

Київ, Україна. – Київ. – 2006. – С. 42-43.

13. Красильников Н.О., 1974 по книге: Радчук И.А., Дунаев Г.В., Колычев Н.М.. Ветеринарная микробиология и иммунология. М., ВО "Агропромиздат".–1991.– С.284-294.

14. Аникиев В.В. с соавт., 1977 по книге: Радчук И.А., Дунаев Г.В., Колычев Н.М.. Ветеринарная микробиология и иммунология. М., ВО "Агропромиздат" – 1991. – С.284-294.

15. Туберкулін очищений (ППД) для ссавців у стандартному розчині. ТУ У 24.4.00497087-645-2001.

16 Туберкулін очищений (ППД) для птиці у стандартному розчині. ТУ У 24.4.00497087-675-2002.

Кассич В.Ю., Камбур М.Д., Ушкалов В.О., Замазий А.А., Волосянко О.В. ПРОТЕИНОГЕННОСТЬ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ШТАММОВ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ППД-ТУБЕРКУЛИНА ДЛЯ МЛЕКОПИТАЮЩИХ

В соответствии со стандартом ЕС PPD-туберкулин для млекопитающих должен изготавливаться из штаммов M.bovis «AN5» или «Valle», в то время как при производстве «Туберкулина очищенного (ППД) для млекопитающих в стандартном растворе» ТУУ 24.00497087.645-2001, основным производственным штаммом является «M.bovis IEKVM-1». Поэтому разработка сухих очищенных PPD-туберкулинов из штаммов M.bovis «AN5» та «Valle» является для Украины актуальным.

Ключевые слова: туберкулез, туберкулин, микобактерии M.bovis Valle и AN5.

Kassich V.U., Kambur M.D., Ushkalov V.A., Zamaziy A.A., Volosianko O.V. PROTEINOGENIC PRODUCTION STRAINS FO THE PREPARATION OF MAMMALS PPD-TUBERCULIN.

In accordance with the EU-PPD tuberculin for mammals must be made of strains M.bovis «AN5» or «Valle», while the production of «purified Tuberculin (PPD) for mammals in the standard solution» TYY 24.00497087.645-2001, production strain is «M.bovis IEKVM-1. Therefore razrobotkaka dry cleaned PPD-tuberkulioiv of strains M.bovis «AN5» that «Valle» for Ukraine is urgent.

Key words : tuberculosis, tuberculin, mycobacterium M.bovis «AN5» or «Valle».

Рецензент: д.вет.н., професор Фотіна Т.І.

Дата надходження до редакції: 08.12.2013 р.

УДК 579.69:594 (262.5)

**ДОСЛІДЖЕННЯ РІВНЯ НАКОПИЧЕННЯ БАКТЕРІЙНОЇ МАСИ ТЕСТ-ШТАМІВ
МІКРООРГАНІЗМІВ НА СЕРЕДОВИЩАХ ІЗ ГІДРОЛІЗАТІВ МОРСЬКИХ ГІДРОБІОНТІВ**

К. Ю. Колеснікова, аспірант,

Н. Г. Пінчук, к.вет.н.

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, м. Київ

У статті наведено теоретичне обґрунтування і результати експериментальних досліджень щодо перевірки нових твердих, рідких і напіврідких поживних середовищ на основі гідролізатів морських гідробіонтів (мі діюного гідролізату та гідролізату кільки). Встановлено, що експериментальні зразки поживних середовищ при культивуванні еталонних тест-штамів мікроорганізмів забезпечують збільшення виходу бактерійної маси в середньому в 1,2 рази, порівняно з еталонними поживними середовищами, що виготовляється на основі перевару Хоттінгера.

Ключові слова: середовища, тест-штами мікроорганізмів, морські гідро біонти, перевар Хоттінгера.

Постановка проблеми в загальному вигляді. Культивування мікроорганізмів - це важливий етап в промисловій та експериментальній мікробиології. Основою успішного культивування, що забезпечує максимальне накопичення біомаси та підтримання активності штамів, є підбір поживних середовищ відповідно з фізіологічними потребами мікроорганізму [1, 2].

Однак, питання розробки технології отримання, стандартизації, оцінки якості поживних середовищ з природної сировини мають певні, не вирішені труднощі [3].

