

В результате исследования установлена распространенность заболевания и предрасполагающие факторы в этиологии мастита у коров. Результаты исследования показали, что заболеваемость коров маститом повысилась при низкой температуре воздуха и большом количестве осадков. Ухудшение погодных условий отрицательно повлияло на дойных коров, что привело к увеличению числа заболевших всеми формами мастита коров.

Распространения и профилактики болезней вымени, причиняемый ими ущерб с каждым годом возрастает. Поэтому распространенности маститов, причин их проявления, диагностика имеют большое практическое значение.

ӘОЖ 616.98:579.8

**Абилдаева Р.А.**, биология ғылымдарының кандидаты, доцент

**Исаев О.М.**, магистрант

М.О.Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан Мемлекеттік Университеті, Шымкент қ., Қазақстан Республикасы

### ***LISTERIA MONOCYTOGENES* БАКТЕРИЯСЫН КУЛЬТИВИРЛЕУГЕ АРНАЛҒАН ҚОРЕКТІК ОРТА ҚҰРАМЫН ЖЕТІЛДІРУ**

#### **Аннотация**

Мақалада ауыл шаруашылығы жануарларының листериоз ауруына қарсы құрғақ вакцина алуға негізгі зерттеу нысаны болып табылатын *Listeria Monocytogenes* бактериясын культивирлеуге арналған қоректік орта құрамын жетілдіру технологиясы қарастырылған. Технологияны жетілдіріп қана қоймай экономикалық тиімділігін арттыру мәселесінде қолға алынған. Біздің зерттеу жұмысымызға дейінгі зерттеу жұмыстарын қарастыра отырып жіберілген кемшіліктердің орны толықтырылды. Микроорганизмдерді өсіруде маңызды фактор ретінде қоректік орта құрамы қарастырылады. Бұл орайда айтып өтетін жайт, қоректік ортаға қосылатын қоректік қоспалар, минералды элементтер және қоректік орта температурасы, рН-деңгейі және еріген оттегінің әсері зерттелді.

Қоректік ортаға 15,0% - дық еріген оттегімен әсер еткенде ең жақсы нәтиже тіркелді. Осы қоректік ортада микроорганизмнің өсу жылдамдығы ерекше байқалды.

Бактерияны культивирлеуге ерітілген оттектің әсерін зерттеу борысында мынадай құбылыстар орнады. Жалпы культивирлеу уақыты 18 сағаттық режимде өткізілді. Осы уақытта мынадай құбылыстар тіркелді. Солардың бастысы тірі жасушалар 2 сағаттай қоректік ортаға бейімделіп, қалған уақыттарда қарқынды өсуі байқалды. Органың рН деңгейі бастапқыда 7,6 болса, 30 минуттан соң біртіндеп 7,5-ке төмендеді. Қоректік ортаның оптикалық тығыздығы оттектің әсерімен 2 сағаттан бастап күрт көтеріліп, 8 сағатта 0,6 d-ға жетті жұмыс соңына қарай тағы да деңгейі біршама өскені байқалады.

**Түйін сөздер:** *листерия, бактерия, культивирлеу, көмірсу, азот.*

**Зерттеудің өзектілігі.** Микроорганизмдерді зерттеуде маңызды мәселелердің бірі қоректік орта сапасын жақсарту және микроорганизмдерге қолайлы жағдай жасау. Листерияны культивирлеуге арналған дәстүрлі қоректік орта құрамы жағынан стандартты емес, қымбат және микроорганизмдер өсуіне қолайсыз.

Өсіп келе жатқан листерия үшін қоректік ортаның құрамын жақсарту микроорганизмнің сапасын жақсартады.

Бактериялық вакциналарды әзірлеу технологиясы алға бірнеше мақсат қояды, оның негізгі бағыттарының бірі соңғы өнімнің шығымдылығын арттыруға және тиімді ветеринариялық препараттарды алуға мүмкіндік беретін микроорганизмдерді өсірудің заманауи процестерін дамыту арқылы орындалады.

Патогендік емес микроорганизмдерді өсіруге арналған іргелі еңбектерде жалпы мәселелерге және микробиологиялық синтезге, өндірушілердің өсуіне және дамуына әсер ететін заңдылықтар мен факторларға, сондай-ақ заманауи технологияларды қолдана отырып

микроорганизмдерді өсіруді оңтайландырудың ғылыми негіздерін жасауға арналған зерттеу материалдары және аппараттық жобалау процестері бар [1].

