

УДК 579.64

ПОДБОР ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ БАКТЕРИЙ РОДА *ESCHERICHIA COLI* ИЗ РУБЦА И ТОЛСТОЙ КИШКИ ТЕЛЯТ МОЛОЧНОГО ПЕРИОДА

*Ломакин А.А., магистрант 1 курса ФВМиБ,
artemy.lomakin@yandex.ru*

*Научные руководители: Улитико В.Э., доктор сельскохозяйственных наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ,
Васильев Д.А., доктор биологических наук, профессор
ФГБОУ ВО Ульяновский ГАУ*

Ключевые слова: выделение, идентификация, рубец, толстая кишка, *Escherichia coli*.

*Работа посвящена изучению подбора питательных сред для выделения, количественного определения бактерий вида *Escherichia coli* из содержимого рубца и толстой кишки телят молочного периода. По результату проведенной работы установлено, что наиболее подходящими средами являются среда Эндо и среда МакКонки.*

Цель работы: подбор питательной среды для выделения и идентификации, определение количественного состава бактерий рода *Lactobacillus* в рубце и толстой кишки телят молочного периода.

В работе использованы штаммы музея кафедры МВЭиВСЭ ФГБОУ ВО «Ульяновская ГАУ»: бактерий *Escherichia coli* штамм *E.coli*-1/5.

Оборудование: микроскоп БИОМЕД 6 № 4F 8663200/01, эксикатор тринокуляр с видеонасадкой и программным обеспечением; термостат ТС-80М-2.

Для оценки морфологии колоний на различных средах их культивировали при температуре 36-37°C: агар бактериологический (ТMedia, Испания), Бифидум-среда (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск); Лактобакагар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск); питательный бульон для культивирования микроорганизмов сухой (ФБУН ГНЦ ПМБ Оболенск), агар МакКонки с хлоридом натрия, солями желчных кислот и лактозой (ТMedia, Индия), питательная среда для свыведения сальмонелл сухая-висмут-сульфит агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), питательная среда для индификации энтеробактерий ацетатный агар (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), агар Эндо (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), агар Клиглера-ГРМ (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), среда Симмонса (Биокомпас-С, Углич) среда Кристенсена (Биокомпас-С, Углич), среда Левина-ГРМ (ФБУН

ГНЦ ПМБ, Оболенск), среда Эндо (ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), бифидум-среда(ФБУН ГНЦ ПМБ, Оболенск), соль NaCl.

В процессе эволюционного развития пищеварительный тракт жвачных животных, в том числе крупного рогатого скота, приспособился к переработке большого количества грубого растительного корма, в состав которого входит клетчатка. По сути рубец является большой «бродильной установкой». В этом отделе в огромных количествах живут разнообразные микроорганизмы, вызывающие процессы брожения, которые протекают в условиях нейтральной или слабощелочной реакции [1,4].

Благодаря различной по своему видовому составу микрофлоре (более 60 видов бактерий) и ее обилию в рубце, происходит сбраживание основных питательных веществ корма – углеводов, белков и липидов и создаются условия для последующего их эффективного использования в нижележащих отделах пищеварительного тракта [2,3].

Протеолитическая флора, к которым относятся бактерии вида *Escherichia coli*, использует в качестве питательного и энергетического субстрата продукты белкового гидролиза, а конечными метаболитами её жизнедеятельности являются токсичные вещества, в том числе аммиак, ароматические аминокислоты, эндогенные канцерогены, сульфиды, вызывающие гнилостные процессы. Большинство протеолитических бактерий являются условно-патогенными. Иными словами, под действием ряда экзогенных (антибиотики, антимикробные препараты) и технологических (некачественное кормление и другие) факторов нарушается микрoэкологическое равновесие кишечного биотопа, приводящее к снижению популяции сахаролитической флоры в биотопе, вследствие чего может наблюдаться бесконтрольный рост протеолитических бактерий, приводящий к различным патологиям организма-хозяина[5].

Результаты собственных исследований. При помощи метода окраски по Граму (Лабинская А.С.,1984) было подтверждено, что штамм бактерий вида *E.coli-1/5* в мазках при окраска по Граму грамотрицательные палочковидные бактерии .