Це зумовлено, перш за все зниженням якості

самої сировини, в тому числі м'яса та рослинних об'єктів, в зв'язку зі складною екологічною обстановкою та антропогенним впливом на навколишнє середовище. У сировині часто виявляють антибіотики, хімікати, нітрати, токсичні продукти, що негативно впливають на життєдіяльність та накопичення біомаси мікроорганізмів, що знижує результативність діагностичних досліджень [4, 5].

Актуальним та важливим напрямком сучасних наукових досліджень є раціональне використання морських біоресурсів, у зв'язку з дефіцитом сировини тваринного походження. В даний час більше чверті різновидів мікробиологічних сухих

поживних середовищ містять у своєму складі панкреатичний гідролізат рибного борошна та різних продуктів морського ґенезу. Морські гідробіонти – це джерело нових біологічно активних речовин. Дослідження біохімічного складу гідробіонтів та їхньої харчової цінності довели, що м'ясо безхребетних характеризується високим вмістом незамінних амінокислот, мікроелементів і вітамінів, у тому числі і В₁₂. За поживною цінністю м'ясо мідій знаходяться на одному рівні з яйцем, молоком і м'ясом наземних тварин, а за засвоєністю значно перевершують його. У м'ясі безхребетних відкрито понад 38 мікроелементів [6].

У зв'язку із вищезазначеним, пошук нових, екологічно чистих та економічно виправданих джерел сировини, а також шляхів підвищення їхньої біологічної повноцінності з метою розробки високоякісних поживних середовищ, є актуальним та своєчасним завданням.

Зв'язок проблеми з важливими науковими чи практичними завданнями. У доступній науковій літературі, дані по застосуванню в якості компонентів при виготовленні поживних середовищ морських гідробіонтів (мідій та кільки Чорноморської) відсутні. Між тим, з'ясування впливу нових поживних середовищ на ріст та розвиток еталонних тест-штамів мікроорганізмів дозволить встановити їх ефективність.

Проведені дослідження є складовою частиною досліджень відділу біотехнології і контролю якості бактеріальних препаратів Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів, які виконувалися згідно з тематичними планами науково-дослідних робіт: "Підтримання колекції штамів мікроорганізмів, що використовуються при виробництві і контролюванні якості ветеринарних препаратів" (2009 р., № державної реєстрації 0109U006747; 2010 р., № державної реєстрації 0110U006535); та «Колекція штамів патогенних для тварин мікроорганізмів Національного центру штамів мікроорганізмів Державного науково-контрольного інституту біотехнології і штамів мікроорганізмів» (2009 р., № державної реєстрації 0109U007657; 2010 р., № державної реєстрації 0110U006712; 2011 р., № державної реєстрації 0111U007675; 2012 р., № державної реєстрації 0112U007184).

Аналіз основних досліджень і публікацій, в яких започатковано розв'язання проблеми. Головним завданням культивування в умовах промисловості є нарощування бактеріальної маси, яке залежить від якості поживних середовищ, перелік яких сьогодні великий [7, 8].

Більшість універсальних поживних середовищ виготовляється на основі м'ясної сировини, за допомогою чого культивують широкий спектр мікроорганізмів [9, 10]. Однак, в останні роки гостро стоїть проблема зниження стандартності поживних середовищ. Це обумовлено, перш за

все, зниженням якості продуктів природного походження, що використовуються у складі поживних середовищ, у зв'язку зі складною екологічною обстановкою і антропогенним впливом на навколишнє середовище [11].

Для отримання збільшеної кількості бактеріальної маси, необхідні великі обсяги поживних середовищ, що збільшує витрату м'ясної сировини для основ, а, отже, і вартість кінцевого продукту [12].

Вищевикладені проблеми зумовлюють потребу пошуку рівноцінної заміни м'ясної сировини, з використанням інших сировинних резервів, наприклад, морських гідробіонтів, що знижує вартість поживних середовищ [13].

Як відомо, для приготування таких поживних середовищ, найчастіше використовується перероблена сировина, в основному рибо-кісткове борошно. Така обробка знижує його біологічну цінність. Крім того, сировиною для приготування поживних таких середовищ є наприклад каспійська кілька, вилов якої через екологічні проблеми Каспію знизився [12].

Спробою знайти альтернативу багатьом середовищ на основі м'ясної і рибного сировини, стала розробка середовищ на рослинній основі [14–16].

