

УДК 61.6.093-098

Т.В.Лук'яненко

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ШТАМІВ STREPTOCOCCUS SP. ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ НА СЕРЕДОВИЩАХ ІЗ РОСЛИННОЮ СИРОВИНОЮ

ДУ "Інститут мікробіології і імунології ім. І.І.Мечникова
НАМН України", м. Харків

Резюме. У роботі наведені результати дослідження поживних середовищ, виготовлених на основі зернової барди. Шляхом засіву тест-штамів мікроорганізмів визначали ростові властивості розроблених середовищ. Встановлено, що типові культурально-морфологічні ознаки штамів зберігаються, а поживне середовище із зернової барди придатне для культивування різних

видів мікробів. На основі зернової барди розроблене селективне поживне середовище для бактерій роду *Streptococcus*.

Ключові слова: гідролізати зернової барди, бактерії роду *Streptococcus*, селективне поживне середовище.

Вступ. Клінічна картина стрептококових інфекцій багатоманітна та залежить від стану інфікованого організму, локалізації патологічного процесу, характеристики збудника [1]. Для своєчасного виявлення виду збудника необхідне проведення мікробіологічної діагностики з визначенням чутливості до антибіотиків. Відомо, що *Streptococcus* sp. вимогливі до поживних середовищ і потрібна наявність деяких речовин, які би сприяли їхньому виділенню з патматеріалу [2]. Бактерії роду *Streptococcus* (БРС) культивуються на середовищах із додаванням крові або сироватки, при цьому розвиваються повільно при 37°C. Для БРС необхідні середовища, багаті білком та вуглеводами, але й у таких середовищах більшість їх порівняно швидко гине (2-4 тижні). Культури БРС найдовше зберігаються в поживному желатині з додаванням сироватки, а також у напіврідкому м'ясо-пептонному агарі (0,1 %) з додаванням глюкози, під шаром вазелінової чи парафінової олії при температурі +4 – +6°C [3-7].

Традиційно середовища для культивування *Streptococcus* sp. отримують із рибної та м'ясної сировини [7-8]. При цьому є високим ризик введення тваринних та людських патогенів [9]. Тому багато дослідників ведуть пошук отримання поживних середовищ із білків рослинного походження. Сировина для них отримується із сої та інших бобових культур, відходів зерна при виробництві спирту. Ця сировина значно дешевша за традиційну. Перспективним напрямком є розробки поживного середовища для культивування *Streptococcus* sp. із відходів спиртового виробництва. Зернова барда (ЗБ) – це відходи спиртового виробництва, складовою частиною якої є незамінні амінокислоти (лізин, метіонін), які природно не синтезуються в організмі тварин і людей. Зазвичай ЗБ використовується як компонент корму для сільськогосподарських тварин. Дані дослідження свідчать про збереження біологічних властивостей мікроорганізмами [9-11]. Дослідження щодо БРС не проводилось. На сьогодні відомі селективні середовища для БРС, але вони є високовартісними у виробництві. Пошук у напрямку здешевлення

виробництва селективних середовищ триває. Ми вважаємо, що впровадження гідролізатів із ЗБ, які можуть бути складовою поживного середовища, у мікробіологічне виробництво є актуальним завданням та перспективним напрямком для наукової і практичної бактеріології.

Мета дослідження. Вивчити біологічні властивості штамів БРС при культивуванні на середовищі, виготовленого на основі кислотних гідролізатів із ЗБ, з діагностичною оцінкою за ростовими властивостями.

Матеріал і методи. Об'єктами дослідження були штами мікроорганізмів, одержані з музею живих культур ДУ "ІМІ ім. Мечникова АМН України" та рекомендовані для перевірки якості поживних середовищ і визначення антимікробної активності: *Streptococcus pyogenes* 2432 ATCC та клінічні ізоляти: *Streptococcus pyogenes* № 54, 71, 83, 87. Всі штами зберігалися в напіврідкому середовищі. Життєздатність клітин підтримували методом пересівів на щільне поживне середовище. Культуральні та морфологічні властивості мікроорганізмів підтверджували шляхом посіву на селективні середовища та мікроскопією клітин. Стандартні середовища готували відповідно до вимог виробника. Як стандартне середовище обраний кров'яний агар (КА) та досліджуване середовище [11]. Вихідною сировиною для приготування поживного середовища була ЗБ – відходи спиртового виробництва, яка одержана з Харківського дріжджового заводу. Сконструйоване поживне середовище, до складу якого входив кислотний гідролізат зернової барди. Перевірці ростових якостей основи проводили за методикою [11-12]. На виготовлені середовища здійснювали висів мікробних культур (з маточної культури, що відповідала 1,0 одиниці каламутності за McFarland, робили послідовні розведення: 10⁻⁶, 10⁻⁷ мікробних клітин у 0,1 мл стерильного фізіологічного розчину). Кількість мікробних клітин додатково позначали за оптичним стандартом каламутності. Наявність росту при висіві 10⁻⁶-10⁻⁷ мікробних клітин вважали за показник задовільної ростової якості середовища відносно

