

УДК 576.851.49/ 57.083.1

ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ НА ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩАХ, ОТРИМАНИХ ІЗ ПРОМИСЛОВИХ ВІДХОДІВ**Осолодченко Т. П., Штикер Л. Г., Рябова І. С., Завада Н. П., Руденко Л. М., Божко М. Г., Драч М. І.
Інститут мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова АМН України, Харків**

Відомо, що для росту мікроорганізмів, які виділяються з клінічного матеріалу, об'єктів навколишнього середовища, для накопичення біомаси промислових бактерій та розробки біопрепаратів необхідні збагачені середовища, де використовується дорожча сировина. Розробкам технології виготовлення поживних середовищ із промислових білковомістних відходів в останній час приділяють велику увагу. Складність цієї задачі обумовлена ще й тим, що, з одного боку, патогенні мікроорганізми є гетеротрофами і особливо чутливі до складу середовища, а, з другого боку, достатньо економічні сировинні джерела не завжди складають весь необхідний комплекс нутритивних компонентів [1,2]. В лабораторії біохімії мікроорганізмів та поживних середовищ розробляються середовища із відходів виробництв різного профілю шляхом кислотного, ферментативного або лужного гідролізу. Одним із напрямків цієї роботи є перевірка морфологічних та фізіолого-біохімічних властивостей музейних штамів мікроорганізмів при їх культивуванні на середовищах, які були отримані із промислових відходів служби крові [3, 4].

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Матеріалом для дослідження були стандартні штами мікроорганізмів, які знаходяться в колекції основного фонду Музею патогенних для людини мікроорганізмів та рекомендовані Всесвітньою організацією охорони здоров'я (ВООЗ) для виконання відповідних дослідних робіт, а також штами, виділені з клінічного матеріалу і одержані з міжнародних колекцій [5].

В досліді брали наступні тест-штами мікроорганізмів, рекомендовані ВОЗ:

Staphylococcus aureus ATCC 25923;*Escherichia coli* ATCC 25922;*Proteus vulgaris* ATCC 4636;*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853;*Candida albicans* ATCC 885/653

та клінічні, отримані з інших колекцій:

Shigella flexneri 170;*Salmonella typhimurium* 144;*Enterobacter aerogenes* 418

Для вирощування бактерій в якості основних поживних середовищ використовували м'ясо-пептоний агар (МПА), а також агар для визначення антибіотикочутливості мікроорганізмів. Поживну агарізовану основу готували у відповідності із настановами підприємств-виробників. Дослідні серії поживних середовищ отримували шляхом кислотного гідролізу еритроцитарної маси із простроченим терміном дії, враховуючи показники ступеню розщепленості вихідної сировини, накопичення амінного азоту та фізичні властивості. Культивування посівів бактерій здійснювали при $t^{37} C$ 24 години, а грибів при кімнатній температурі до 72 годин. На середовищах вивчали культуральні, морфологічні та тинкторіальні властивості. Чутливість до антибіотиків визначали методом дисків з урахуванням діаметрів зон затримки росту. В дослід брали стан-

дартні диски антибіотиків: ампіцилін, гентаміцин, цефазолін, тетрациклін, офлоксацин [6,7]. Результати оброблялись статистично [8].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

В результаті експерименту було встановлено, що отримані гідролізати із еритроцитарної маси крові людини, враховуючи фізико-хімічні характеристики, не відрізнялись від стандартного м'ясо-пептонного агару. Для з'ясування адекватності ростових якостей стандартного та дослідного середовищ було поставлено дослід по визначенню культуральних властивостей, які включали такі характеристики: розмір та форми колоній мікроорганізмів, їх колір, стан, окраску по Граму (табл.1).

Таблиця 1 Характеристика біологічних властивостей штамів мікроорганізмів при культивуванні на стандартних та дослідних середовищах