Однак, головним недоліком рослинної сировини, використовуваної для приготування поживних середовищ, є низький вміст білку, дефіцит сірковмісних амінокислот і триптофану, а це не відповідає потребам багатьох мікроорганізмів, та застосовуються такі середовища з обмеженістю. Тому рослинні об'єкти не можуть бути повною альтернативою м'ясної сировини, особливо при моделюванні універсальних поживних середовищ. Важливим спектром роботи по розробці нових мікробіологічних поживних середовищ є використання нетрадиційної сировини. Так, наприклад, кров сільськогосподарських тварин [3], казеїн [17].

Дослідники зазначають, що такі поживні середовища не забезпечують стабільного зростання виробничих штамів та високого виходу бактеріальної маси, нестандартні при виготовленні. Спроби виправити всі перераховані вище недоліки поживних середовищ призводять до необхідності додавання різних поживних добавок і стимуляторів росту.

На даний час здійснюється пошук нової сировини, багатої білками для приготування поживних основ, серед яких особливе місце відводиться білковим гідролізатам. Проводиться розробка шляхів і методів підвищення якості сировини, яка використовується для приготування мікробіологічних поживних середовищ, спрямованих на збільшення в ньому біологічно активних компонентів [18].

У зв'язку з вищевикладеними проблемами, пов'язаними з нестандартністю поживних сере-

довищ та низькою якістю сировини, на наш погляд, поряд з пошуком нової екологічно чистої, доступної, фінансово-вигідної сировини, в тому числі нетрадиційної, повинна вдосконалюватися технологія нових високоактивних білкових основ, у якості яких можуть бути рекомендовані гідролізати.

Дані багатьох авторів свідчать, що саме в процесі гідролізу відбувається розщеплення білку до амінокислот і найпростіших пептидів, утворюється великий набір речовин у доступній формі для засвоєння мікроорганізмами [19].

На підставі перелічених вище відомостей доступної літератури можна зробити висновок, що в якості перспективних білкових основ поживних середовищ, для росту мікроорганізмів можна розглядати гідролізати з високоактивного біологічної сировини.

Враховуючи те, що повноцінність гідролізату залежить від якості використовуваної сировини для гідролізу в процесі пошуку нових сировинних джерел, нами враховувався ряд, пропонує до них вимог. Сировина повинна містити макси-

мальну кількість повноцінного білку, вітамінів, мікро- і макроелементів, бути екологічно чистою і нешкідливою, бути легко відтворюваною, доступною, забезпечувати економічну ефективність застосування. З урахуванням вищевикладених вимог і на підставі аналітичного огляду в якості компонентів для приготування нових поживних середовищ при культивуванні еталонних тест-штамів мікроорганізмів нами обрані гідролізати морських гідробіонтів, а саме мідії та кільки Чорноморської.

Мета роботи: дослідження ефективності досліджуваних поживних середовищ з використанням засобів стандартизації мікробіологічних досліджень.

Матеріали і методи досліджень. Досліджували тверді, рідкі та напіврідкі експериментальні поживні середовища, які виготовлялися згідно методик прийнятих для середовищ еталонів (МПБ, МПА, напіврідкий агар Хоттінгера). З метою з'ясування оптимального співвідношення гідролізату мідії та кільки в поживному середовищі використовували 4 варіанти сумішей (табл. 1).

Таблиця 1

Варіанти азотовмісних основ для конструювання поживних середовищ ($M \pm m; n=5$)

Варіанти середовищ	Склад	pH	Вміст аміно азоту, мг%
Перевар Хоттінгера (еталон)	м'ясо яловичини	7,10±0,1	875,0±29,1
№1	75% МГ+25% ГК	7,06±0,1	490,0±10,3
№2	50% МГ+50% ГК	7,03±0,2	600,0±18,7
№3	33% МГ+67% ГК	6,90±0,1	680,0±14,9
№4	25% МГ+75% ГК	7,04±0,1	740,0±9,3

Примітка: $P < 0,05$

Під час проведення експериментальних досліджень нами були використані паспортизовані тест-штами бактерій різних таксономічних видів, отримані із Національного центру штамів мікроорганізмів ДНКІБШМ: *Corynebacterium xerosis* 1911, *Pseudomonas aeruginosa* №27/29, *Candida albicans* ATCC 885-653, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* O55, *Serratia marcescens* 1.

Суть методу визначення «чутливості» поживного середовища до еталонних тест-штамів мікроорганізмів полягала в отриманні концентрованої мікробної суспензії тест-штамів мікроорганізмів, яка містила заздалегідь визначену кількість мікробних клітин, виготовленні з неї серії розведень, посіви на досліджуване середовище точного об'єму розведеної суспензії, та визначення максимального розведення, або мінімальної кількості клітин, яка забезпечує ріст мікробної культури.

