

12. Vinogradova O.Yu. *Kliniko-morfologicheskie izmeneniya pri hronicheskoy pochechnoj nedostatochnosti koshek i metody korrekcii* [Clinical and morphological changes in chronic kidney disease in cats and corrective methods]. PhD thesis, Saratov, 2012, 125 p. (In Russian)

Авторлар туралы мәліметтер:

Хасанова Мадина Асылхановна* – PhD докторы, ветеринариялық медицина кафедрасының қауымдастырылған профессоры, «Ахмет Байтұрсынұлы атындағы Қостанай өңірлік университеті» КЕАҚ, Қазақстан Республикасы, 110005, Қостанай қ., Байтұрсынұлов көш, 47, тел.: +7-708-296-88-02, e-mail: khassanova.madina@yandex.kz, <https://orcid.org/0000-0003-3213-6458>.

Қайлова Алтынай Атымтаевна – ветеринариялық медицина кафедрасының 2 курс магистранты, «Ахмет Байтұрсынұлы атындағы Қостанай өңірлік университеті» КЕАҚ, Қазақстан Республикасы, 110005, Қостанай қ., Уральский көш, 23, 76-шы пәтер, тел.: +7-775-767-11-83, e-mail: altusha_k0409@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0008-5444-3532>.

Абилова Зулкыя Бахытбековна – PhD докторы, ветеринариялық медицина кафедрасының қауымдастырылған профессоры м.а., «Ахмет Байтұрсынұлы атындағы Қостанай өңірлік университеті» КЕАҚ, Қазақстан Республикасы, 110005, Қостанай қ., Чкалов көш, 10, 67-ші пәтер, тел.: +7-778-337-21-52, e-mail: dgip2005@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0333-0780>.

Сапа Владислав Андреевич – ветеринария ғылымдарының кандидаты, ветеринариялық медицина кафедрасының қауымдастырылған профессоры м.а., «Ахмет Байтұрсынұлы атындағы Қостанай өңірлік университеті» КЕАҚ, Қазақстан Республикасы, 110005, Қостанай қ., В-интернационалистер көш, 2А 81-ші пәтер, тел.: +7-747-229-72-65, e-mail: svladislavdoc@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9108-0111>.

Хасанова Мадина Асылхановна* – доктор PhD, ассоциированный профессор кафедры ветеринарной медицины, НАО «Костанайский региональный университет имени Ахмет Байтұрсынұлы», Республика Казахстан, 110005, г. Костанай, ул. Байтұрсынұлова 47, тел.: +7-708-296-88-02, e-mail: khassanova.madina@yandex.kz, <https://orcid.org/0000-0003-3213-6458>.

Қайлова Алтынай Атымтаевна – магистрант 2 года обучения кафедры ветеринарная медицина, НАО «Костанайский региональный университет имени Ахмет Байтұрсынұлы», Республика Казахстан, 110005, г. Костанай, ул. Уральская 23, кв.76, тел.: +7-775-767-11-83, e-mail: altusha_k0409@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0008-5444-3532>.

Абилова Зулкыя Бахытбековна – доктор PhD, и.о. ассоциированного профессора кафедры ветеринарной медицины, НАО «Костанайский региональный университет имени Ахмет Байтұрсынұлы», Республика Казахстан, 110005, г. Костанай, ул. Чкалова, 10, кв. 67, тел.: +7-778-337-21-52, e-mail: dgip2005@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0333-0780>.

Сапа Владислав Андреевич – кандидат ветеринарных наук, и.о. ассоциированного профессора кафедры ветеринарной медицины, НАО «Костанайский региональный университет имени Ахмет Байтұрсынұлы», Республика Казахстан, 110005, г. Костанай, ул. Воинов Интернационалистов 2А, кв. 81, тел.: +7-747-229-72-65, e-mail: svladislavdoc@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9108-0111>.

Khassanova Madina Assylkhanovna* – PhD, Associate Professor of the Department of veterinary medicine, Akhmet Baitursynuly Kostanay Regional University NLC, Kostanay, Republic of Kazakhstan, 110005, Kostanay, 47 Baitursynov Str., tel.: +7-708-296-88-02, e-mail: khassanova.madina@yandex.kz, <https://orcid.org/0000-0003-3213-6458>.

Kailova Altynay Atymtayevna – 2d-year Master's student, Department of veterinary medicine, Akhmet Baitursynuly Kostanay Regional University NLC, Republic of Kazakhstan, 110005, Kostanay, 23 Uralskaya Str., apt. 76, tel.: +7-775-767-11-83, e-mail: altusha_k0409@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0008-5444-3532>.

Abilova Zulkyya Bakhytbekovna – PhD, acting Associate Professor of the Department of veterinary medicine, Akhmet Baitursynuly Kostanay Regional University NLC, Republic of Kazakhstan, 110005, Kostanay, 10 Chkalov Str., apt. 67, tel.: +7-778-337-21-52, e-mail: dgip2005@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-0333-0780>.

