

Из лаборатории кафедры бактериологии Казанского гос. института усовершенствования врачей имени В. И. Ленина (зав. кафедрой проф. Р. Р. Гельтцер).

О применении основной питательной среды из творога для выращивания микробов.

О. В. Гельтцер.

Основным условием пригодности питательной среды для выращивания микробов является присутствие в ней белковых веществ. Исследовательская мысль до настоящего времени шла в направлении замены животного белка растительным. Это мы видим на большом числе германских рецептов, так наз. *Ersatznährböden* (суррогатных сред). С целью найти наиболее полноценную замену животных белков в бактериологических питательных средах, подробно определялся состав многих питательных веществ. Наиболее близкими по своему составу к животным белкам оказались белки сои. Так как соя распространена не во всех районах Советского Союза, русским исследователям пришлось искать других источников сырья, более доступных, чем соя. Научно-медицинским институтом были предложены питательные среды из гороха. Но, повидимому, эти среды оказываются не всегда пригодными (Кальк), хотя бы в виду ограниченности числа получаемых генераций к-р некоторых патогенных бактерий (бац. дизентерии Шига), отсутствия образования пигмента (чудесная палочка).

В поисках замены мяса для приготовления питательных сред мы пошли по несколько иному пути. Не пытаясь исследовать для этой цели какие-либо новые растительные вещества, мы решили использовать другие источники животного белка. Исходя из положения, что молоко является прекрасной питательной средой для роста или сохранения патогенных микробов, проф. Р. Р. Гельтцер предложил использовать его для замены мяса в приготовлении питательных сред. Для этой цели мы остановились на одном из наиболее дешевых молочных продуктов—твороге.

Творог—это выпавший под действием кислоты или фермента казеин молока, перешедший в параказеин, т. е. почти вся белковая субстанция молока. То обстоятельство, что творог по количеству белка является совершенно равноценным мясу, видно из сравнения состава творога и мяса:

Состав в 100%: ¹⁾	Азот. в.	Жир	Углев.	Золы	Воды
Творог прессов. .	24,8%	7,3%	3,5%	4%	60,4%
Творог тощий. .	14,6%	0,6%	1,2%	0,2%	82,4%
Мясо	21,7%	2,5%	0,5% соли	1,1%	74,3%

¹⁾ Взято из монографии под ред. Леонтовича—„Нормальный состав и пищевое значение продовольственных продуктов“. Москва, 1905 г.

С целью наиболее полного использования белковой части творога для питания бактерий мы приготовили из него бульон по типу Готтингера: 1 кг продажного рыночного творога опускался в 1,5 л кипящей воды и кипятился в течение 10 мин., затем творог пропускался через мясорубку, а жидкость охлаждалась до 50°. Измельченный творог и жидкость смешивались в большой бутылки и добавлением углекислой соды (или NaOH) реакция доводилась до ясно щелочной по лакмусу. Затем в бутылку прибавлялось 70 г поджелудочной железы (или 15 г панкреатина) и 20 куб. см хлороформа. Переваривание велось при температуре 40—45°C в течение 3—5 дней.

Измельченный творог превращается в порошкообразный осадок, а жидкость над ним приобретает желтый цвет. Конец переваривания определяется по положительной реакции на триптофан. По установлении положительной реакции на триптофан, все содержимое бутылки выливается в кастрюлю, прибавляется 2 л водопроводной воды и кипятится до полного удаления хлороформа; фильтрация. В случае выкипания—доливание водой до объема 3,5 л; разливка по флаконам, стерилизация при 120°—20 мин. Это основной раствор. Для приготовления бульона основной раствор разводился в 5 раз и прибавлялось 0,5% NaCl. Устанавливается требуемая реакция среды. Приготовленный т. о. бульон по виду ничем не отличается от обычного готтингерского бульона (светложелтый, совершенно прозрачный).

С целью выяснения возможности заготовки творога, как материала для питательных сред, впрок или для работы в походных условиях, мы приготовили бульон из сухого творога: 250 г высушенного в термостате творога заливались 2,5 л водопроводной воды и оставлялись на холоду на ночь, затем кипячение в течение 10 мин., пропускание через мясорубку и далее все так же, как со свежим творогом в предыдущем рецепте.

На бульоне из творога были приготовлены: агар, агар с 1% глюкозы, бульон в пробирках, бульон с 1% глюкозы, среды Гисса, среда Эндо, кровяной агар, асцитический агар и бульон с кусочками печени.

На этих средах были испытаны следующие культуры: бац. брюшн. тифа, паратифа А, В (Шоттмюллера), паратифа В (Бреслау), кишечная палочка, бац. Гертнера, бац. дизентерии Шига и Флекснер, холерного вибриона, протей, *b. prodigiosus*, сарцины, стафилококка золотистого, *b. perfringens*, *oedematiens*, *histolyticus*, *v. septique*, *b. tetani*, *botulini*, стрептококка гемолитического, бац. сибирской язвы, дифтерии, гонококка и бледной спирохеты.

В отношении аэробных микробов перечисленных видов установлено: рост на косом агаре обычный, подвижность тоже, окраска по Граму—соответствующая. На индолообразование были испытаны на творожном бульоне протей и холерный вибрион. В бульонной 24-час. культуре протей реакция на индол положительна. В суточной культуре холерного вибриона реакция *cholera-rot* положительна. На среде Эндо, приготовленной на

нашем агаре, бациллы брюшного тифа, Гертнера и кишечная палочка дали типичный рост.