Так, готували вихідні суспензії культур, які містили 1×10^9 клітин в 1 см^3 , порівнюючи їх мутність із стандартом оптичним мікробіологічним (ДНКІБШМ). З отриманих суспензій методом послідовних розведень отримували 8 розведених суспензій, в яких кількість клітин зменшувалася пропорційно логарифму розведення.

У пробірках та чашки Петрі з досліджуваними

поживними середовищами піпеткою вносили по $0,1 \text{ см}^3$ із розведень 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , починаючи з останнього.

Проби культивували в термостаті за температури $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$, впродовж 24 годин, для *Serratia marcescens* при кімнатній температурі $(22 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ при денному світлі та 48 годин для *Candida albicans* $(24 \pm 0,5)^\circ\text{C}$. Потім візуально визначали наявність росту мікроорганізмів в рідких та напіврідких середовищах у вигляді помутніння, утворення осаду, плівки, на твердих – за формуванням колоній. Чутливість сконструйованих середовищ оцінювали за максимальним розведенням культури тест штаму мікроорганізмів, при якому на всіх засіяних чашках, пробірках виявляли ріст мікроорганізмів.

Інтенсивність росту бактеріальної маси відповідних штамів мікроорганізмів оцінювали шляхом підрахунку колонієутворюючих одиниць (КУО/ см^3)

Результати дослідження та їх аналіз. Дослідження кожного із зразків отриманих поживних середовищ за визначенням чутливості рідких, твердих та напіврідких поживних середовищ проводили приймаючи за результат, максимальне розведення культури, яке дає ріст тест-штамів мікроорганізмів у досліджуваному середовищі (табл. 2). За результатами проведених дослі-

джен встановлено, що варіанти досліджуваних середовищ №1, 2, 3 за показником «чутливість» суттєво відрізнялися від еталону, в той час як зразки середовища № 5 мали аналогічний рівень

чутливості з еталоном для *P. aeruginosa*, *St. aureus*, *E. coli*, та для *S. marcescens*, *C. albicans* цей показник був вищим (10^{-7}) за еталон (10^{-6}).

Таблиця 2.

Порівняльні показники чутливості твердих поживних середовищ на основі сумішей гідролізітів морських гідробіонтів та еталону

Найменування тест-штамів мікроорганізмів	Варіанти досліджуваних поживних середовищ				
	еталон (МПА)	75%МГ+ 25%ГК №1	50%МГ+50%ГК №2	33%МГ+67%ГК №3	25%МГ+75%ГК №4
<i>P.aeruginosa</i> 27/29	10^{-7}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-7}
<i>S.marcescens</i> 1	10^{-6}	10^{-5}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
<i>St.aureus</i> ATCC 25923	10^{-7}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-7}
<i>E.coli</i> O55	10^{-8}	10^{-6}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}
<i>C.albicans</i> ATCC 885-653	10^{-6}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-5}	10^{-7}

Результати досліджень, що представлені в табл. 3, свідчать про аналогічний рівень чутливості рідких поживних середовищ (еталон) та сере-

довищ з гідролізітів морських гідробіонтів (зразок № 4).

Таблиця 3.

Порівняльні показники чутливості рідких поживних середовищ на основі сумішей гідролізітів морських гідробіонтів та еталону

Найменування тест-штамів мікроорганізмів	Варіанти досліджуваних поживних середовищ				
	Еталон (МПА)	75%МГ+ 25%ГК №1	50%МГ+50%ГК №2	33%МГ+67%ГК №3	25%МГ+75%ГК №4
<i>C. xerosis</i> 1911	10^{-7}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
<i>E. coli</i> O55	10^{-8}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-7}	10^{-8}
<i>St. aureus</i> ATCC 25923	10^{-8}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}

Результати досліджень щодо вивчення показників чутливості напіврідких поживних середовищ на основі сумішей гідролізітів морських гідробіонтів та еталону представлені в табл. 4. Отримані результати досліджень, представлені в таблицях 2–4 дали підстави стверджувати, що з

усіх досліджуваних нами експериментальних зразків досліджуваних поживних середовищ при визначенні чутливості рідких, твердих та напіврідких поживних середовищ зразок № 5 володів найвищим рівнем чутливості та не поступався еталону.

Таблиця 4.