Sapa Vladislav Andreyevich – Candidate of Veterinary Sciences, acting Associate Professor of the Department of veterinary medicine, Akhmet Baitursynuly Kostanay Regional University NLC, Republic of Kazakhstan, 110005, Kostanay, 2A Voinov Internatsionalistov Str., apt. 81, tel.: +7-747-229-72-65, e-mail: svladislavdoc@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9108-0111>.

МРНТИ 34.27.19:34.27.05

УДК 57.083; 579.62;

https://doi.org/10.52269/22266070_2025_1_86

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ШТАММА BRUCELLA MELITENSIS REV-1 ПРИ ГЛУБИННОМ КУЛЬТИВИРОВАНИИ В БИОРЕАКТОРЕ

Хусаинов Д.М. – кандидат ветеринарных наук, ассоциированный профессор, старший научный сотрудник ТОО «Научно-производственное предприятие «Антиген», с. Абай, Республика Казахстан.

Сансызбай А.Р.* – доктор ветеринарных наук, профессор, старший научный сотрудник, ТОО «Научно-производственное предприятие «Антиген», с. Абай, Республика Казахстан.

Ахметсадықов Н.Н. – доктор ветеринарных наук, профессор, генеральный директор, ТОО «Научно-производственное предприятие «Антиген», с. Абай, Республика Казахстан.

Мендыбаева А.М. – PhD специальности «Ветеринарная санитария», научный сотрудник, ТОО «Научно-производственное предприятие «Антиген», с. Абай, Республика Казахстан.

Бруцеллез сельскохозяйственных животных, вызываемый видами *Brucella*, является одним из зоонозных заболеваний, наносящих огромный ежегодный экономический ущерб Республике Казахстан. Целью исследования было проведение сравнительного анализа питательных сред в технологических процессах глубокого культивирования в биореакторе, с оценкой факторов роста и кинетики накопления штамма *B. Melitensis REV-1*, для построения кривых роста.

Согласно полученным результатам, питательные среды и их состав являются одним из решающих факторов, влияющих на кинетику накопления бруцелл. В зависимости от вида и состава питательной среды штамм *b. melitensis REV-1* будет по-разному проходить цикл культивирования. При применении стандартной питательной среды (контрольная среда) пик накопления составляет 3×10^6 кл/см³, имеет стандартную S-образную кривую роста. При применении композиции №1 пик накопления составляет 4×10^6 кл/см³, имеет стандартную S-образную кривую роста с ускорением логарифмической фазы. При применении композиции №2 пик накопления составляет 5×10^6 кл/см³, имеет стандартную S-образную кривую роста с ускорением логарифмической фазы, и замедлением в стационарную фазу. При применении композиции №3 пик накопления составляет 5×10^6 кл/см³, имеет стандартную S-образную кривую роста с ускорением логарифмической фазы и замедлением в стационарную фазу.

В исследовании применялись микробиологические и биотехнологические методы анализа роста и кинетики накопления бруцелл.

Результаты исследований могут быть использованы в математическом моделировании роста бруцелл при применении методов глубокого культивирования в биореакторах, что позволит повысить эффективность и усовершенствовать производство ветеринарных иммунобиологических препаратов и диагностических тест-систем.

Ключевые слова: бруцеллез, глубинное культивирование, биореактор, *Brucella melitensis Rev-1*, кинетика накопления, питательная среда, оптимизация производственных процессов.

БИОРЕАКТОРДА ТЕРЕҢ ӨСІРУ КЕЗІНДЕ BRUCELLA MELITENSIS REV-1 ШТАММЫНЫҢ ҚОРЕКТІК ОРТАСЫН САЛЫСТЫРМАЛЫ ТАЛДАУ

Хусаинов Д.М. – ветеринария ғылымдарының кандидаты, қауымдастырылған профессор, "Антиген" ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС аға ғылыми қызметкері, Абай ауылы, Қазақстан Республикасы.

Сансызбай А.Р.* – ветеринария ғылымдарының докторы, профессор, аға ғылыми қызметкер, "Антиген" ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Абай ауылы, Қазақстан Республикасы.

Ахметсадықов Н.Н. – ветеринария ғылымдарының докторы, профессор, Бас директор, "Антиген" ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Абай ауылы, Қазақстан Республикасы.

Мендыбаева А.М. – "Ветеринариялық санитария" мамандығының PhD докторы, ғылыми қызметкер, "Антиген" ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Абай ауылы, Қазақстан Республикасы.

