

Как видно из результатов исследований, разработанная тест-система позволяет обнаружить РНК вирусов гриппа А и болезни Ньюкасла в одной реакции и не реагирует с гетерологичными вирусами, что свидетельствует о ее специфичности.

#### Литература

- 1 Саятов М.Х., Жуматов К.Х. Вирусы гриппа птиц и грипп А(Н5N1) у человека // Изв. МОН РК, НАН РК. Сер. биол. и мед. - 2005. - №2. - С. 3-9.
- 2 Calnek B.W., Barnes H.J., Beard C.W., McDougald L.R. and Saif Y.M. Diseases of poultry // Iowa State University Press. – 1997. - P. 541-570.
- 3 World Organisation For Animal Health (OIE) (2008). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. [http://www.oie.int/eng/normes/en\\_mmanual.htm](http://www.oie.int/eng/normes/en_mmanual.htm).
- 4 Payungporn S., Phakdeewirot P., Chutinimitkul S. et al. Single-Step Multiplex Reverse Transcription–Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) for Influenza A Virus Subtype H5N1 Detection// Viral Immunology. - 2004. - Vol. 17. – P. 588-593.
- 5 WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance. WHO/20-02.5. - 2003. – P. 3

#### Түйін

Ерекше қазақстандық штамдар негізінде өңделген ПЦР тест-жүйе ветеринарлық вирусология және эпизоотология тәжірибесінде жабайы және үй құстарының А тұмауы мен Ньюкасл ауруына дифференциалды диагностикада қолдануға болады.

#### Summary

Developed based on the original Kazakh strains of PCR test-system can be used in practice for Veterinary Virology and epizootiology for differential diagnosis of outbreaks of influenza A and Newcastle disease in populations of wild and domestic birds.

УДК 579.64

Касымбекова С.С.

### ПОДБОР ОПТИМАЛЬНЫХ ЗАЩИТНЫХ СРЕД ДЛЯ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ КУЛЬТУР МИКРООРГАНИЗМОВ В КРИОКОНСЕРВИРОВАННОМ ВИДЕ

*Казахский национальный университет им. аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан  
somkas@inbox.ru*

Микроорганизмы являются одним из наиболее существенных компонентов биосферы. Создание и поддержание коллекции микроорганизмов играет чрезвычайно важную роль в исследовании микробного разнообразия, а также в сохранении в генетически стабильном виде продуцентов используемых в биотехнологических производствах, медицине и экологической биотехнологии [1].

Существует много методов длительного хранения бактерий, однако, не все штаммы при использовании какого-либо из них ведут себя одинаково. Выбор метода часто определяется наличием оборудования, места для хранения и квалифицированных сотрудников [2].

В основе всех методов консервации, предлагаемых на сегодняшний день, лежит перевод клеток в состояние анабиоза, что ведет к снижению или прекращению всех метаболических процессов. Распространенными и основополагающими методами длительного хранения микроорганизмов являются лиофильное высушивание и криоконсервация. Эти методы консервирования позволяют длительное время сохранять жизнеспособность и функциональную активность микроорганизмов. Однако есть и недостатки у этих методов, например, титр жизнеспособных клеток микроорганизмов в результате лиофилизации часто оказывается низким. Кроме того, многие неспорообразующие микроорганизмы не переносят обычно используемые режимы лиофилизации и не могут храниться этим методом. Так же известно, что у лиофилизированных культур гораздо чаще, чем у замороженных, наблюдаются генетические и морфологические изменения, повреждения ферментных систем, ДНК, нарушения проницаемости клеточных мембран. Поэтому многие авторы считают, что замораживание по сравнению с лиофильным высушиванием является более надежным методом хранения микробных культур [3, 4].

При использовании низких температур для целей консервации возникает необходимость защиты клеток от их губительного действия. В связи с этим подбор наиболее эффективного криопротектора является очень важным аспектом в хранении культур микроорганизмов в замороженном виде. Оптимальные концентрации криопротекторов должны экспериментально подбираться для различных типов клеток с целью получения наибольшего титра жизнеспособных клеток микроорганизмов при криоконсервации [5].

Цель данного исследования - подбор состава защитных сред для хранения микроорганизмов при низких температурных режимах.

Исследования выполнялись на базе лаборатории микробиологии РГП «Научный центр противоинфекционных препаратов».

В основу защитных питательных сред брали питательный бульон M002 (HiMedia), а в качестве криопротекторов - глицерин, поливинилпирролидон, сыворотку лошадиную и сахарозу. По комбинации компонентов получались 4 защитные среды следующего состава:

Среда-1 (80% питательного бульона и 20% глицерина);

Среда-2 (70% питательного бульона, 15% поливинилпирролидона и 15% сахарозы);

Среда-3 (70% питательного бульона, 15% глицерина и 15% лошадиной сыворотки);

Среда-4 (80% питательного бульона, 20% глицерина, 10% сахарозы и 10% поливинилпирролидона).

В работе использовали музейные культуры микроорганизмов *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922 и клинические изоляты *Staphylococcus epidermidis* 532/1, *Pseudomonas aeruginosa* 32.

Культуры микроорганизмов перед консервацией выращивались в оптимальных условиях: в течение 20 ч при 37°C на питательном агаре M001 (HiMedia).

Культуры с мутностью  $1,5 \cdot 10^{10}$  КОЕ/мл вносили в ампулы, содержащие по 1 мл соответствующей защитной среды. Засеянные среды помещались в биомедицинский морозильник на 1 час при -17°C, затем помещали на хранение в низкотемпературный морозильник при -80°C.

Оценку жизнеспособности микроорганизмов после длительного хранения определяли методом Коха [6].

