бурых водорослей на *Bifidobacterium bifidum* и *B. longum* [6]. Известно использование *S. japonica* в качестве основы питательных сред для культивирования и учета сапрофитных гетеротрофных бактерий в морской воде [7]. Однако применение морской капусты для культивирования условно-патогенных микроорганизмов остаётся малоизученным.

**Цель:** изучить влияние отвара *S. japonica* на рост условно-патогенных микроорганизмов для выявления возможности его использования в качестве компонента питательных сред.

### Задачи:

1. Приготовить и подобрать оптимальную концентрацию отвара *S. japonica* необходимую для роста микроорганизмов;
2. Экспериментально оценить влияние отвара *S. japonica* на рост *Enterococcus faecalis* и *Staphylococcus epidermidis*.

**Материал и методы.** В работе использовали суточные культуры *E. faecalis* (n=2) и *S. epidermidis* (n=1). Контрольной средой и основой для экспериментальной среды послужили питательный ГРМ бульон и агар (НПО «Питательные среды», г. Оболенск). В качестве дополнительного компонента к среде добавляли отвар бурой водоросли *S. japonica*. В эксперименте использовали чашечный метод Коха, проводя посеы исследуемых культур на три чашки с последующим подсчётом среднего

количества выросших колоний. Рост микроорганизмов оценивали также фотометрически (ИФА) на фотометре Multiscan FC путем измерения оптической плотности выросшей культуры (при длине волны 450 нм). Учет результатов эксперимента оценивали через 24 часа культивирования посевов в термостате при 37°C. Каждое исследование проводили не менее двух раз.

Оценку полученных результатов проводили с помощью программы Statistica 10. Нормальность распределения определяли с помощью критерия Шапиро – Уилка, применяемого для выборок с числом наблюдений менее 50 [8]. Поскольку распределение переменных являлось асимметричным для проверки значимости различий оптической плотности в контрольной и экспериментальной группе, использовали критерий Манна-Уитни [4, 6].

#### Результаты и их обсуждение.

На первом этапе исследований была приготовлена серия экспериментальных питательных сред с разной концентрацией отвара *S. japonica*. Отмечено, что при добавлении в основу питательной среды определенной концентрации отвара морской капусты отмечается стимулирующий рост микроорганизмов (рис. 1). Наилучший эффект по сравнению с контролем наблюдается на экспериментальной среде с содержанием отвара морской капусты в соотношении 1:5 ( $U=62$ ,  $p=0,014$ ,  $z=-$