Порівняльні показники чутливості напіврідких поживних середовищ на основі сумішей гідролізітів морських гідробіонтів та еталону

Найменування тест-штамів мікроорганізмів	Варіанти досліджуваних поживних середовищ				
	Еталон (МПА)	75%МГ+ 25%ГК №1	50%МГ+50%ГК №2	33%МГ+67%ГК №3	25%МГ+75%ГК №4
<i>C.xerosis</i> 1911	10-7	10-3	10-4	10-5	10-7
<i>E.coli</i> O55	10-8	10-4	10-5	10-6	10-8
<i>St.aureus</i> ATCC 25923	10-8	10-5	10-5	10-6	10-8

Контроль динаміки накопичення бактерійної маси тест-штамів мікроорганізмів на твердих поживних середовищ, виготовлених на основі

гідролізітів морських гідробіонтів, проводили порівнюючи з еталоном (МПА) та середовищем Сабуро агаризованим (табл. 5).

Таблиця 5.

Результати контролю твердих поживних середовищ з гідролізітів морських гідробіонтів ($M \pm m$; $n=5$)

№ зразка	Варіанти основ досліджуваних поживних середовищ	Найменування тест-штамів мікроорганізмів							
		<i>P. aeruginosa</i> 27/29 24 години		<i>S. marcescens</i> 1 24 години		<i>St. aureus</i> ATCC 25923 24 години		<i>C. albicans</i> ATCC 885-653 48 годин	
		КУО×10 ⁷	Розмір колоній (d), форма	КУО×10 ⁷	Розмір колоній (d), форма	КУО×10 ⁷	Розмір колоній (d), форма	КУО×10 ⁷	Розмір колоній (d)
	Еталон	80,0±4,0	1,8±0,2 S	53,0±3,0	2,5±0,2 S	71,0±3,0	2,2±0,2 S	17,0±2,0	0,8±0,2
1	75%МГ+25%ГК	-	-	-	-	-	-	-	-
2	50%МГ+50%ГК	21,0±4,0	1,6±0,2 R	18,0±1,0	2,3±0,2 S	29,0±4,0	2,1±0,2 S	0,5±0,1	0,5±0,2
3	33%МГ+67%ГК	53,0±1,0	1,7±0,2 S	32,0±2,0	2,1±0,2 S	51,0±1,0	2,2±0,2 S	9,0±1,0	0,5±0,2
4	25%МГ+75%ГК	96,0±3,0	1,9±0,2 S	64,0±3,0	2,4±0,2 S	85,0±3,0	2,1±0,2 S	22,0±2,0	0,8±0,2

Примітка: $P < 0,05$

На підставі отриманих результатів встановлено, що за накопиченням бактерійної маси при культивуванні тест-штамів *P. aeruginosa*, *S. marcescens* та *St. aureus* перевагу перед еталоном складали експериментальні зразки поживних середовищ із вмістом 25% мідійного гідролізату та 75% гідролізату кільки, і становили в середньому в 1,2 рази більше. Така ж тенденція спостерігалася і відносно тест-штаму *C. albicans* (в 1,3 рази більше порівняно з еталоном). Крім того, результати досліджень свідчили про залежність

між інтенсивністю утворення пігменту тест-штамами мікроорганізмів та відсотковим вмістом складових експериментальних середовищ. Так, *S. marcescens* утворювала яскраво виражений червоно-рожевий пігмент при культивуванні в зразках середовищ №4, на відміну від рожевого (еталон); та відповідно блакитно-зелений при культивуванні *P. aeruginosa* в порівнянні з еталоном (світло-зелений). При дослідженні експериментальних рідких поживних середовищ в якості еталону використовували МПБ (табл. 6).

Таблиця 6.

Результати контролю рідких поживних середовищ з гідролізатів морських гідробіонтів ($M \pm m$; $n=5$)

