

УДК 619:615.37:576.591.111.542.938

### Обогащенная питательная среда для культивирования бактерий

Зайцев В.В., Зелютков Ю.Г., Витебская биофабрика, Витебская государственная академия ветеринарной медицины

Разработка эффективных и стандартных питательных сред для культивирования бактерий в производстве биопрепаратов с использованием гидролизата непищевого белоксодержащего сырья является своевременной задачей и преследует цель полной или частичной замены мяса при изготовлении ферментативной питательной основы.

Материалы и методы. Исследуемые гидролизаты были изготовлены из отходов биологического производства (сыворотки и смеси плазмы с раствором Олсевера), а так же на основе ферментолізата мяса.

Нами было изготовлено два опытных варианта питательных основ.

Вариант N1. К 1 кг говяжьего фарша добавляли 1,6 куб.дм дистиллированной воды и 0,4 куб.дм сыворотки крови овец. К 1 куб.дм смеси добавляют 0,7-1,0% питьевой соды, 1,25% хлороформа и 2,2-2,5% панкреатина или 20-25% поджелудочной железы.

Ферментоліз осуществляли при температуре 42°C в течение 96 часов.

Вариант N2. К 1 кг говяжьего фарша добавляли 1,2 куб.дм дистиллированной воды и 0,8 куб.дм смеси плазмы крови овец с раствором Олсевера. К 1 куб.дм смеси добавляли 0,8-1,0% питьевой соды, 1,0-1,25% хлороформа и 2,2% панкреатина или 22% поджелудочной железы.

Ферментоліз осуществляли при температуре 42°C в течение 100-120 ч.

Питательная ценность гидролизатов изучена в сравнении с переваром Хоттингера - панкреатическим гидролизатом мяса.

Гидролизаты были исследованы по ряду физико-химических показателей: рН-электрометрический, общий, остаточный азот - по Кьельдалю; аминный азот - методом формольного титрования в модификации Гаврилова; аминокислотный состав и количественное содержание свободных аминокислот - на автоматическом анализаторе аминокислот КЛА-5 фирмы "Хитачи"; белка - по разнице между общим и остаточным азотом с соответствующим пересчетом, коэффициент протеолиза - по соотношению остаточного азота к общему, аминный коэффициент - по соотношению аминного к общему азоту, накопление биомассы - фотометрическим методом с расчетом по калибровочной кривой. Кроме того, определяли жизнеспособность бактериальных клеток путем высева разведений культур

на чашки Петри по 0,1 куб см, формы колоний изучали на плотных питательных средах в чашках Петри с использованием лупы МБС-2, тинкториальные свойства микроорганизмов - в мазках, окрашенных по Граму, при их просмотре

в световом микроскопе.

Питательные среды готовили из гидролизатов путем их разведения дистиллированной водой до содержания аминного азота 180 мг% и полипептидов - 1,5-2,0%. Дефицит полипептидов восполняли добавлением сухого ферментативного пептона. Во все среды вносили хлорид натрия до 0,5%, а для получения плотных питательных сред добавляли 1,5% агара

Результаты исследований Установлено, что при пятикратном пассировании культур тест-штаммов их накопление на жидких питательных средах изменялось незначительно. Результаты интенсивности роста микроорганизмов на жидких средах, выраженные в единицах оптической плотности (ЕОП), приведены в таблице.

Питательные среды	Культуры тест-штаммов - микроорганизмов				
	St aureus "Ломоносов"	Sh.flexneri 8516	E.coli 675	C.diphtheroides N 1911	Str.faecalis 6783
Вариант N 1	0,66	0,38	1,22	0,68	0,54
Вариант N 2	0,62	0,35	0,58	0,58	0,46
Бульон Хоттингера	0,32	0,23	0,50	0,56	0,26

Из нее видно, что среды (опытные варианты), приготовленные на основе гидролизатов сыворотки (плазмы) крови овец и говяжьего мяса, обеспечивали обильный рост всех тест-штаммов. Более активный рост тест-штаммов в сравнении с контрольным получен в жидких средах, приготовленных по первому варианту. Рост тест-штаммов на плотных средах, содержащих гидролизат плазмы (сыворотки) крови, характеризовался обильным ростом после 20-24-х часов инкубации с образованием характерной для данного вида микробов колоний.

Прирост биомассы культур St aureus во всех трех средах в первые четыре часа выращивания был сравнительно небольшим (0,15-0,18 ЕОП), в последующие 8, 12, 16, и 20 часов роста бактериальная масса равномерно нарастала и достигала своего пика при 24-х часовой экспозиции. Через 32 часа кривая роста культуры начинала снижаться.

Рост культур Sh flexneri был неодинаковым в исследуемых средах. В среде Хоттингера - кривая роста равномерно повышалась, достигая максимум при 12-х часовой экспозиции (0,22-0,24 ЕОП). В опытных средах накопление

биомассы *Sh. flexneri* в первые 8 часов составляло (0,2-0,22 ЕОП) и достигало максимума при 16-и часовой экспозиции (0,35-0,38 ЕОП).

Наибольшее накопление бактериальной массы, как в экспериментальных, так и в контрольных средах, отмечалось у тест-штаммов

*E. coli* и *Col. diphteroides*. В обеих экспериментальных средах концентрация культур была максимальной при 18-и часовой экспозиции и составляла у *E. coli* и *Col. diphteroides* соответственно 1,2-1,22 ЕОП и 0,58-0,68 ЕОП, при сохранении морфологических, тинкториальных, биологических и антигенных свойств.

У культур *Str. faecalis* характер роста был близок в средах различного состава. Во всех испытанных средах концентрация культуры была максимальной при 20-и часовой экспозиции. В экспериментальных средах величина растущей популяции *Str. faecalis* достигла уровня в первые 10 ч. культивирования 0,24-0,25 ЕОП, к 20-и часам инкубации - 0,46-0,54 ЕОП.

Анализ полученных данных по культивированию тест-штаммов в средах различного состава позволил отметить прямую связь между потреблением питательных веществ и накоплением биомассы. Максимальный рост всех питательных тест-культур наблюдался в среде, приготовленной по первому варианту и сопровождался наибольшей утилизацией компонентов среды.

Вывод. Применение питательной среды из гидролизата сыворотки (плазмы) крови и мяса для выращивания тест-культур увеличивает в 1,2-2,4 раза накопление микробных тел в сравнении с тем же показателем на бульоне Хоттингера, при этом сохраняет присущие им свойства. Предполагаемые варианты питательной среды могут быть использованы для изготовления диагностических препаратов и вакцин, значительно снижать материальные затраты на их производство, при оптимальном их качестве.

УДК: 619:579.842.11

### Продукция адгезивных антигенов эшерихий на питательных средах

Зелютков Ю.Г., Витебская государственная академия ветеринарной медицины

В настоящее время достаточно убедительно установлено, что кишечная палочка способна вызвать развитие инфекционного процесса при наличии адгезивных антигенов, которые коррелируя с токсигенностью, являются ведущими факторами вирулентности Фимбрии (пили) способствуют прикреплению кишечной палочки к эпителию слизистой оболочки кишечника, обеспечивая колонизацию кишечника эшерихиями, что создает возможность