

КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ БАКТЕРИЙ РОЖИ ПРИ ВЫРАЩИВАНИИ ИХ НА ИСКУССТВЕННЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

Введение. Всем живым существам, в том числе и микроорганизмам, присущи наследственность и изменчивость. Одной из форм культуральной изменчивости является феномен диссоциации, то есть разъединение популяции бактерий чистой культуры при посеве на плотную среду с формированием колоний различных типов. На поверхности среды наиболее часто образуется два морфотипа колоний: R-типа и S-типа. Колонии в S-форме прозрачные, с гладкой блестящей поверхностью, круглые, с ровными краями, выпуклые. Колонии в R-форме непрозрачные, шероховатые, плоские, морщинистые, с неровными краями. Микробные клетки, составляющие колонии S- и R-форм, существенно различаются несмотря на принадлежность к одному и тому же виду. Так, бактерии формирующие S-колонии, биохимически активны, полноценны в антигенном отношении, высокопатогенны, вирулентны и иммуногенны. Напротив, бактерии, образующие R-колонии, биохимически менее активны, слабопатогенны, авирулентны, неполноценны в антигенном отношении.

Поэтому для производства вакцин, гипериммунных сывороток, иммуноглобулинов, диагностических препаратов используют бактерий, изъятых из S-форм колоний.

В этой связи целью данной работы явился подбор питательной среды для культивирования производственных штаммов рожистой палочки, позволяющей минимизировать диссоциацию этого вида микроорганизмов.

Материалы и методы исследований. В опытной работе были задействованы среды: мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА), агаровая среда Сент-Иваньи, агаровая среда с добавлением 10% сыворотки крови лошади, 1% пептона и 20 % агар-агара.

Производственный штамм *Erysipelothrix rhusiopathiae* ВР-2 выращивали в МПБ в течение 48 ч. при 36 градусах Цельсия, а затем высевали культуру на указанные выше плотные питательные среды, которые инкубировали при том же режиме, что и жидкие среды.

Чистоту выращенных культур и морфологию бактерий определяли путем микроскопии препаратов-мазков, окрашенных по Граму.

Характер роста рожистой палочки в МПБ и на поверхности плотных питательных сред определяли визуально.

Результаты исследований. Рост бактерии в МПБ характеризовался слабым помутнением питательной среды без образования пристеночного кольца и пленки. При встряхивании пробирки были хорошо заметны муаровые волны, а образовавшийся осадок поднимался в виде облачка.

На МПА рожистая палочка формировала мелкие, росинчатые колонии в S-форме, которые имели выпуклую блестящую поверхность и ровные края. Кроме колоний, в S-форме на поверхности среды обнаружены колонии в R-форме в количестве до 10%.

На поверхности агаровой среды Сент-Иваньи колонии были значительно крупнее, достигая в диаметре до 2 мм. Колонии в S-форме имели ровные края, блестящую выпуклую поверхность, а колонии в R-форме были мутными, плоскими, с изрезанными краями и шероховатой поверхности. Численность этих колоний достигло 5% от количества колоний, сформировавшихся на поверхности среды.

На агаровой среде с добавлением 10% сыворотки крови лошади и 1 % пептона рожистая палочка формировала колонии лишь в S-форме, которые имели ровные края, прозрачную блестящую поверхность, размером от 1.5 до 2.5 мм.

Из колоний в R-форме, сформировавшихся на поверхности всех сред, были приготовлены препараты-мазки, окрашены по Граму и подвергнуты микроскопии. В поле зрения микроскопа бактерии имели палочковидную форму, располагались одиночно, попарно, скоплениями неопределенной формы. Кроме этого, нами обнаружены так же, бактериальные клетки овоидной и нитевидной формы, что свидетельствует о полиморфности микроорганизмов, составляющих колонии R-типа. Особенно много таких клеток обнаружено в мазках из колоний, образовавшихся на обычном МПА.

Из колоний в S-форме были сделаны препараты-мазки, окрашенные по Граму, и промикроскопированы под светом микроскопа. В поле зрения микроскопа наблюдали бактерии в форме стройных, слегка изогнутых палочек с закругленными концами фиолетового цвета, которые располагались одиночно, попарно, небольшими группами. Бактерий другой формы не наблюдалось, то есть вариабельности среди микроорганизмов не замечено.

При микроскопии препаратов, приготовленных из колоний в S-форме образовавшихся на поверхности среды с добавлением 10% сыворотки крови лошади, 1% пептона и 20% агара, наблюдались стройные палочки, хорошо окрасившиеся в сине-фиолетовый цвет, располагающиеся одиночно, попарно, небольшими скоплениями. Кокковидных, колбовидных, нитевидных или же бактерий другой формы в препаратах-мазках, приготовленных из колоний, выращиваемых на упомянутой выше среде, обнаружено не было, то есть среда не вызывает изменение формы выращиваемых на ней рожистых палочек.

Общеизвестно, что с увеличением числа пересевов бактерий на искусственные питательные среды процесс диссоциации микроорганизмов в выращиваемых культурах нарастает. Поэтому нами произведено 10-кратное пассирование рожистой палочки через МПБ с высевом культур после каждого очередного посева на агаровую среду с 10% сыворотки крови лошади и 1% пептона. В каждом случае среды подвергали визуальному просмотру, в результате которого установлено, что на поверхности агара вырастали колонии S-типа, и лишь после десятого посева было обнаружено 1.5% колоний в R-форме.

Заключение. Результаты опытной работы позволяют утверждать, что нами подобранная питательная среда для культивирования рожистой палочки, позволяющая минимизировать диссоциацию этого вида микроорганизмов. Применение агаровой среды с добавлением 10% сыворотки крови лошади и 1 % пептона позволит постоянно вести стабилизирующий отбор и получать недиссоциирующий клон бактерий, что имеет большое значение при производстве ветеринарных препаратов различного назначения.

Литература. 1. Буланов, П. А. *Общая микробиология* / Буланов, П. А., Колешко, О. Ж. Минск: Высшая школа, 1969. - 261 с. 2. Солоненко, А. А., Гласкович, А. А., Красочко, П. А. и др. *Микробиология и иммунология: учебное пособие* / А. А. Солоненко, А. А. Гласкович, П. А. Красочко и др. – Минск, НПО «ПИОН» 2002. – 248 с. 3. Воробьев, А. А., Быков, А. С. и др. *Микробиология и иммунология: учебник* / под редакцией А. А. Воробьева. Издательство «Медицина», Москва, 1999. – 464 с. 4. Вербицкий, А. А., Медведев, А. П. *Питательные среды и культивирование микроорганизмов* / А. А. Вербицкий, А. П. Медведев. – Витебск: УО ВГАВМ, 2008. – 236с.