№ зразка	Варіанти основ досліджуваних поживних середовищ	Найменування тест-штамів мікроорганізмів					
		С. xerosis 1911 24 години		E. coli O55 24 години		St. aureus ATCC 25923 24 години	
		КУО×10 ⁷	Форма клітин, фарбування за Грамом	КУО×10 ⁷	Форма клітин, фарбування за Грамом	КУО×10 ⁷	Форма клітин, фарбування за Грамом
Еталон		59,4±3,0	короткі, Г ⁺ палички	94,0±1,0	поодинокі, Г палички	87,0±2,0	поодинокі, іноді парами, Г ⁺ коки
1	75%МГ+25%ГК	-	довгі, не типові, Г ⁺ палички	-	товсті, не типові Г палички	-	дрібні, Г ⁺ коки
2	50%МГ+50%ГК	21,0±1,0	довгі, не типові, Г ⁺ палички	30,0±1,0	товсті, не типові Г палички	23,0±1,0	дрібні, Г ⁺ коки
3	33%МГ+67%ГК	42,0±1,0	короткі, Г ⁺ палички	78,0±2,0	поодинокі, Г палички	55,0±1,0	поодинокі Г ⁺ коки
4	25%МГ+75%ГК	65,0±3,0	короткі, булаво подібні, Г ⁺ палички	95,0±2,0	поодинокі, Г палички	89,0±2,0	поодинокі, іноді парами, Г ⁺ коки

Примітка: $P < 0,05$

Дані по перевірці якості рідких поживних середовищ з гідролізатів морських гідробіонтів свідчили, що максимальне накопичення бактерійної маси при культивуванні *S. xerosis* впродовж 24 годин забезпечував зразок № 4 та перевищував еталон в 1,1 рази; в той час як, накопичення бактерійної маси *St. aureus* та *E. coli* на середовищі з вмістом 25 % мідійного гідролізату та 75 % гідролізату кільки відбувалося на відносно однаковому рівні.

Крім того, збереження морфологічних ознак

вищенаведених тест-штамів мікроорганізмів, які відповідали паспортним характеристикам, в порівнянні з еталонним поживним середовищем, забезпечував зразок №4

Оцінку якості напіврідких поживних середовищ проводили згідно методики, яка була попередньо використана при оцінці ростових властивостей рідких поживних середовищ, за умови використання в якості еталону напіврідкого агару Хоттінгера (табл. 7).

Таблиця 7.

Результати контролю напіврідких поживних середовищ з гідролізатів морських гідробіонтів ($M \pm m$; $n=5$)

№ зразка	Варіанти основ досліджуваних поживних середовищ	Найменування тест-штамів мікроорганізмів					
		С. xerosis 1911 24 години		E. coli O55 24 години		St. aureus ATCC 25923 24 години	
		КУО×10 ⁷	Форма клітин, фарбування за Грамом	КУО×10 ⁷	Форма клітин, фарбування за Грамом	КУО×10 ⁷	Форма клітин, фарбування за Грамом
Еталон		48,4±1,0	короткі, Г ⁺ палички	62,6±2,3	поодинокі, Г палички	58,0±2,0	поодинокі, іноді парами, Г ⁺ коки
1	75%МГ+25%ГК	-	довгі, не типові, Г ⁺ палички	-	товсті, не типові Г палички	-	дрібні, Г ⁺ коки
2	50%МГ+50%ГК	16,2±1,7	довгі, не типові, Г ⁺ палички	20,0±1,6	товсті, не типові Г палички	15,3±1,5	дрібні, Г ⁺ коки
3	33%МГ+67%ГК	32,3±2,9	короткі, Г ⁺ палички	52,0±1,9	поодинокі, Г палички	36,6±1,7	поодинокі Г ⁺ коки
4	25%МГ+75%ГК	49,0±2,7	короткі, булаво подібні, Г ⁺ палички	63,3±2,5	поодинокі, Г палички	59,3±2,4	поодинокі, іноді парами, Г ⁺ коки

Примітка: $P < 0,05$

З представлених результатів досліджень видно, чітку закономірність щодо переваг в накопиченні бактерійної маси та збереженні морфологічних ознак тест-штамів мікроорганізмів в зразках експериментальних поживних середовищ №4 перед іншими досліджуваними та відповідність еталону.

Перспективи подальших досліджень. Перспективою подальших досліджень є визначення ефективності досліджуваних гідролізатів в якості основи середовища для культури клітин з метою доведення їх універсальності.

Висновки:

1. Показник «чутливості» поживних середовищ, який є одним із показників якості свідчив, що

найбільш ефективними твердими, рідкими та напіврідкими поживними середовищами були ті, які містили 25% мідійного гідролізату та 75% гідролізату кільки.

2. Накопичення бактерійної маси тест-штамів мікроорганізмів *Pseudomonas aeruginosa* №27/29, *Serratia marcescens* 1 та *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 на експериментальних поживних середовищах були вищим у 1,2 рази ніж на еталонних поживних середовищах; *Candida albicans* ATCC 885-653 – у 1,3 рази відповідно; *Escherichia coli* O55 та *Corynebacterium xerosis* 1911у 1 раз за умови вмісту в середовищі 25% мідійного гідролізату та 75% -гідролізату кільки.