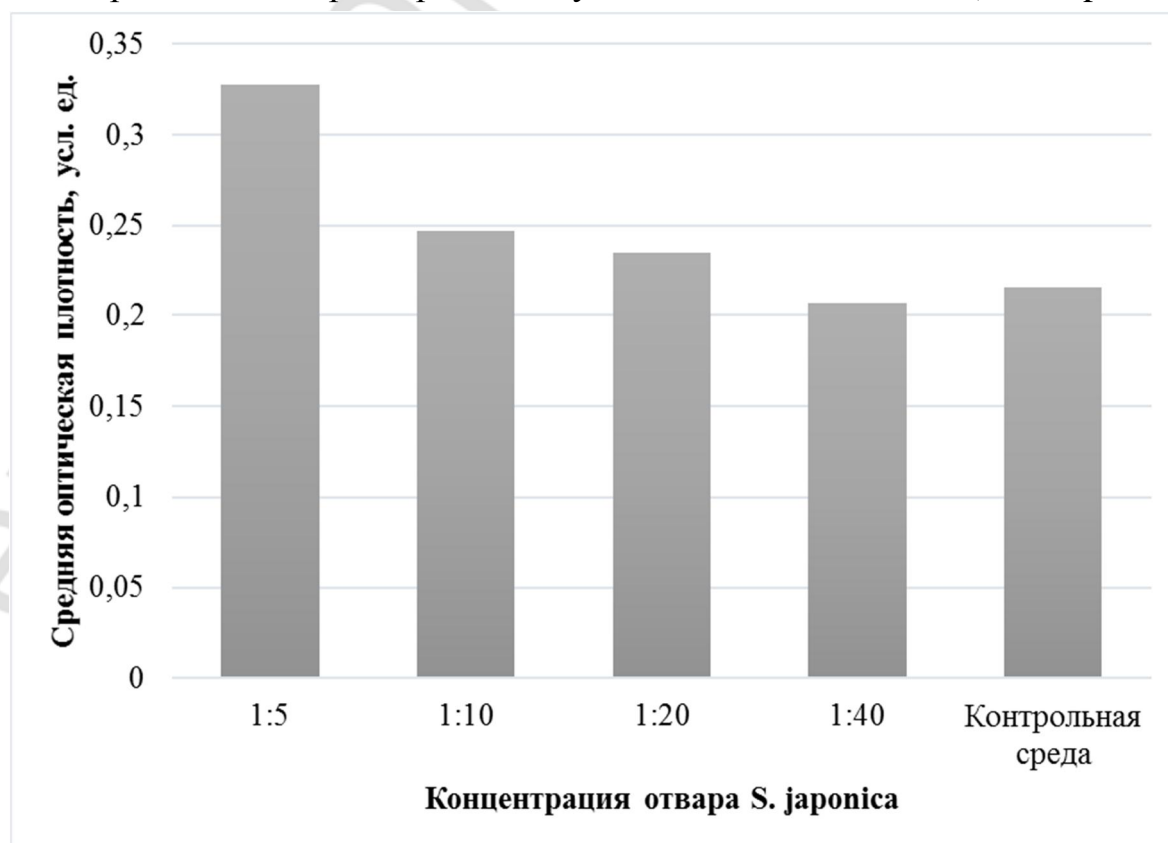
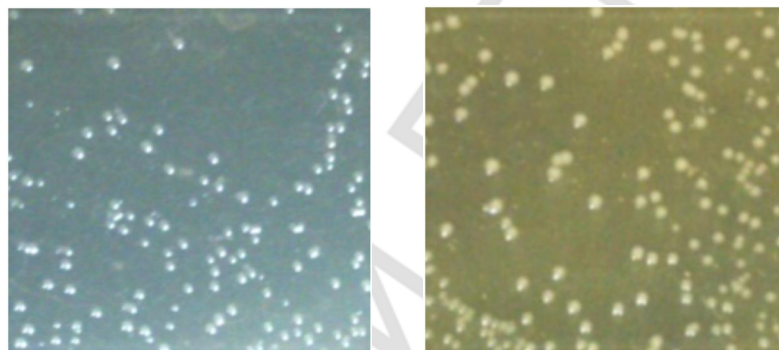


Рис. 1 – Рост микроорганизмов на питательных средах с разными концентрациями отвара *S. japonica*

2,47).

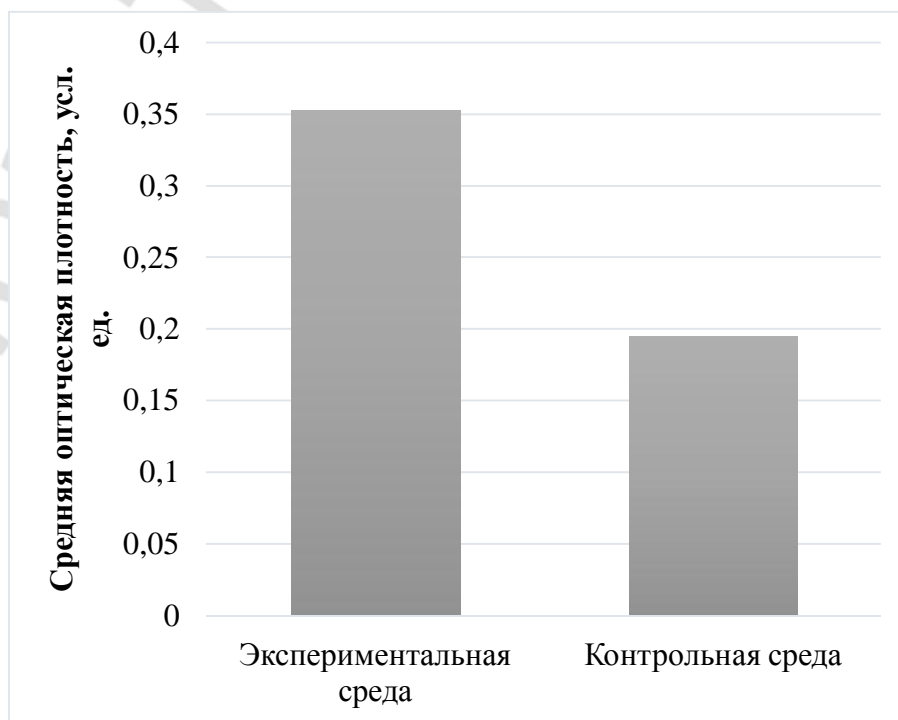
Эту концентрацию отвара *S. japonica* в дальнейшем использовали при приготовлении экспериментальной питательной среды для изучения роста условно-патогенных микроорганизмов - *Enterococcus faecalis* и *Staphylococcus epidermidis*.