На средах Гисса, приготовленных на бульоне из творога, культуры кишечной палочки, протей, бац. брюшн. тифа, паратифа А и В через 24 часа дали соответствующие отношения к сахарам. На бульоне—обычный рост.

Агглютинабельность оказалась совершенно одинаковой с культурами на обычном Готтингеровском агаре. Реакция агглютинации была поставлена на этом агаре с к-рой бац. паратифа В в 5 генерации и с к-рой бац. бр. тифа и бац. Гертнера в 10 генерации.

Культуры всех перечисленных выше микробов получают на средах из творога в непрерывном ряде генераций. Из группы пигментных бактерий на новой среде выращивались нами *b. prodigiosus*, золотистый стафилококк, сарцина и дали обычное образование пигмента. Гемолитический стрептококк на творожном бульоне с глюкозой дает типичный рост; при пересеве на такой же агар с кровью—гемолиз. Бацилл дифтерии на бульоне из творога образует характерную пленку, на косом агаре хорошо растет. Даже такой требовательный к составу среды микроб, как гонококк, прекрасно растет на нашем агаре с асцитич. жидкостью. Бацилл сибирской язвы на агаре дает типичный рост. Лабораторные штаммы анаэробов *b. perfringens*, *histolyticus*, *tetanus*, *botulinus* и *v. septique* дали обычный рост в первые сутки, *b. oedematiens*—на 1—2 сутки, в зависимости от количества посевного материала.

Согласно опытам проф. Р. Р. Гельтцер с выращиванием бледной спирохеты на творожном бульоне с кусочками печени при разведении основного бульона в 3 и 5 раз, все штаммы (I и II Казань и штамм Reiter'a) дали пышный рост.

На токсинообразование была проверена только 7-дневная культура *b. botulinus*, которая дала положительный результат. Микробы на средах из творога так же жизнеспособны, как на средах из Готтингеровского бульона.

В отношении возможности роста микробов кишечнo-тифозной группы на более чем в 5 раз разведенном бульоне из творога был сделан посев, при разведении основного раствора в 7—10 раз. Получился обычный рост. Нужно сказать, что до сих пор в бактериологической практике употребляется в качестве специальных питательных сред молоко и молочная сыворотка.

В 1925 г. Кристенсеном, Лестером и Юргенсом был предложен бульон из казеина, приготовленный по следующему рецепту: 3 кг казеина (датский препарат с содержанием азота 12,38%) смешиваются с 30 лит. воды. Добавлением нормального раствора NaOH реакция доводится до pH 8,5—9,0. Переваривается панкреатином; затем на каждый 1 кг казеина прибавляется 200 куб. см. концентрированной соляной кислоты, кипятится 5 мин., фильтруется, добавлением NaOH pH доводится до 7,0. Этот основной раствор смешивается с 2-мя частями воды и получается, так наз., индольный бульон, который рекомендуется для испытания на индолообразование. На бульоне из казеина авторы приготовили также агар Конради-Дригальского (1 часть основного раствора+5 ч. воды для получения 2,5% агара).

В 1931 г. продукты переваривания творога были предложены Г. Котовым для замены нутрозы в среде Конради-Дригальского. Среда приготавливалась следующим образом: 1 ч. обычного продажного творога распускается в 3 ч. подогретой водопроводной воды. Остужается до 45°, помещается в бутыл, прибавляется сода до щелочной реакции, панкреатин из расчета 3—5 г на литр и хлороформ 15—20 г на литр. Переваривание в термостате при 37°—4—7 дней, при комнатной температуре—7—9 дней. Окончание переваривания узнается по просветлению и пожелтению жидкости. Жидкость фильтруется через бумажный фильтр, стерилизуется в автоклаве при 120°—20 мин. и прибавляется к среде Конради-Дригальского в количестве 15 куб см на 100 куб. см среды вместо нутрозы.

Дальнейшей нашей задачей является испытание сред на творожном бульоне для изучения антигенных и иммуногенных свойств микробов, применяемых для приготовления вакцин; затем испытание сред при посеве материала непосредственно от больного человека и изучение токсинообразования. Эти опыты будут предметом следующего нашего сообщения.

Выводы: 1) Творог в бактериологической практике для приготовления питательных сред, повидимому, может с успехом заменить мясо.

2) Бульон, приготовленный из творога, при разведении основного раствора в 5 раз, приблизительно в 9—10 раз дешевле Готтингеровского. Это обстоятельство, в случае пригодности творожного бульона для производства вакцин, даст большую экономию средств.

3) Творог, как сырье для приготовления питательных сред, является легко доступным во всяких условиях работы (экспедиционных, военных и т. п.), благодаря своему широкому распространению и возможности заготовления его впрок в любых количествах и на долгое время путем высушивания—самого легкого и дешевого способа консервирования.

Литература: 1. Кальк, ЖМЭИ, т. XVII, в. 3, 1936.—2. Котов, Лаборат. практ., № 4, 1931.—3. Kristensen, Lester u. Jurgens, цитировано по E. Gilde-meistes'y Handb. pathog. Mikroorg. v. Kolle, Kraus u. Uhlenhuth, 1929, Bd. IX.