Мікроорганізми	Стандартне середовище (МПА)	Дослідне (гідролізат еритроцитарної маси)
1	2	3
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Непрозорі колонії з золотистим коліром, навколо з прозорою зоною гемолізу при додаванні в середовище дефіброваної крові, колонії гладкі, сферичні, поверхня волога. Грамположитивні коки поодинокі, парами або у вигляді скупчення	Непрозорі колонії з слабким золотистим коліром, на кров'яному агарі – зона гемолізу, колонії гладкі, сферичні, поверхня волога. Грамположитивні коки поодинокі, парами або у вигляді скупчення
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Світло-сірі колонії, вологі, сферичні, гладкі. Грамнегативні прямі палички, поодинокі або прами.	Сірі колонії, вологі, сферичні, гладкі. Грамнегативні прямі палички, поодинокі або прами.
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 4636	Повзучий ріст, розповсюдження у вигляді однорідної плівки на поверхні агару. Грамнегативна паличка	Відсутній феномен “роїння”, колонії світло-сірого кольору, вологі, гладкі, невеликі у порівнянні з іншими ентеробактеріями. Грамнегативна паличка
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Дрібні опаслесцируючі колонії з слабким зеленим пігментом, гладкі. Грамнегативна дрібна паличка	Дрібні опаслесцируючі колонії без зеленого пігмента, гладкі. Грамнегативна дрібна паличка
<i>Candida albicans</i> ATCC 885/653	Великі білі колонії, блискучі, сферичні, вологі, гладкі. Грамположитивні коки великих розмірів	Білі колонії, блискучі, сферичні, вологі, гладкі. Грамположитивні коки великих розмірів
<i>Salmonella typhimurium</i> 144	Дрібні сірі або сітло-сірі колонії, вологі, сферичні. Грамнегативна паличка	Дрібні сірі або сітло-сірі колонії, вологі, сферичні. Грамнегативна паличка
<i>Shigella flexneri</i> 170;	Дрібні сірі або сітло-сірі колонії, вологі, сферичні. Грамнегативна паличка	Дрібні сірі або сітло-сірі колонії, вологі, сферичні. Грамнегативна паличка
<i>Enterobacter aerogenes</i> 418	Великі слизькі, блискучі, гладкі, сферичні, сірі колонії.	Слизькі, блискучі, гладкі, сферичні, сірі колонії.

1	2	3
	Грамнегативна пряма паличка	Грамнегативна пряма паличка

Як видно із наведених даних в таблиці 1 по культуральним та морфологічним ознакам, штами мікроорганізмів не відрізнялись один від одного при вирощуванні на різних поживних середовищах за винятком розміру колоній у *Candida albicans* ATCC 885/653 і *Enterobacter aerogenes* 418 та кольору у *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 2785. Однак було відмічено, що у протее при культивування на дослідних середовищах, що були отримані шляхом кислотного гідролізу еритроцитарної маси, відсутній феномен “роїння”. Він полягає в тому, що на вологих агарізованих поверхнях клітини протее утворюють однорідку плівку, яка застиляє весь агар на чашках Петрі, тоді як на розроблених середовищах утворюються окремі колонії за рахунок зниження кількості перитрихальних жгутиків. Таке середовище може бути використане в якості диференційного для відповідного виду мікроорганізму.

Для визначення чутливості до антибактеріальних препаратів в розроблені середовища додавали всі інгредієнти за винятком живильної основи і по зонам затримки росту визначали протимікробну дію. Було встановлено, що зони затримки росту мікроорганізмів на експериментальних середовищах не відрізнялись від стандартних. Різниця спостерігалась в межах допустимих величин і була вірогідною ($p < 0,5$). Дані наведені в таблиці 2.

Таким чином, проведені дослідні експерименти свідчать про задовільні ростові властивості розробленого середовища із еритроцитарної маси крові шляхом кислотного гідролізу, які не поступаються якостям стандартного МПА та агару для визначення антибіотикочутливості мікроорганізмів, Культуральні та морфологічні ознаки мікроорганізмів залишаються незмінними.

ВИСНОВКИ

1. Підтверджена задовільна ростова якість розробленого середовища із відходів виробництва служби крові, яка не поступається якостям стандартного МПА та перспективність подальшого вивчення як джерела мікробіологічних поживних основ.
2. Культуральні та морфологічні властивості штамів мікроорганізмів при культивуванні на розроблених середовищах не відрізнялись при вирощування на стандартних середовищах.
3. При культивуванні штаму протее на розробленому середовищу відсутній феномен “роїння”, що дозволяє отримати окремі колонії мікроорганізму.

Таблиця 2. Порівняльна антибактеріальна активність препаратів при культивуванні мікроорганізмів на стандартних та дослідних середовищах

Мікроорганізми	Діаметри зон затримки росту в мм М+м									
	Стандартне середовище – агар для визначення антибіотикочутливості мікроорганізмів					Дослідне середовище із еритроцитарної маси				
	ампіцилін	гентаміцин	цефазолін	тетрациклін	офлокаїн	ампіцилін	гентаміцин	цефазолін	тетрациклін	офлокаїн
<i>Staphylococcus aureus</i>	29,2	20,2	27,3	25,4	27,2	28,3	18,1	25,3	25,2	26,4
<i>Escherichia coli</i>	20,3	23,1	15,3	12,4	27,4	19,2	21,6	14,3	10,1	26,4
<i>Proteus vulgaris</i>	-	21,5	-	-	25,4	-	20,2	-	-	25,8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	24,4	-	-	24,9	-	23,5	-	-	22,7
<i>Salmonella typhimurium</i>	15,1	27,3	12,2	13,5	27,5	13,6	26,3	12,2	11,5	26,1
<i>Shigella flexneri</i>	14,3	25,2	15,2	14,2	28,2	12,6	24,2	12,3	14,1	27,3
<i>Enterobacter aerogenes</i>	-	24,3	14,5	13,8	28,4	-	23,2	13,5	13,1	27,4

