

УДК 636.09:616.98:615.371:[57.063.8:579.852.1]
© 2012

*Мачуський О.В., аспірант **

Державний науково-контрольний інститут біотехнології і штамів мікроорганізмів, м. Київ

ПІДБІР ПОЖИВНИХ СЕРЕДОВИЩ ДЛЯ НАКОПИЧЕННЯ БІОМАСИ ШТАМУ *STERNE 34F2 BACILLUS ANTHRACIS*

Рецензент – кандидат ветеринарних наук Н. Г. Пінчук

*Показана необхідність розробки та впровадження у виробництво нових, більш ефективних специфічних засобів для профілактики сибірської виразки. Проведено підбір поживних середовищ для накопичення біомаси вакцинного безкапсульного штаму *Sterne 34F2 Bacillus anthracis*. Визначено межі фізико-хімічних показників для середовища накопичення. За результатами досліджень встановлено, що оптимальним є щільне поживне середовище, виготовлене на основі перевару Хоттінгера і містить 100–120 мг% амінного азоту й має рН 7,4±0,2.*

Ключові слова: поживні середовища, мікроорганізм, властивості, дослідження.

Постановка проблеми. Сибірська виразка – інфекційне захворювання тварин і людини, сумнозвісне вже кілька століть. Захворювання та властивості його збудника вивчаються. Проте до цього часу позбутися його допоки не вдалося: основна причина – тривале зберігання збудника у ґрунті місцевості, де спостерігалися спалахи інфекції [1].

До числа заходів стосовно профілактики сибірки у тварин основна роль відводиться щепленню вакцин, над удосконаленням яких працювало вже кілька поколінь науковців. Однак їх профілактична ефективність залишається недостатньою.

Аналіз основних досліджень і публікацій, у яких започатковано розв’язання проблеми. Згідно з даними Міжнародного Епізоотичного Бюро, проти сибірки найбільш широко застосовують живі вакцини із безкапсульних штамів збудника. В країнах СНД це штам *СТИ-1, 55-ВНИИВВиМ, СБ та К-79Z*.

У більшості країн світу для виготовлення вакцини проти сибірки застосовують штам *Sterne 34F2*, що пов’язано з його високою імуногенністю й низькою шкідливістю для макроорганізму [5].

Раніше дослідники (Л. С. Ценковський, М. В. Рєво, С. Г. Колесов, Б. Л. Черкаський, Б. А. Ніканоров, І. А. Бакулов, В. А. Гаврилов, Н. Г. Іпатенко та інші) пропонували середовища, оптима-

льні для тих штамів збудника сибірської виразки, які вони застосовували у процесі виготовлення вакцин.

Вакцинний штам *Sterne 34F2* ми отримали з Колорадської Компанії Сироваток, США (*Colorado Serum Company, USA*), вивчили його біологічні властивості [2] й провели процедуру депонування в Національному центрі штамів мікроорганізмів. Однак для виготовлення вакцини потрібне середовище, на якому б цей штам мав високу врожайність щодо виходу біомаси.

Мета роботи – підбір середовищ із оптимальним вмістом амінного азоту для накопичення бактеріальної маси збудника сибірки у процесі виготовлення вакцини.

Матеріали і методи. Об’єктом дослідження був вакцинний штам *Sterne 34F2 Bacillus anthracis* і рідкі поживні середовища, виготовлені на основі гідролізату риб’ячого борошна (ГРБ) та бульйону Хоттінгера; м’ясопептонний бульйон (МПБ) й щільні поживні середовища на основі ГРБ і перевару Хоттінгера та м’ясопептонний агар (МПА). Всі вони мали рН 7,4±0,02. У щільних середовищах вміст агару становив 1,5±0,2 %. Рідкі й щільні середовища одного виду брали переважно в трьох варіантах, які відрізнялися за кількістю амінного азоту (див. табл.).

Рівень амінного азоту в середовищах визначали методом формольного титрування [4], а рН – за допомогою рН-метра (рН – 150).

У рідкі та на щільні поживні середовища вносили рівну кількість посівного матеріалу з відомою концентрацією колонієутворюючих одиниць (КУО) [3].

Культури ставили в термостат із температурою 37±0,3 °С на 24 години і визначали кількість КУО в 1 мл за описаною методкою [4, 5]. Для цього готували ряд десятичних розведень культури від 10⁻¹ до 10⁻¹⁰. По 0,1 мл культури кожного розведення висівали на щільне середовище в чашці Петрі. Врожайність культури визначали за кількістю КУО в 1 мл суспензії зі змиву

* Керівник – доктор ветеринарних наук В. О. Ушкалов

Характеристика середовищ за вмістом амінного азоту та врожайністю штаму Sterne 34F2 Bac. anthracis, n=5

Рідкі середовища	Кількість ам. азоту, мг%	КУО/мл	Щільні ередовища	Кількість ам. азоту, мг%	КУО/мл
ГРБ-бульйон	90±4	10 ⁵	ГРБ-агар	90±4	10 ⁹
Бульйон Хоттінгера	100±5	10 ⁹	агар Хоттінгера	100±5	10 ¹²
Бульйон Хоттінгера	120±5	10 ⁹	агар Хоттінгера	120±5	10 ¹²
Бульйон Хоттінгера	200±5	10 ⁸	агар Хоттінгера	200±5	10 ¹¹
МПБ	90±4	10 ⁷	МПА	90±4	10 ¹⁰
МПБ	120±4	10 ⁷	МПА	120±4	10 ¹⁰
МПБ	150±4	10 ⁷	МПА	150±4	10 ¹⁰

з щільного поживного середовища 10 мл фосфатно-буферного розчину натрію хлориду із розрахунку на одну чашку Петрі. Цифровий матеріал обробили статистичним методом і привели його в lg у таблиці.

Результати досліджень. Результати досліджень наведені в таблиці. Із даних таблиці видно, що найбільшу врожайність штаму Sterne

34F2 отримано в бульйоні й на агарі Хоттінгера із вмістом амінного азоту в межах 100–120±5 мг%.

Висновок. Оптимальним для накопичення біомаси штаму Sterne 34F2 Bac. anthracis є агар Хоттінгера із вмістом амінного азоту в межах 100,0–120,0±5 мг%.

БІБЛІОГРАФІЯ

1. Бакулов И. А., Гаврилов В. А., Селивестров В. В. Сибирская язва (антракс). Новые страницы в изучении «старой» болезни // Владимир-Посад. – 2001. – 282 с.
 2. Мачуський О. В., Ушкалов В. О. Результати вивчення деяких біологічних властивостей штаму Bacillus anthracis Sterne 34F2 // Ветеринарна біотехнологія / ІВМ УААН, ДНКІБШМ. – 2009. – Бюл. №15 – С. 247–252.
 3. Методы общей бактериологии. – Т. 1 // Пер. с

англ.; под ред. Ф. Герхардта. – М.: Мир, 1983. – С. 458–475.
 4. Орлов Ф. М. Ветеринарная лабораторная практика. – М.: Изд. с-х. лит-ры, журналов и плакатов. – Т. 2. – 1963. – С. 48–76.
 5. World organization for animal health “Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees)”// OIE fifth edition. – Vol. 1, 2004.