

УДК 579.2

ПОДБОР ОПТИМАЛЬНОЙ КОНЦЕНТРАЦИИ УГЛЕВОДОВ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛИСТЕРИЙ

*Родионова И.В., студентка 4 курса ФВМиБ,
e-mail: rodionovnaarina07@yandex.ru
Научный руководитель - Сульдина Е.В., ассистент
ФГБОУ ВО Ульяновская ГАУ*

Ключевые слова: *листерии, культивирование, глюкоза, питательная среда.*

Работа посвящена поиску оптимальной концентрации углевода для стимуляции роста листерий, которая способствовали бы максимальному накоплению микробных клеток в субстрате.

На физиологические свойства листерий, как и у большинства бактерий, оказывает влияние состав питательной среды. При недостатке источников углевода происходит истощение питательных энергетических свойств среды, что приводит к физиологическим и генетическим изменениям.

После изучения литературных источников в качестве углеводного компонента нами выбрана глюкоза, как наиболее полноценный источник энергии в питательных средах [1-11]. Известно, что глюкоза благоприятно влияет на растущие клетки листерий, что способствует усилению ростовых свойств среды.

Нами были приготовлены образцы питательного бульона, в котором концентрация глюкозы варьировала от 1% до 2,0%. Первый вариант среды: агар бактериальный – 4,0 гр.; ГРМ-бульон – 4,0 гр.; D-Глюкоза – 2,0 гр. Второй вариант среды: агар бактериальный – 4,0 гр.; ГРМ-бульон – 4,0 гр.; D-Глюкоза – 3,0 гр. Третий вариант среды: агар бактериальный – 4,0 гр.; ГРМ-бульон – 4,0 гр.; D-Глюкоза – 4,0 гр.

Образцы подвергались стерилизации в течении 20 минут при 0,5 атм. Далее, произведены посеы «газоном» 1 мл. 24-х часовой культуры *Listeria monocytogenes* 56 на чашки Петри, чашки инкубировались при 37°C 18-24 часа. Рост присутствовал во всех трех чашках, наиболее обильный рост наблюдался в чашке в которой был питательный бульон с концентрацией 2,0 % глюкозы. После произвели смывы бактериальной массы с чашек Петри, делали последовательные десятикратные разведения. Затем из каждого разведения вливали по 20 мкл содержимого в 3-х повторах на МПА, далее инкубировали при 37°C, продолжительностью 18-24 часа. Полученные результаты в таблице 1.

Таблица 1 - Результаты концентрации углеводов для культивирования листерий

Содержимое глюкозы в образцах (%)	-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10
№1- 1	н	н	н	н	н	н	7,6	2	11,6	-
№2- 1,5	н	н	н	н	н	н	1026	72	-	-
№3- 2	н	н	н	н	н	н	н	н	н	78

«-» - отсутствие колоний

«н» - невозможно произвести подсчет колоний



Рисунок 1 - Listeria monocytogenes 56 на среде с добавлением 2 % глюкозы, 10^{-7} , 10^{-8} разведение

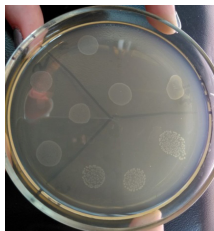


Рисунок 2 Listeria monocytogenes 56 на среде с добавлением 2 % глюкозы, 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} разведение



Рисунок 3- Listeria monocytogenes 56 на среде с добавлением 1 % глюкозы, 10^{-7} , 10^{-8} разведение

Подсчет количества колоний в разведениях осуществлялись с помощью среднего арифметического значения. Сумму количества колоний с 3-х капель (по 20 мкл) делили на количество капель.

Таким образом, в среде с добавлением 1 г/л глюкозы у нас получилось $5,8 \times 10^{11}$ клеток в 1 мл.; в среде с добавлением 1,5 г/л глюкозы получилось $3,6 \times 10^{11}$ клеток в 1 мл.; в среде с добавлением 2 г/л глюкозы получилось $3,9 \times 10^{13}$ клеток в 1 мл.

Как видно из таблицы 1 и подсчета среднего арифметического значения наиболее интенсивный рост наблюдался в образце №3, в котором концентрация глюкозы составляла 2%.

Библиографический список

1. Сульдина Е.В. Основные биологические свойства листериозных бактерио-

- фагов / Е.В. Сульдина, Е.Н. Ковалева, Д.А. Васильев // Материалы VI Международной научно-практической конференции Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения. Ульяновск. - 2015. - С. 125-127.
2. Сульдина Е.В. Выделение листериозных бактериофагов и изучение их основных биологических свойств / Е.В. Сульдина, Е.Н. Ковалева, Б.И. Шморгун, Д.А. Васильев // Аграрный научный журнал. Саратов. - 2015. № 3. С. 37-41.
 3. Сульдина Е.В. Фаготипирование листерий / Е.В.Сульдина, Е.Н. Ковалева, Д.А. Васильев // Современные проблемы физиологии, экологии и биотехнологии микроорганизмов Всероссийский симпозиум с международным участием. Москва - 2014. с. 223.
 4. Ковалева Е.Н. Вопросы биоконтроля пищевого листериоза / Е.Н. Ковалева, Д.А. Васильев, Е.В. Сульдина, И.Г. Швиденко, Б.И. Шморгун // Материалы VII Ежегодного Всероссийского Конгресса по инфекционным болезням с международным участием. Москва. - 2015. с. 157.
 5. Сульдина Е.В. Количественное определение патогенных листерий в пищевом сырье и продуктах питания / Е.В. Сульдина, Д.А.Васильев // Материалы Международной научно-практической конференции «Инновации в пищевой технологии, биотехнологии и химии». Саратов. – 2017. - С. 202-204.
 6. Сульдина Е.В. Разработка параметров количественного определения патогенных листерий в пищевом сырье и продуктах питания методом Real-Time PCR / Е.В. Сульдина, Д.А.Васильев // Материалы IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА 2017. Москва. - 2017. - С. 412-413.
 7. Сульдина Е.В. Оптимизация эффективности мультиплексной ПЦР-тест-системы для детекции *L. monocytogenes* и *L. ivanovii* / Е.В. Сульдина, Д.А.Васильев // Материалы IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием МОЛЕКУЛЯРНАЯ ДИАГНОСТИКА 2017. Москва. - 2017. - С. 425-426.
 8. Гранкина А.С. Идентификация штаммов листерий коллекции 1960-1970 гг. методом ПЦР/ А.С. Гранкина, Е.В. Сульдина // Материалы Международной научной конференции Молодежь и наука XXI века. – Ульяновск. - 2017. - С. 66-71.
 9. Сульдина Е.В. Выделение бактерий и бактериофагов *Yersinia enterocolitica* / Е.В. Сульдина, Д.А.Васильев, С.Н. Золотухин // Вестник Ульяновской государственной сельскохозяйственной академии. - 2017. - № 3 (39). - С. 50-55.
 10. Сульдина Е.В. Создание тест-системы на основе бактериофагов для детекции возбудителя пищевого листериоза и мониторинга листериозной инфекции // Молодежный инновационный форум Сборник аннотаций проектов. Ульяновск. - 2016. - С. 353-355.
 11. Сульдина Е.В. Листериозные бактериофаги – как средство индикации и идентификации *L. monocytogenes*. /Сульдина Е.В., Васильев Д.А., Золотухин С.Н. и др. // Материалы Третьей научно-практической конференции с международным участием Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности. - 2016. с. 85.