

УДК 579.2

ПОДБОР ПИТАТЕЛЬНОЙ ОСНОВЫ 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, питательная основа, питательная среда.*

Работа посвящена поиску оптимальной питательной основы для конструирования питательной среды накопления, с максимальным выходом клеток при культивировании листерий.

Изучение питательных основ проводилось с целью подбора оптимальной основы сред для культивирования листерий.

При конструировании питательной среды для листерий следует учитывать все факторы, которые, так или иначе, оказывают влияние на рост и размножение микроорганизмов[1-11]. Разнообразие в питательных потребностях и физико-химических условиях роста у различных видов микроорганизмов исключает возможность создания универсальной питательной среды.

Поэтому в каждом конкретном случае необходим выбор оптимального состава питательной среды, удовлетворяющей физиологическим потребностям изучаемого микроорганизма. Важную роль при этом играет подбор наиболее полного набора необходимых питательных веществ.

Коммерческие питательные среды, изготовленные на основе белковых гидролизатов с добавлением ростостимулирующих факторов, должны обеспечивать оптимальные условия для удовлетворения физиологических потребностей микроорганизмов, что позволяет сохранять в процессе культивирования стабильность и морфологических, культуральных и биохимических свойств.

В серию опытов был включен сухой питательный бульон (БТН) на основе гидролизата ферментивного и пептона, сухой питательный бульон (ГРМ) на основе гидролизата рыбной муки, цистин-триптонный агар (ЦТА) на основе гидролизата казеина.

Нами были приготовлены образцы сред. Первый вариант среды: агар бактериологический – 3гр.; БТН-бульон – 4,35 гр. Второй вариант

Таблица 1 - Результаты подбора питательной основы для культивирования листерий

Наименование основ	-1	-2	-3	-4	-5	-6	-7	-8	-9	-10
№1- БТН	н	н	н	н	н	н	26	19	-	-
№2- ГРМ	н	н	н	н	н	н	н	171	-	-
№3- ЦТА	н	н	н	н	н	н	46	-	-	-

«-» - отсутствие колоний

«н» - невозможно произвести подсчет колоний

среды: агар бактериологический - 3 гр.; ГРМ-бульон – 3 гр. Третий вариант среды: агар бактериологический – 3гр.; Цистин-триптонный агар – 4,3 гр.

Произведены посевы «газоном» 1 мл. 24-х часовой культуры *Listeria monocytogenes* 56 на чашки Петри, с разными средами чашки инкубировались при 37°C 18-24 часа. Обильный рост присутствовал во всех трех чашках, затем производим смывы бактериальной массы с чашек Петри, производим 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. Результаты в таблице 1.



Рисунок 1 - *Listeria monocytogenes* 56 на среде (ГРМ) 10^{-7} , 10^{-8} разведение



Рисунок 2 - *Listeria monocytogenes* 56 на среде (БТН) 10^{-7} , 10^{-8} разведение



Рисунок 3 - *Listeria monocytogenes* 56 на среде(ЦТА) 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) делим на количество капель.

Таким образом, в среде с добавлением сухого питательного бульона (БТН) на основе гидролизата фермативного и пептона, у нас получилось $9,5 \times 10^{10}$ клеток в 1 мл.; в среде с добавлением сухого питательного бульона (ГРМ) на основе гидролизата рыбной муки, получилось $8,5 \times 10^{11}$ клеток в 1 мл.; в среде с добавлением цистин-триптонный агар (ЦТА) на основе гидролизата казеина получилось $2,3 \times 10^{10}$ клеток в 1 мл.

Таким образом, нами изучены три коммерческих препарата - сухой питательный бульон (БТН), сухой питательный бульон (ГРМ) и цистин-триптонный агар в качестве альтернативных питательных основ при разработке сред для обогащения, накопления и идентификации листерий.

Как видно из таблицы 1 и подсчета среднего арифметического значения наиболее интенсивный рост наблюдался в образце №2, с сухим питательным бульоном (ГРМ) на основе гидролизата рыбной муки.

Библиографический список

1. Сульдина Е.В. Основные биологические свойства листериозных бактериофагов / 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.