Порівняльна характеристика кількості мікроорганізмів, що виростили на дослідному та стандартному середовищі

№п /п	Вид мікроорганізму	Розведення	Кількість колоній (M+m)	
			Кров'яний агар	Досліджуване середовище
1	Streptococcus pyogenes 2432 ATCC	10 ⁻⁶	65,4±0,7	63,5±0,6
		10 ⁻⁷	6,4±0,5	6,2±0,5
2	Streptococcus pyogenes № 54	10 ⁻⁶	64,3±0,6	61,9±0,3
		10 ⁻⁷	6,4±0,3	6,2±0,6
3	Streptococcus pyogenes № 71	10 ⁻⁶	63,6±0,4	61,8±0,5
		10 ⁻⁷	6,3±0,7	6,1±0,7
4	Streptococcus pyogenes № 83	10 ⁻⁷	64,9±0,6	62,7±0,6
		10 ⁻⁶	6,5±0,7	6,3±0,2
5	Streptococcus pyogenes № 87	10 ⁻⁶	63,2±0,4	61,3±0,5
		10 ⁻⁷	6,2±0,6	6,1±0,4
6	Streptococcus pyogenes № 91	10 ⁻⁷	63,4±0,5	63,1±0,4
		10 ⁻⁶	6,2±0,4	6,2±0,3
7	Streptococcus pyogenes № 95	10 ⁻⁶	62,3±0,5	61,7±0,4
		10 ⁻⁷	6,1±0,4	6,1±0,6

конкретного тест-штаму. Оцінювали типовість росту мікроорганізмів на розроблених середовищах за культурально-морфологічними ознаками візуально та за даними мікроскопії мазків, забарвлених за методом Грама [9].

Результати дослідження та їх обговорення.

У результаті досліджень виготовлено декілька серій гідролізатів із ЗБ з достатнім рівнем аміного азоту. Одержане середовище досліджено за ростовими властивостями для культивування різних груп мікроорганізмів як музейних штамів, так і клінічних ізолятів. Паралельно проводили їх висів на КА. Порівняння одержаних результатів надало можливість оцінити продуктивність досліджуваних поживних середовищ для мікроорганізмів (табл.).

Наведені в таблиці дані свідчать, що продуктивність розробленого середовища із ЗБ висока порівняно з прототипом – поживним агаром. Середовище із ЗБ за своїми ростовими властивостями для культивування мікроорганізмів не відрізняється від стандартного середовища.

Культурально-морфологічні ознаки типові, а окремі біологічні властивості залишалися стабільними.

Середовище з кислотного гідролізату зернової барди раціонально використовувати для культивування *Streptococcus pyogenes*. Мікроскопічне дослідження підтвердило морфологію використовуваних тест-мікробів у процесі культивування на запропонованому середовищі. Враховуючи, що на КА та досліджуваному середовищі достатньо продуктивно вегетують взяті до досліджуваного *Streptococcus pyogenes*, ми можемо стверджувати, що сконструйоване нами поживне середовище є селективним для БРС.

Висновки

1. Отримані в результаті досліджень поживні середовища із гідролізатів зернової барди забезпечують необхідні ростові властивості та культурально-морфологічні ознаки *Streptococcus pyogenes*.

2. Культурально-морфологічні ознаки *Streptococcus pyogenes* залишалися типовими, а окремі біологічні властивості залишалися стабільними. Отримане поживне середовище можна вважати селективним для культивування бактерій роду *Streptococcus*.

Перспективи подальшого дослідження. На подальшу увагу заслуговує впровадження створеного середовища із вмістом гідролізату зернової барди, оскільки збережені біологічні властивості досліджуваних мікроорганізмів при одночасному зниженні вартості виробництва поживного середовища.