Список використаної літератури:

1. Малахов Ю. А. Лептоспироз животных / Ю. А. Малахов, А. Н. Панин, Г. Л. Соболева. – Ярославль: ДИА-пресс, 2000. – 584 с.
2. Прозоркина Н. В. Основы микробиологии, вирусологии и иммунологии: Учебное пособие для средних спец. мед. уч. заведений / Н. В. Прозоркина, Л. А. Рубашкина. - Ростов н/Д: Феникс, 2002. – 416 с.
3. Бубеев А. Т. Технология получения основы микробиологических питательных сред / А. Т. Бубеев, Т. Е. Данилова, В. Ж. Цыренов // Биотехнология: состояние и перспективы развития. – М., 2005. – 4.1. – С. 320–321.
4. Вартанова Н. О. Создание новой синтетической среды для культивирования *Helicobacter pylori* / Н. О. Вартанова [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2005. – Т. 139. – № 5. – С. 538–543.
5. Рябов В. Г. Содержание микроэлементов и пестицидов в мясе бычков при откорме / В. Г. Рябов, В. К. Генкель, Н. В. Волкова // Материалы Междунар. конф. «Загрязненность экол. систем токсикантами и акту- ал. вопр. соврем, фармакологии и токсикологии. Подгот. Кадров». – Троицк, 1996. – С. 124–126.
6. Телишевская Л. Я. Белковые гидролизаты / Л. Я. Телишевская. – М., 2000.–295 с.
7. Поляк М.С. Питательные среды для медицинской микробиологии. / М. С.Поляк, В. И. Сухаревич, М. Э. Сухаревич. – Санкт-Петербург, Слби-СПб, 2008. – 351 с.
8. Дзержинская И. С. Питательные среды для выделения и культивирования микроорганизмов: учеб. пособие / И.С. Дзержинская. – Астрахань: Изд-во АГТУ, 2008. – 348 с.
9. Комоско Г.В. Разработка питательной среды на основе панкреатического гидролизата казеина для глубинного культивирования клеток сибиреязвенного вакцинного штамма СТИ-1 / Г.В. Комоско [и др.] // Диагностика, лечение и профилактика опасных инфекционных заболеваний. Биотехнология. Ветеринария. Матер, юбил. науч. конф., посвящ., 70-летию НИИ микробиологии МО РФ (30 ноября-1 декабря, 1998 г.). – Киров, 1998. – С. 305.
10. Старцева О.И. Совершенствование биотехнологии производства питательных сред для культивирования чумного микроба на основе сырья животного и растительного происхождения: дис...канд. биол. наук: 03.00.23 / О. И. Старцева. – Ставрополь, 2005. – 182 с.
11. Омарова С. М. Биологические свойства листерий, культивируемых на новых средах для накопления и выделения / С. М. Омарова // Микробиология. – 2007. – № 3. – С. 90–92.
12. Султанов З.З. Разработка и усовершенствование технологий получения микробиологических питательных основ и сред: автореф. дис...докт. биол. наук: 03.00.07 / З.З. Султанов. – Махачкала, 2008. – 45 с.
13. Бакулин А.В. Ферментативный гидролиз высокомолекулярного хито- зана фитопаином / А.В. Бакулин // Материалы пятого съезда общества биотехологов России им. Овчинникова (2-4 декабря). – М., 2008. – С. 312–314.
14. Казиахмедов, З.А. Совершенствование питательной среды для индикации микобактерий / З.А. Казиахмедов [и др.] // Сб. науч. трудов, по- свящ. 50-летию Дагестанской противочум. станции. – Махачкала, 2002. – С. 187–190.
15. Блинкова Л.П. Испытания гидролизатов из отходов морепродуктов в питательных средах / Л.П. Блинкова [и др.] // Разработки и стандартизации микробиологических питательных сред и тест-систем: материалы 4-й международ. научно-практ. конф., посвящ 50-летию НПО «Питательные среды» МЗ РФ (15-17 сент., 2003 г.). Махачкала, 2003. - С. 49.