Жеке патогенді микроорганизмдерді өсіру мәселесінің жалпы теориялық және қолданбалы аспектілерін бірқатар медициналық зерттеушілер терең қарастырған [2].

Бүгінгі таңда листерияны бақылаусыз күлтивирлеу процесі 16-дан 18 сағатқа дейін созылады және биомасса жинақтауы төмен. Күлтивирлеудің бақыланатын әдісін пайдалану микроорганизмнің өсу уақытын қысқартып, соңғы өнімнің мөлшерін арттырады.

Тұтқыр консистенцияның түзілуі ескі культураның өсуіне байланысты болады. Пробирканың түбіне жабысады. Жылдам көбеюі салдарынан тұнба жоғары көтеріледі.

Микроорганизмдердің өсуін анықтайтын негізгі факторлардың бірі -қоректік орта және оның құрамы. Микроорганизмдерді өсіру үшін қоректік ортаның құрамын таңдағанда бірнеше факторларды ескеру қажет. Олардың бірі бактериялардың өсу стереометриясымен және өсіру кезінде алынуы керек биомассаның мөлшерімен байланысты. Берілген биомасса мөлшерін синтездеу үшін, белгілі бір арақатынаста алынған қоректік заттардың жеткілікті мөлшерін енгізу керек.

Салыстырмалы түрде көп мөлшерде микроорганизмдерге көміртегі, оттегі, азот, сутегі, фосфор, күкірт, калий, кальций, темір, магний қажет. Бактериялық массадағы қатты заттардың мөлшері 2-ден 14% -ға дейін. Сондай-ақ микроэлементтер қажет: мыс, мырыш, кобальт, никель, хлор, натрий, кремний, молибден, марганец және т.б. Өсім факторлары культура белгілі бір органикалық қосылыстарды өз бетінше синтездей алмайтын жағдайда ғана қажет.

Көміртек көздері. Қоректік заттар ретінде қолданылатын элементтердің ішіндегі ең маңыздыларының бірі көміртек болып табылады, оның құрамы құрғақ салмағы бойынша шамамен 50% құрайды. Кез-келген көміртегі қосылыстарын микроорганизмдер пайдаланып, жасуша арқылы төмен молекулалық затқа синтезделеді. Көміртегі көздері ретінде: органикалық қосылыстар, түрлі қанттар, спирттер, органикалық қышқылдар, көмірсулар, липидтер және т.б.

Азот көздері. Азот микроорганизмдер жасушаларына бірқатар өмірлік маңызды заттарды, ең алдымен аминқышқылдар мен белоктарды құруы үшін қажет. Азот микроорганизм жасушасында негізгі құраушы элемент ретінде қарастырылады. Микроорганизмдер азот көзі ретінде органикалық қосылыстарды қолдана алады: амин қышқылдары, пептидтер және белоктар. Пептондармен қатар ақуыздың қышқыл гидролизі нәтижесінде алынған субстраттар (көбінесе казеин), оның құрамына бос аминқышқылдары кіреді. Казеин гидролизаты құрамында амин қышқылдарының толық жиынтығы бар (қышқыл гидролизі кезінде жойылатын триптофанды қоспағанда) және азоттың әмбебап көзі болып табылады. Казеин гидролизаты ортаға триптофанмен бірге енгізілген кезде микроорганизмдер «амин гетеротрофты» деп аталатын тамақтану түріне ауысады, олар дайын амин қышқылдарын тұтынады. Ортаның қышқылдануы немесе сілтіленуі болмайды. Ақуыз синтезіне қажетті аминқышқылдарының біреуінде гидролизат жетіспеген кезде жағдай басқаша [3, 4].

Су. Микроорганизмдердің дамуы үшін су қоректік заттармен сәйкес мөлшерде пайдаланылатыны анықталды. Белгілі болғандай, көптеген органикалық өнімдерді микроорганизмдер ыдырамай ұзақ уақыт құрғақ күйде сақтауға болады [5].

Микроорганизмнің қоректік ортада бірқалыпты өсуіне ықпал ететін факторлар: рН, рО<sub>2</sub>, еН деп есептеледі. Ендеше осы факторлардың ішінде маңыздыларының бірі қоректік ортада микроорганизмнің өсуіне оң әсер беретін ерітілген оттегі жайында айтсақ. Жалпы оттегі бүкіл тіршілік атаулыға өмір сүруі үшін қажет болып саналады. Оттегісіз өмір сүру мүмкін емес. Бірақ микроорганизмдерді микробиологияғылымы екіге бөліп қарастырады: аэробты және анаэробты микроорганизмдер. Зерттеу жұмысымыздағы зерттеліп отқан нысанымыз, яғни *Listeria Monocytogenes* бактериясы аэробты микроорганизм. Сондықтанда осы бактерияны өсіруде қоректік орта құрамына оттегінің әсерін зерттеуге бел будық.

