

УДК 57. 083.1 - 039

РОЗРОБКА ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ БІОМАСИ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS***Осолодченко Т.П., Пасічник Т.О., Ніколаєнко В.М., Штикер Л.Г., Батрак О.А. , Завада Н.П. , Рябова І.С.,
Щетініна В.М.****Інститут мікробіології і імунології ім. І.І.Мечникова АМН України, м. Харків**

Біомаса стафілококу є сировиною для одержання антистафілококових препаратів: вакцини, фагу та протеїну А. Для вирощування стафілококів застосовуються декілька живильних середовищ: МПА, молочно-сольовий агар, середовища Чистовича та Чепліна і Бернса . Всі перераховані середовища виготовляються на основі м'ясо-пептонного агару. Відмінності між ними полягають в використанні додаткових живильних факторів: яєчних жовтків, молока, лактози, що слугують діагностичним цілям при визначенні лецитінази патогенних властивостей. Використання м'ясного середовища (МПА) та харчових добавок (жовток, молоко) зумовлює високу собівартість усіх наведених середовищ. Тому здається дуже перспективним використання як живильної основи солянокислого гідролізату активного мулу замість м'ясо-пептонного агару та молока.

Мета даної роботи - розробити середовище для культивування стафілококів шляхом заміни харчової сировини (м'ясо-пептонного агару, молока) продуктами переробки активного мулу, забезпечити активність росту, яка перевищує або не поступається такій на середовищі – прототипі, і знизити таким чином його собівартість.

Матеріали і методи

Прототипом розробленого середовища є середовище молочно-сольовий агар, до складу якого входять такі інгредієнти:

м'ясо-пептонний агар;
NaCl 10 %;
молоко 10 – 20 %; при рН 7,2.

На відміну від прототипа ми пропонуємо використовувати як живильну основу солянокислий гідролізат активного мулу замість м'ясо-пептонного агару та молока.

Солянокислий гідролізат виготовляли за методикою Іоффе [8].

Вміст амінного азоту визначали формол-титриметричним методом Серенса [2]. Статистичну обробку результатів проводили за Стьюдентом-Фішером.

Виготовлення білкової основи здійснюється за такою методикою: 1 л активного мулу свіжевідібранного з аеротенку або розмороженого відстоюють 30 хвилин, надлишок води зливають, до осаду додають до 1 л водопровідну воду, відстоюють 30 хвилин, зливають надлишок води і до осаду вносять комерційну соляну кислоту до кінцевої концентрації (1-5) %, закорковують ватно-марлевым корком і автоклавують 2 години при 1,5 атм. Після автоклавовання одержується рідина коричневого кольору з осадком. В гідролізат вносять дистильовану воду у відношенні 1:1 та активоване вугілля із розрахунку 2,0 г на 100 мл. Суміш автоклавують 20 хвилин при 1 атм і відфільтровують через склотканину або полотно. На основі солянокислого гідролізату було виготовлене живильне середовище.

Одержане середовище було використане для одержання біомаси *S.aureus* штамів № 6538 ATCC (музейний), № 37 та 38 (клінічні) в порівнянні з молочно-сольовим агаром. Для цього на чашки Петрі суцільним газоном засівали по 0,2 мл 5 млн культури досліджуваних штамів. Після 24 год культивування культуру змивали фізіологічним розчином і визначали кількість змитих клітин за стандартом каламутності.

Результати та обговорення

Одержаний гідролізат являє собою прозору рідину світло сірувато-коричневого кольору. Були визначені його характеристики, які наведені в табл.1.

Таблиця 1 – Характеристика солянокислого гідролізата активного мулу, одержаного із 1 л активного мулу

№ серії	Об'єм одержаного гідролізату, мл	Загальний азот, мг %	Амінний азот, мг %
1	420	478	434
2	380	350	324
3	406	300	260

Для конструювання живильного середовища для стафілококів необхідно було підібрати концентрацію амінного азоту, яка б забезпечувала оптимальний ріст цього мікроорганізму. Для цього було приготовано ряд живильних середовищ з різним вмістом амінного азоту, в межах (60-180) мг %. На чашки Петрі було висіяно штам *S.aureus* ATCC 6538-P в діапазоні посівної дози 500- 10⁶ мікробних клітин. Облік результатів проведено через 24 год. Встановлено, що вміст амінного азоту, що є оптимальним для росту мікроорганізму *S.aureus*, знаходиться в межах (90-140)мг % [3] .