16. Заикина И.А. Экологическая роль бактериального сообщества эпифитов филлосферы в жизнедеятельности растений: дис...канд. биол. наук: 03.00.07. / И.А. Заикина. – Ставрополь, 2008. – 170 с.
17. Свириденко Ю. Я. Гидролизаты термокоагулированных белков молочной сыворотки / Ю. А. Свириденко [и др.] // Молочная промышленность. – 2006. – № 6. – С. 66–67.
18. Панова Н. В. Разработка нового стимулятора роста микроорганизмов и изучение его влияния на их биологические свойства на примере некоторых вакцинных штаммов бактерий: дис. канд. биол. наук: 03.00.23, 03.00.07 / Н. В. Панова. – Ставрополь, 2006. - 173 с.
19. Бабаян Г. Л. Способ оценки протеиназной активности комплексного ферментного препарата по данным кинетики протеолиза модельного белкового субстрата / Г. Л. Бабаян, В. К. Латов // Биотехнология. — 2003. — №6. — С. 47-51.

Колесникова К. Ю., Пинчук Н. Г. ИССЛЕДОВАНИЕ УРОВНЯ НАКОПЛЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОЙ МАССЫ ТЕСТОВЫХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ НА СРЕДАХ С ГИДРОЛИЗАТОВ МОРСКИХ ГИДРОБИОНТОВ

В статье приведены данные теоретического обоснования и результаты экспериментальных исследований по проверке новых твердых, жидких и полужидких питательных сред на основе гидролизатов морских гидробионтов (мидийного гидролизата и гидролизата кильки). Установлено, что экспериментальные среды при культивировании эталонных тест-штаммов микроорганизмов обеспечивают увеличение выхода бактериальной массы в среднем в 1,2 раза по сравнению с эталонными питательными средами, которые изготавливаются на основе перевара Хоттингера.

Ключевые слова: среды, тест-штаммы микроорганизмов, морские гидробионты, перевар Хоттингера.

Kolesnikova K. Yu., Pinchuk N. G. RESEARCH OF LEVEL OF ACCUMULATION OF BACTERIAL MASS OF TEST CULTURES OF MICROORGANISMS ON ENVIRONMENTS FROM GIDROLIZATOV OF MARINE AQUATIC LIVES

In the article information is resulted on verification of new nourishing environments on the basis of gidrolizatov of marine aquatic lives. It is set that experimental environments at cultivation of standard test-cultures of microorganisms provide the increase of output of bacterial mass on the average in 1,2 time as compared to standard nourishing environments on the basis of overcook of Khottingera.

Keywords: media, test strains of microorganisms, marine hydrobionts, media Hottinger.

Рецензент: д.вет.н., професор Фотіна Т.І.
Дата надходження до редакції: 12.01.2014 р.

УДК 636.09:616.98:579.62

ЛІСТЕРІОЗ. ЕПІЗООТОЛОГІЧНА ТА ЕПІДЕМІОЛОГІЧНА СИТУАЦІЯ НА ПРИКЛАДІ ДЕРЖАВ ЄВРОПЕЙСЬКОГО СОЮЗУ

О. В. Мачуський, к.вет.н.,

В. А. Ковтун, молодший науковий співробітник.

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів

*Авторами проведено аналіз епідемічної та епізоотичної ситуації щодо лістеріозу в державах Європейського Союзу. Встановлено, що роль хворих на лістеріоз тварин в якості етіологічного чиннику у захворюванні людей даною хворобою складає 4 %; сировина, отримана від хворих тварин, є джерелом виробництва 38 % забруднених патогенними мікроорганізмами продуктів харчування. Розраховано, що контаміновані *Listeria spp.* харчові продукти спричиняють захворювання у 45 % населення, а також виявлено середню зворотну залежність (коефіцієнт кореляції – (-62) між позитивними результатами лабораторних досліджень тварин та продуктів харчування на наявність лістерій.*

Ключові слова: лістеріоз, дослідження, епізоотологічний аналіз, продукти харчування, захворюваність, контамінація, кореляція.

Постановка проблеми у загальному вигляді. Лістеріоз (*Listeriosis*) являється зооантропонозним інфекційним захворюванням, що характеризується проявом різноманітних клінічних симптомів як у тварин, так і у людей, а також високою летальністю. Хвороба має синоніми такі як лістерельоз, неврельоз, гранульоматоз новона-

роджених, хвороба річки Тигр [1, 2, 3, 4].

Виділяють три етапи епідеміологічного розповсюдження *Listeria spp.*:

перший (до 1950-го року) – в цей період було виявлено не більше 70 випадків лістеріозу серед людей, що контактували з хворими тваринами;

другий (1950-1970-ті роки) – кількість випад-