На контрольной питательной среде энтерококки выросли в виде изолированных, круглых, беловато-серых колоний, с четкими ровными краями, диаметром 0,5 - 1,0 мм. На экспериментальной питательной среде колонии *E. faecalis* были крупнее, диаметром 1,0 - 1,5 мм, с ровными краями, более яркие и сочные (рис. 2).



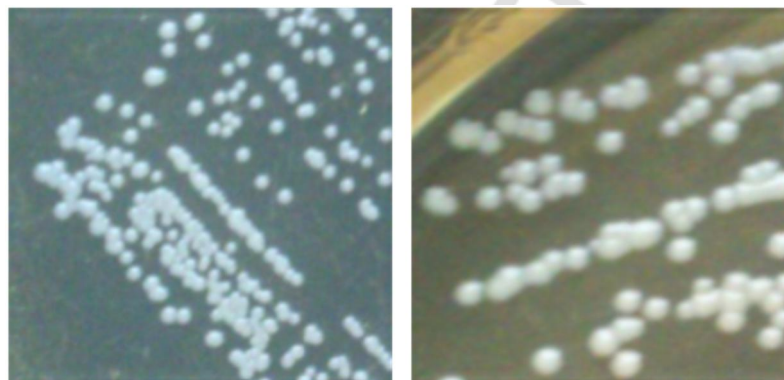
**Рис. 2** – Рост *E. faecalis* на плотных питательных средах через 24 ч культивирования при 37°C: а) контрольная питательная среда; б) экспериментальная питательная среда

Анализ оптической плотности жидких сред (контрольной и экспериментальной) с выросшими микроорганизмами выявил статистически достоверное увеличение количества энтерококков (рис. 3) на экспериментальной среде ( $U=9$ ,  $z=-3,6$ ,  $p=0,003$ ).



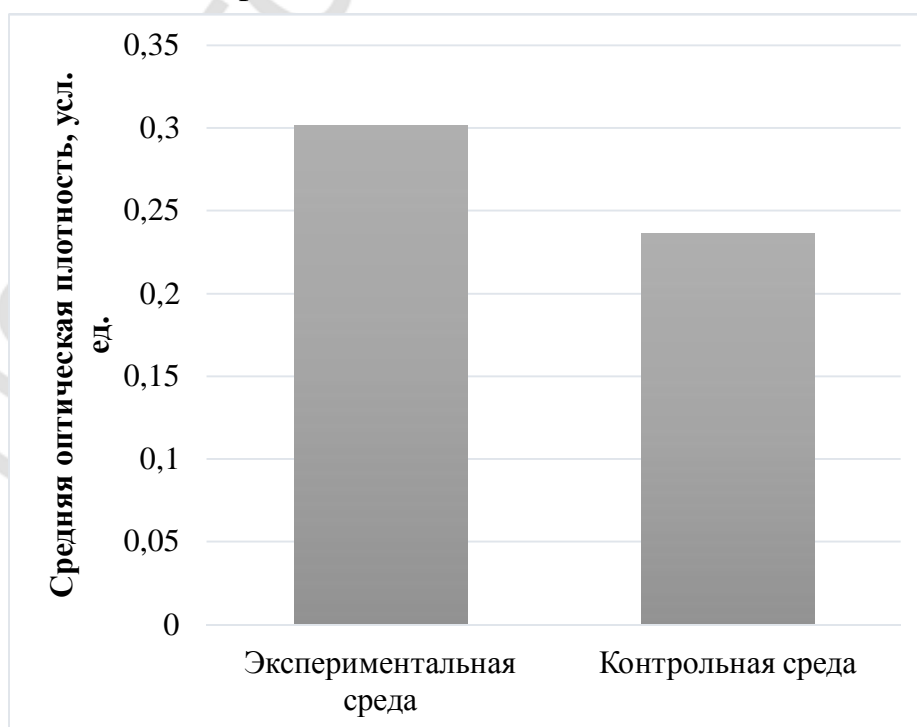
**Рис. 2** - Количество *E. faecalis*, выросших на питательных средах через 24 часа культивирования при 37°C