Виготовлення живильного середовища для культивування *S.aureus* включає такі етапи:

- нейтралізація гідролізату до pH = 7,0 – 7,2;
- розбавлення до вмісту амінного азоту (90-140 мг) %;
- внесення агар-агару – 2,0 %;
- стерилізація 20 хвилин при 1 атм.

Була досліджена продуктивність розроблених середовищ для стафілококів (табл.2).

Таблиця 2 – Продуктивність досліджуваних середовищ для стафілококів

Штами стафілококів	Кількість клітин, млрд/ чашку $\bar{x} \pm S_x$		t (df=5)	p
	Середовище із активного мулу	Молочно-сольовий агар		
№ 6538 ATCC	1046±180	668±125	3,03	p<0,05
№ 37 (клінічний)	944,3±84,6	719±134	2,5	p<0,1
№ 38 (клінічний)	1374±311	912±87	2,52	p<0,1

Як видно із даних табл.2, продуктивність розробленого середовища достовірно вища з рівнем значності p<0,05 і p<0,1 в порівнянні з прототипом.

Розроблене живильне середовище на основі солянокислого гідролізату активного мулу, одержаного при концентрації соляної кислоти (1-5) %, є придатним для одержання біомаси *Staphylococcus aureus*. Експериментально були одержані такі дані:

- підібрано умови трансформації осаду активного мулу у форму, придатну для культивування мікроорганізмів;
- підібрано оптимальну концентрацію амінного азоту для росту стафілококу на даній основі.

ЛІТЕРАТУРА

1. Патент № 2073517. Россия, МКИ С 12 N 1/14 Способ получения белковой основы для бактериологических питательных сред. Карышева А.Ф., Доценко В.В., Карышев С.В., Достоевский П.П. (Россия).-№ 96111174; Заявл. 06.06.96; Оpubл.27.04.99 .
2. БиргерМ.О.Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования .М.:Медицина,1982.-464 с.
3. Осолодченко Т.П., Щетініна В.М., Ніколаєнко В.М. та інш. Одержання живильної основи із активного мулу для культивування мікроорганізмів.// Анали Мечниківського інституту.- 2003. - № 4 - 5. – С. 76-78.
4. Орел Л.Л., Дубянская Л.Д. Обзор патентных документов по приготовлению питательных сред для выращивания бактерий.// ЖМЭИ.- 1983. - №12. – С. 22-26.
5. Липеровская Е.С. Гидробиологический анализ активного ила. / . Методика технолог. контроля работы сооружений городских канализаций. – М.: Изд-во лит. по строит., 1977. – С. 156 - 166.
6. Бобров О.Г. Макрофауна сооружений биохимической очистки сточных вод // Гидробиол. журн. – 1977. – Т.13, №3. – С.51 - 56.
7. Роговская Ц.И., Лазарева М.Ф. Результаты исследования микрофлоры активных илов, очищающих различные сточные воды // Очистка пром. сточ. вод. М.: Изд-во лит. по строит. архит. и строймат., 1960. –242 с.
8. Бактеріологічний контроль поживних середовищ // Інформ.лист № 05.4 від 5.02.2000 р 1/670 Укладачі: Глушкевич Т.Г., Томчук В.В., Жеребко Н.М.- Київ, 2000 р.

РЕЗЮМЕ

РОЗРОБКА ЖИВИЛЬНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ОДЕРЖАННЯ БІОМАСИ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Розроблено живильне середовище на основі кислотного гідролізата активного мулу для культивування біомаси *Staphylococcus aureus*. Воно забезпечує достатню активність росту та має низьку собівартість у порівнянні з прототипом.

Ключеві слова: *живильні основи, конструювання середовищ, культивування*

РАЗРАБОТКА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОМАССЫ *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Разработана питательная среда на основе кислотного гидролизата активного ила для культивирования биомассы *Staphylococcus aureus*. Данная среда обеспечивает достаточную активность роста и обладает низкой себестоимостью по сравнению с прототипом.

Ключевые слова: *питательные основы, конструирование сред, культивирование*

WORKING OUT NUTRIENT MEDIUM FOR RECEIVING BIOMASS *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*

Nutrient medium was worked out on basis of acid hydrolysate of active silt for biomass cultivation *Staphylococcus aureus*. Nutrient medium provide enough activity increase and have low prime cost in compare with prototype.

Key words: *nutrient basis, construction of mediums, cultivation*