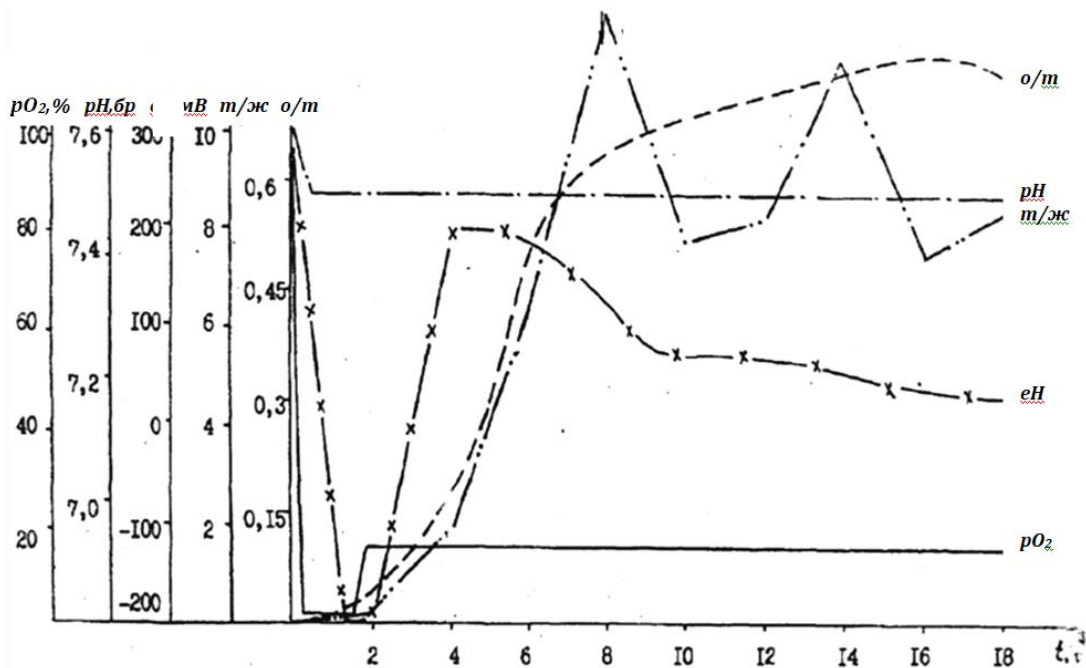
**Зерттеу нәтижелері.** Ең алдымен микроорганизмді өсіруге ең қолайлы қоректік ортаны таңдап алдық. Бұл қоректік орта Хоттингер қоректік ортасы болды.

Сосын зерттеу жұмысын жүргізіп төмендегіде нәтижеге қол жеткіздік

1 кесте – Листерияның максималды нақты өсу қарқынының  $pO_2$ -ге тәуелділігі

$pO_2, \%$	5,0	10,0	15,0	20,0	25,0	30,0	35,0
$\mu_{max}, \text{час}^{-1}$	0,63	0,80	0,90	0,85	0,80	0,74	0,70

Қоректік ортаға 5,0% бен 35,0% аралығындағы ерітілген оттегімен культивирлеу жұмыстары жүргізілді. Қоректік ортаға 15% - дық еріген оттегімен әсер еткенде ең жақсы нәтиже тіркелді. Осы қоректік ортада микроорганизмнің өсу жылдамдығы өзгелеріне қарағанда едәуір жоғары болды (1 сурет).



- pH – сутегі ионының концентрациясы
- eH – тотығу мүмкіндігі
- $pO_2$  – ерітілген оттегінің парциалды қысымы
- т/ж – тірі жасушалардың шоғырлануы
- о/т – дақылдардың оптикалық тығыздығы
- t – культивилеу уақыты

2 сурет - Эксперименттік режимде листерияны өсірудің негізгі параметрлерінің динамикасы

Бактерияны культивирлеуге еріген оттектің әсерін зерттеу борысында мынадай құбылыстар орналды. Жалпы культивирлеу уақыты 18 сағаттық режимде өткізілді. Бұл орайда айтып кететін жайттар жеткілікті. Солардың бастысы тірі жасушалар 2 сағаттай қоректік ортаға бейімделіп, қалған уақыттарда қарқынды өсумен болды. Ортаның pH деңгейі бастапқыда 7,6 болса 30 минуттан соң біртіндеп 7,5-ке құлдылады. Қоректік ортаның оптикалық тығыздығы оттектің әсерімен 2 сағаттан бастап күрт көтерілді және 8 сағатта 0,6 d-ға жетті жұмыс соңына қарай тағыда деңгейі біршама өсті. Жалпы барлық зерттеу жұмыстары автоматтандырылған күйде ферменттерде жүргізілді.