Изучение роста стафилококков на контрольной и экспериментальной питательных средах показало аналогичные результаты. На экспериментальной среде стафилококки выросли крупнее, диаметром 1,5 – 2,0 мм, цвет колоний был насыщеннее по сравнению с ростом на контрольной среде (рис. 4).



**Рис. 4** – Рост *E. S. epidermidis* на плотных питательных средах через 24 ч культивирования при 37°C: а) контрольная питательная среда; б) экспериментальная питательная среда

На жидкой экспериментальной питательной среде (рис. 5) выявлено статистически достоверное увеличение биомассы *S. epidermidis* по сравнению с контролем ( $U=0$ ,  $z=-2,17$ ,  $p=0,03$ ).



**Рис. 5** – Рост *S.epidermidis* на питательных средах через 24 часа культивирования при 37°C

Таким образом, применение отвара морской капусты в качестве дополнительного компонента к основе питательной среды, стимулирует рост энтерококков и стафилококков и может использоваться для культивирования микроорганизмов.

**Выводы:**

1. На «экспериментальной» питательной среде отмечается статистически достоверное увеличение биомассы условно-патогенных микроорганизмов.
2. Определена оптимальная концентрация отвара морской капусты, которая может быть использована в качестве компонента питательной среды для культивирования микроорганизмов.

**Литература**

1. Аминина Н.М., Вишневская Т.И., Гурулева О.Н., Клевокова Л.Т. Состав и возможности использования бурых водорослей дальневосточных морей // Вестник ДВО РАН. 2007. № 6. С. 123-130.
- Белоус О.С., Титлянова Т.В., Титлянов Э.А. Морские растения бухты Троицы и смежных акваторий (Залив Петра Великого, Японское море). Владивосток: Дальнаука, 2013. 263 с.
2. Годовалов А.П., Быкова Л.П., Лобанов А.Б. Влияние перорального приема бурых морских водорослей на состав микрофлоры миндалин // Здоровье. Медицинская экология. Наука. 2014. № 2 (56). С. 50-52.
3. Гржибовский А. М. Анализ количественных данных для двух независимых групп // Экология человека. 2008. № 2. С. 54-61.
4. Конева Е.Л., Аминина Н. М., Якуш Е.В. Бифидогенные свойства продуктов переработки бурых водорослей // Известия ТИНРО. 2010. № 161. С. 303-308.
5. Петри А., Сэбин К. Наглядная медицинская статистика. 2-е изд., перераб. и доп. изд. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 168 с.
6. Способ приготовления питательной среды для учета сапрофитных гетеротрофных бактерий в морской воде: пат. 2425870 Рос. Федерация: Бузолёва Л. С.; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего профессионального образования "Дальневосточный федеральный университет" (ДФУ). заявл. 01.02.2010; опубл. 10.08.2011. Бюл. № 22. 4 с.
7. Унгуряну Т.Н., Гржибовский А. М. Краткие рекомендации по описанию, статистическому анализу и представлению данных в научных публикациях // Экология человека. 2011. № 5. С. 55-60.
8. Хотимченко Ю.С. Фармакология некрахмальных полисахаридов // Вестник ДВО РАН. 2005. № 1. С. 72-82.