Чтобы изучить культуральные бактериальных свойств был использован метод по Гоулду(1965). Методика заключается в следующем: стерильной петлей диаметром 2 мм берут культуру микроорганизма помещают в сектор А чашки Петри, где осторожно распределяют, сделав 40 движений петлей по поверхности агара. Петлю стерилизуют обжиганием и проводят ею 4 раза по поверхности агара через сектор А в сектор 1.Петлю вновь обжигают и проводят 4 полосы через 1-й сектор во 2-й, затем аналогичным образом стерильной петлей из 2-го сектора в

Таблица 2 - Рост микроорганизмов *B. animalis*, *L. acidifarinae*, *E.coli* дифференциально- диагностических средах при температуре 37°C.

	<i>E.coli</i>
Среда Эндо	+
Висмут-сульфит агар	-
Среда Левина	+
Среда Плоскирева	-
Ацетатный агар	-
Среда МакКонки	+
Среда Клиглера	+
Среда Кристенсена с мочевиной	+
Желточно-солевой агар	-
Лактобакагар	+

3-й чашки Петри помещают в термостат при температуре 37°C.

Для подбора оптимальных сред для идентификация бактерий вида *E.coli* культивировали на питательных средах, как накопления, так и на дифференциально- диагностических. Все культуры микроорганизмов культивировали в термостате при температуре 37°C, аэробных условиях. Штамм *E.coli*-1/5 при культивировании при 37°C дают рост через 24 часов на МПА и МПБ.

Кишечная палочка проявляет на дифференциально-диагностических средах проявляют картину свойственную для данного вида бактерий. То есть при 37°C через 24 часа культивирования на среде Эндо, Левина и агаре МакКонки появляется характерный для данного микроорганизма рост. На агаре Эндо –красно-малиновые колонии диаметром 1-3 мм, с металлическим блеском,глянцевые, выпуклые (Рис 1). На агаре Левина через 24 часа при 48 часов растут колонии темно-синего цвета, диаметром 2-3 мм, с металлическим блеском, глянцевые, выпуклые На среде МакКонки наблюдается изменение цвета среды с ярко-розового на малиновые цвет. На среде Клиглера при 37°C через 24 часа растёт с изменением цвета среды, с газообразованием. На среде Бифидум с слабым помутнением среды в аэробных условиях.

По результатам проведенных исследований было установлено, что для выделения и определения количества бактерий вида *E.coli*-1/5 из содержимого рубца и толстой кишки наиболее подходящими явля-

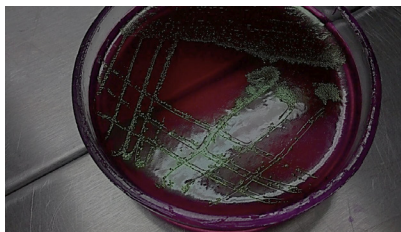


Рисунок 1 - Рост микроорганизмов штаммов бактерий *E.coli*-1/5 на среде Эндо при 37°C через 24 часа в термостате

ются среды Эндо и МакКонки, которые обладают селективным действием на многие виды бактерий. Полученные данные будут использованы в дальнейшей работе.

Библиографический список

1. Алешкевич В. Н. и др. Определение микробиоценоза кишечного тракта животных в норме и при дисбактериозах,-2017.
2. Брауде А. Г., Гудкова А. Ю. Состав биоценоза рубца крупного рогатого скота в возрастном аспекте в пастбищный период //Российский паразитологический журнал. – 2013. – №. 4.
3. Домотенко Л. В., Шепелин А. П., Морозова Т. П. Питательные среды для основных представителей нормофлоры кишечника //Бактериология. – 2016. – Т. 1. – №. 1. – С. 48-53
4. Дускаев Г.К. Течение преджелудочного пищеварения у бычков мясной породы в зависимости от типа кормления // Вестник мясного скотоводства, вып. 56. 2003. С. 230-233
5. Ефимова, Л.В. Эффективные микроорганизмы в кормлении крупного рогатого скота и свиней /Л.В. Ефимова, Т.А. Удалова; Красноярский НИИЖ Россельхозакадемии. – Красноярск, 2011. – 100 с.

SELECTION OF THE NUTRIENT ENVIRONMENT FOR THE IDENTIFICATION AND IDENTIFICATION OF BACTERIA OF THE GENUS OF ESCHERICHIA COLI FROM THE RUBBER AND COLON OF BREAST DAWNS

Lomakin A.A., Ulitiko V.E., Vasiliev D.A..

Key words: *isolation, identification, scar, colon, Escherichia coli.*

The work is devoted to the study of the selection of nutrient media for the isolation, quantification of bacteria of the species Escherichia coli from the contents of the rumen and colon of the calves of the milk period. Based on the results of the work performed, it is established that the most suitable media are the Endo medium and the McConkey environment.