Література

1. Брико Н.И. Лабораторная диагностика стрептококковых инфекций: Пособие для врачей и научных работников / Н.И.Брико, А.С.Ещина, Л.А.Ряпис. – М.: Хризостом, 2000. – 64 с.
2. Брико Н.И. Состояние и перспективы лабораторной диагностики стрептококковой инфекции в России / Н.И.Брико // Клин. лаб. диагност. – 2000. – № 8. – С. 12-15.
3. Изучение возможности использования бактериологического пептона из цельной крови как питательной основы для выращивания микроорганизмов / Р.С.Журбенко, Ф.Барроетабения Маркес, К.Родригес Мартине [та ін.] // Ж. микробиол. – 1993. – № 2. – С. 23-27.
4. Одержання живильної основи із відходів служби крові для культивування мікроорганізмів

- мів / В.М.Ніколаєнко, Т.П.Осолодченко, С.І.Чупринова [та ін.] // Вісн. Харк. ун-ту. – 2006. – № 738. – С. 40-43.
5. Семенов С.М. Агар и другие уплотнители для микробиологических сред: Хим.-фарм. произ-во: Обзорн. информ. // С.М.Семенов, В.А.Аникин. – М.: НИИОЭНТИ, 1992. – Вып. 3. – 36 с.
 6. Гавристова И.А. Характеристика белковых основ бактериологических питательных сред по содержанию углеводов / И.А.Гавристова, Л.Г.Бендас // Ж. микробиол. – 1991. – № 5. – С. 76.
 7. Інформаційний лист МОЗ України № 05.4.1/1670 «Бактеріологічний контроль поживних середовищ». – Київ, 2000 р.
 8. Орел Л.И. Обзор патентных документов по применению питательных сред для выращивания бактерий / Л.И.Орел, Л.Д.Дубанская // ЖМЭИ. – 1993. – № 12. – С. 22-26.
 9. Вивчення ростових властивостей поживних середовищ із зернової барди відносно тест-штамів мікроорганізмів / Т.П.Осолодченко, Н.П.Волянська, О.А.Батрак [та ін.] // Annals of Mechnicov Institute. – 2010. – № 2. – С. 38-41 [Електронний ресурс]. – Режим доступу: www.imiamn.org/journal.htm.
 10. Разработка стимуляторов роста бактерий из растений / Г.П.Адлова, С.В.Денисова, А.К.Имиджев [и др.] // ЖМЭИ. – 1998. – № 1. – С. 13-17.
 11. Микробиологические питательные среды и перспективы их разработки / П.П.Блинкова, М.Ю.Зотина, М.В.Щербатых [и др.] // ЖМЭИ. – 1995. – № 5. – С. 25-32.
 12. Меджидов М.М. Справочник по микробиологическим питательным средам / М.М.Меджидов. – М.: Медицина, 2003. – 316 с.
 13. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования / Под ред. М.О.Биргера, 3-е изд. – М.: Медицина, 1982. – 464 с.

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ШТАММОВ STREPTOCOCCUS SP. ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА СРЕДАХ С РАСТИТЕЛЬНЫМ СЫРЬЕМ

Т.В.Лукьяненко

Резюме. В работе представлены результаты исследований питательных сред, полученных на основе зерновой барды. Путем посева тест-штаммов микроорганизмов определяли ростовые свойства сред. Установлено, что культурально-морфологические признаки штаммов сохраняются, а питательные среды из зерновой барды пригодны для культивирования различных видов микробов. Создана селективная питательная среда для культивирования бактерий рода *Streptococcus*.

Ключевые слова: гидролизаты зерновой барды, бактерии рода *Streptococcus*, селективная питательная среда.

THE BIOLOGICAL PROPERTIES OF STREPTOCOCCUS SP STRAINS, WHEN CULTURING ON CULTURE MEDIA WITH VEGETABLE RAW MATERIAL

T.V.Lukianenko

Abstract. The paper presents the results of a research of nutrient media prepared on the basis of malt residue. By means of inoculating test-strains of microorganisms the growth properties of elaborated media were determined. It has been established that the typical cultural-morphologic signs of the strains are presented, whereas the nutrient medium of the malt residue is suitable for culturing various microbial species, On the basis of the malt residue a selective nutrient medium for the streptococcus genus has been developed.

Key words: malt residue hydrolyzates, *Streptococcus* genus bacteria, selective nutrient medium.

I.I.Mechnikov SE “Institute of Microbiology and Immunology of Ukraine’s NAMS” (Kharkiv)

Рецензент – проф. С.С.Дейнека

Buk. Med. Herald. – 2011. – Vol. 15, № 2 (58). – P. 108-110

Надійшла до редакції 1.03.2011 року