ЛІТЕРАТУРА

1. Раскин Б.М. Отечественные сухие питательные среды и перспективы их разработки// ЖМЭИ.-1990.- № 7.-С.25-32.
2. Пивоварова Н.И. Изучение возможности использования гидролизатов кормовых дрожжей и крови животных для изготовления питательных сред для диагностики клинических инфекций// ЖМЭИ.-1990.-№ 7.- С.32-35.
3. Бабушкин И.Н. Использование отходов плацентарной и абортной крови для приготовления питательной среды// Лабораторное дело.-1964.-№ 2.-С.741-743.
4. Журбенко Р.С., Барростабения Маркус Ф., Родригес Мартинес К., Варела Янес А.Э. Изучение возможности использования бактериологического пептона из цельной крови как питательной основы для выращивания микроорганизмов// ЖМЭИ.-1993.-№ 2.- С.23-27.
5. Каталог культур: Бактерії. Мікоплазми. Хламідії. Дріжджоподібні гриби. Міцеліальні гриби. Культури клітин / Селінікова О.П., Мавров І.І., Бощенко Ю.А. та інш., - Київ: Знання.- 2000.- 119 с.
6. Методические указание по применению унифицированных микробиологических методов исследования в клинико-диагностических лабораториях. Приказ № 535 от 22.04.1985 МЗ СССР.
7. Методические рекомендации определения активности антибактериальных средств наружного применения для лечения гнойно-воспалительных инфекций.-Харьков.-1991.- 14 с.
8. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М. -1990.-352 с.

УДК 576.851.49/ 57.083.1

ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ШТАМІВ МІКРООРГАНІЗМІВ ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ НА ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩАХ, ОТРИМАНИХ ІЗ ПРОМИСЛОВИХ ВІДХОДІВ

Осолдченко Т. П., Штикер Л. Г., Рябова І. С., Завада Н. П., Руденко Л. М., Божко М. Г., Драч М. І. Інститут мікробіології та імунології ім. І. І.Мечникова АМН України, Харків

В роботі показана можливість використання еритроцитарної маси крові людини, для одержання живильної основи з метою конструювання мікробіологічних поживних середовищ шляхом кислотного гідролізу. Дана оцінка ростових властивостей сконструйованих живильних середовищ на основі вивчення процесу культивування тест-штамів в порівнянні із стандартними середовищами.

Ключові слова: живильна основа, еритроцитарна маса, середовища, мікроорганізми, антибіотики

УДК 576.851.49/ 57.083.1

ХАРАКТЕРИСТИКА БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ, ПОЛУЧЕННЫХ ИЗ ПРОМЫШЛЕННЫХ ОТХОДОВ

Осолдченко Т. П., Штикер Л. Г., Рябова И. С., Завада Н. П., Руденко Л. М., Божко М. Г., Драч М. И. Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова АМН Украины, Харьков

В работе показана возможность использования отходов крови для получения питательной основы для микробиологических питательных сред путём кислотного гидролиза. Дана оценка ростовых свойств полученных питательных сред на основе изучения процесса выращивания тестовых штаммов в сравнении со стандартными питательными средами.

Ключевые слова: питательная основа, эритроцитарная масса, среды, микроорганизмы, антибиотики

UDK 576.851.49/ 57.083.1

BIOLOGICAL PROPERTIES OF STRAINS OF MICROORGANISMS CULTIVATED ON NUTRITIOUS MEDIUM RECEIVED FROM INDUSTRY WASTE.

Osolodchenko T.P., Shtiker L.G., Ryabova I.S., Zavada N.P., Rudenko L.M., Boshko M.G., Drach M.I. I.I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of AMS of Ukraine, Kharkiv

In work the opportunity of use of waste of blood for reception of a nutritious basis for microbiological nutrient mediums by acid hydrolysis is shown. The estimation properties of the received nutrient mediums on the basis of studying process of cultivation test-microorganisms in comparison with standard nutrient mediums is given.

Key words: nutritious basis, erythrocytes of blood, medium, microorganisms, antibiotics