**Қорытынды.** Ауыл шаруашылығы жануарларының листериоз ауруына қарсы құрғақ вакцина алу технологиясын жетілдіру мақсатында ауру қоздырғышы *Listeria Monocytogenes* бактериясын культивирлеуге арналған қоректік орта сапасын жақсарту және микроорганизмдерді өсіруге қолайлы жағдай тұғызу шараларын зерттеуде мақаланың алар орны ерекше. Жұмыс барысында бактериялардың өсуіне еріген оттегінің әсері зерттеліп, бір шама жақсы нәтижелерге қол жеткізілді.

### ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

1. Адлер Ю.П., Маркова Е.В., Грановский Ю.В. Онтайлы жағдайларды іздеуде эксперимент жоспарлау. - М.: Ғылым, 1976. - 279 б.
2. Баснакян И.А., Дубинина Г.П. Мерзімді және үздіксіз өсіру кезіндегі микроорганизмдер тіршілігінің физика-биохимиялық заңдылықтарымен салыстырғанда морфологиялық ерекшеліктері // Микробиология. -1974. - №7. – Б. 3-8.
3. Кантере В.М. Микробиологиялық өндіріс технологиясының теориялық негіздері. - М.: Агропромиздат, 1991. - 272 б.
4. Самуиленко А.Я., Рубан Е.А. Биологиялық өнімдер өндірісінің биотехнология негіздері. - М., 2000. – 782 с.
5. Kuntz J.D., Brassfield T.S., Law G.D., Purcell G.V. Moistening of macromolecules // Science. - 1969. - V. 163. - № 3873 - P. 1328 – 1331.

### РЕЗЮМЕ

В статье рассматривается технология улучшения питательной среды для культивирования бактериального *Listeria Monocytogenes*, что является основным предметом исследования для получения сухой вакцины против болезни листероза сельскохозяйственных животных, а также проблемы повышения экономической эффективности технологии. Учитывая результаты пробы до нашего исследования, недостатки были дополнены. Питательная среда считается важным фактором при культивировании микроорганизмов. Следует отметить, что было исследовано влияние питательной среды, минеральных элементов, температуры окружающей среды, уровня рН и растворенного кислорода .

Наилучшие результаты были зафиксированы, когда на питательную среду влияло 15,0% растворенного кислорода. В этой питательной среде скорость роста микроорганизмов была особенно заметна .

При определении влияния кислорода на растворение бактериальных культур, были установлены следующие явления. Общее время культивирования было проведено за 18 часов . За это время были зарегистрированы следующие явления . Главны из них, живые клетки были адаптированы к питательной среде в течение 2 часов, а в другие периоды происходило интенсивное развитие. Уровень рН среды изначально составлял 7,6, через 30 минут постепенно снижался до 7,5. Оптическая плотность питательной среды после 2 часов резко возрастает и в течение 8 часов под действием кислорода достигает 0,6 д с некоторым повышением уровня к концу работы.

### RESUME

The article discusses the technology of improving the nutrient medium for the cultivation of the bacterial *Listeria Monocytogenes*, which is the main subject of research for obtaining a dry vaccine against listeriosis disease of farm animals, as well as the problems of increasing the economic efficiency of the technology. Given the results of the sample prior to our study, the flaws were supplemented. Culture medium is considered an important factor in the cultivation of microorganisms. It should be noted that the influence of the nutrient medium, mineral elements, ambient temperature, pH and dissolved oxygen was studied.

The best results were recorded when the nutrient medium was affected by 15.0% dissolved oxygen. In this nutrient medium, the growth rate of microorganisms was especially noticeable.

In determining the effect of oxygen on the dissolution of bacterial cultures, the following phenomena were established. The total cultivation time was spent in 18 hours. During this time, the following phenomena were recorded. Most important of them, living cells were adapted to the nutrient medium within 2 hours, and in other periods there was an intensive development. The pH level of the medium was initially 7.6, after 30 minutes it gradually decreased to 7.5. The optical density of the nutrient medium after 2 hours increases sharply and within 8 hours under the influence of oxygen reaches 0.6 d with a slight increase in the level at the end of the work.