По результатам исследований приведенных в таблице 1 видно, что потребность в криопротекторах неспорообразующих грамотрицательных бактерий более высокая, чем у споровых культур.

Также в таблице мы можем видеть, что жизнеспособность стафилококков значительно повышается, если в состав защитной среды входит 15-20% растворы глицерина.

Споровая культура – *Bacillus subtilis* ATCC 6633 показала наивысший титр жизнеспособности во всех защитных средах, взятых для эксперимента.

Таблица 1- Жизнеспособность культур микроорганизмов после хранения при низких температурных режимах на различных защитных средах

| Наименование микроорганизмов             | Число жизнеспособных клеток в 1 мл, КОЕ/мл |           |           |           |
|--|--|-----------|-----------|-----------|
|  | среда-1                                    | среда-2   | среда-3   | среда-4   |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538-P | $10^9$                                     | $10^7$    | $10^8$    | $10^9$    |
| <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633       | $10^{10}$                                  | $10^{10}$ | $10^{10}$ | $10^{10}$ |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922       | $10^6$                                     | $10^7$    | $10^8$    | $10^{10}$ |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> 532/1  | $10^9$                                     | $10^7$    | $10^7$    | $10^9$    |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 32         | $10^7$                                     | $10^8$    | $10^9$    | $10^{10}$ |

В результате исследований установлено, что состав защитной среды оказывает влияние на устойчивость микроорганизмов к стрессам при замораживании и на жизнеспособность при хранении.

Все используемые нами среды сохраняют культуры микроорганизмов в стабильно жизнеспособном состоянии, следовательно, любая из применяемых нами защитных сред может использоваться в хранении микроорганизмов при низких температурных режимах.

#### Литература

1. Волков В.Я. К вопросу о физиологических и физико-химических механизмах устойчивости микроорганизмов к замораживанию и высушиванию // Микробиология 1994. - Т. 63. - № 1. - С. 5–16.
2. Под редакцией Герхардта Ф. и др. Методы общей бактериологии. - Т 1. - Часть 2. - М.: Изд-во Мир, 1983. - 373 с.
3. Рэ Л. Консервация жизни холодом. М.: Изд-во Медицинской литературы, 1962. - 176 с.
4. Сидякина Т.М. Консервация микроорганизмов в коллекциях культур. //Сб. научн. трудов "Консервация генетических ресурсов. Методы. Проблемы. Перспективы". АН СССР, Пушкинский научн. центр. Институт биологической физики. Пушино, 1991, с.81-159.
5. Аркадьева З.А. Простые методы хранения микроорганизмов.- Биол. науки. - 1979, 1 7. - с. 104-105.
6. Егоров Н.С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. – М., 1995.

#### Түйін

Өндірістік микроорганизмдердің ресурстарын ұлғайту мен сақтау биотехнологияның маңызды мақсаттарының бірі. Қазіргі кезде микроорганизмдерді консервациялауға арналған көптеген қорғаныш орталары белгілі. Микроорганизмдерді қатырылған күйінде сақтауда, криопротекторлардың эффективті түрлерін таңдау аса маңызды кезең болып табылады.

#### Summary

Maintaining and expanding resources of industrial microorganisms relates to the priorities of biotechnology. Currently, there is a wide variety of protective media used for preservation of microorganisms. Selection of the optimal effective cryoprotectant is a very important aspect in the storage of microbial cultures in its frozen form.

### **Кистаубаева А.С., Баубекова А.С., Жубанова А.А., Болекбаева А.Б. ЖАҢА ЗАМАН ТАЛАБЫНА САЙ ИММОБИЛИЗДЕНГЕН ПРОБИОТИКАЛЫҚ ПРЕПАРАТТЫ АЛУ**

*Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан*

Медицина саласының бағыттарының бірі адам және жануарлар ішек-асқазан жолдарындағы микроэкологиялық бұзылыстарды пробиотикалық препараттардың көмегімен емдеуге және алдын алуға болады. Қазіргі замандағы пробиотиктердің көбі лактобактериялар мен бифидобактериялар негізінде жасалынады [1].

Бүгінгі таңда жаңа заман медицинаның маңызды мәселесі дәрілік заттардың организмдегі әртүрлі органдар мен ұлпаларға белгілі мөлшерде адресті жеткізу болып отыр [2]. Мысалы, дәрілер қарын мен аш ішек жолдарының өткенде препарат белсенділігі есептелгеннен 5-10 есеге төмендейді, осыдан оларды құрастыруды ғана емес, көздеген дене мүшесіне жеткізуді жаңа тұрғыдан қарастыру мәселесі туындап отыр.

Мұнда жаңа заман сорбенттерін қолдануға негізделген «Жану мәселелері» институтында профессор З.А. Мансұров басшылығымен құрастырылған жаңа биотехнологиялық әдістер ерекше назар аударуға тұрады [3]. Берілген сорбенттің сөзсіз құндылығы, арзан әрі жыл сайын жаңарып тұратын шикізаттан жасалатындығында. Бұл карбонизделген материалдың саңылаулары мөлшерінің кең диапазоны, сорбциялық кеңістігінің жеткілікті көлемі (0,4-1,2 см<sup>3</sup>/г) және үлкен меншікті сіңіру беті жабысу және детоксикациялық қасиеттердің болуын қамтамасыз етеді, яғни сорбент тек бактериялар комплексінің шырышты қабық адгезиясына көмектесе отырып, тасымалдаушының қызметін ғана атқармайды, детоксикациялық қызметті де атқарады.

Осы бағыттағы үлкен перспективалар микроорганизмдер клеткаларын тасымалдаушының бетіне бекіту арқылы жасалатын иммобилизденген препараттарды шығарумен байланысты болып отыр. Бұл жағдайда сорбент тек бактериялар комплексінің