Бруцелла түрлері тудыратын ауыл шаруашылығы жануарларының бруцеллезі Қазақстан Республикасына жыл сайын орасан зор экономикалық залал келтіретін зооноздық аурулардың бірі болып табылады. Зерттеудің мақсаты биореакторда терең культивирлеу технологиялық процестерінде қоректік ортаға салыстырмалы талдау жасау, *B. Melitensis REV-1* штаммын өсірудің өсу факторларын және кинетикасын бағалау, өсім қисықтарын құру болды.

Алынған нәтижелерге сәйкес қоректік орталар және олардың құрамы бруцеллалардың жинақталу кинетикасына әсер ететін шешуші факторлардың бірі болып табылады. Қоректік ортаның түріне және құрамына байланысты *b. melitensis REV-1* штаммы өсіру циклін әр түрлі өтеді. Стандартты өсіру ортасын (бақылау ортасын) қолданған кезде жинақтау шыңы 3×10^6 кл/см³ құрайды, стандартты S-тәрізді өсу қисығы байқалады. № 1 композицияны қолданған кезде жинақтау шыңы 4×10^6 кл/см³ құрайды, логарифмдік фазаның үдеуімен стандартты S-тәрізді өсу қисығы байқалады. № 2 композицияны қолданған кезде жинақтау шыңы 5×10^6 кл/см³ құрайды, логарифмдік фазаның үдеуімен және стационарлық фазада баяулауымен стандартты S-тәрізді өсу қисығы байқалады. № 3 композицияны қолданған кезде жинақтау шыңы 5×10^6 кл/см³ құрайды, логарифмдік фазаның үдеуімен және стационарлық фазада баяулауымен стандартты S-тәрізді өсу қисығы бар.

Зерттеуде бруцеллалардың өсуі мен жинақталу кинетикасын талдау үшін микробиологиялық және биотехнологиялық әдістері қолданылды.

Зерттеу нәтижелерін биореакторларда терең өсіру әдістерін қолдану кезінде бруцеллалардың өсуін математикалық модельдеуде қолдануға болады, бұл ветеринариялық иммунобиологиялық препараттар мен диагностикалық тест-жүйелердің тиімділігін арттыруға және өндірісін жетілдіруге мүмкіндік береді.

Түйінді сөздер: бруцеллез, терең өсіру, биореактор, *Brucella melitensis Rev-1*, жинақтау кинетикасы, өсіру ортасы, өндірістік процестерді оңтайландыру.

COMPARATIVE ANALYSIS OF NUTRIENT MEDIA FOR CULTIVATION OF BRUCELLA MELITENSIS REV-1 STRAIN USING SUBMERGED CULTIVATION IN BIOREACTOR

Khussainov D.M. – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Senior Researcher, Antigen Research and Development Enterprise LLP, Abai village, Republic of Kazakhstan.

Sansyzbay A.R.* – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Senior Researcher, Antigen Research and Development Enterprise LLP, Abai village, Republic of Kazakhstan.

Akhmetsadykov N.N. – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, General Director, Antigen Research and Development Enterprise LLP, Abai village, Republic of Kazakhstan.

Mendybayeva A.M. – PhD in Veterinary Sanitation, Researcher, Antigen Research and Development Enterprise LLP, Abai village, Republic of Kazakhstan.

Brucellosis of farm animals caused by Brucella species is one of the zoonotic diseases causing enormous annual economic damage to the Republic of Kazakhstan. The purpose of the study was to conduct a comparative analysis of nutrient media within submerged cultivation in bioreactor, with an assessment of growth factors and accumulation kinetics of the B. Melitensis REV-1 strain, to plot growth curves.

According to the results obtained, nutrient media and their composition are one of the decisive factors influencing the kinetics of brucellosis accumulation. Depending on the type and composition of the nutrient medium, the B. Melitensis REV-1 strain will undergo the cultivation cycle differently. When using a standard nutrient medium (control medium), the peak accumulation is 3×10^6 cells/cm³, has a standard S-shaped growth curve. When using composition No.1, the peak accumulation is 4×10^6 cells/cm³, has a standard S-shaped growth curve with acceleration of the logarithmic phase. When using composition No.2, the peak accumulation is 5×10^6 cells/cm³, has a standard S-shaped growth curve with acceleration of the logarithmic phase, and deceleration of the stationary phase. When using composition No.3, the peak accumulation is 5×10^6 cells/cm³, has a standard S-shaped growth curve with acceleration of the logarithmic phase and deceleration of the stationary phase.

The study used microbiological and biotechnological methods for analyzing the growth and kinetics of accumulation of Brucella.

The research results can be used in mathematical modeling of Brucella growth when using submerged cultivation methods in bioreactors, which will increase the efficiency and improve the production of veterinary immunobiological drugs and diagnostic test systems.

Key words: *brucellosis, submerged cultivation, bioreactor, Brucella Melitensis Rev-1, accumulation kinetics, nutrient medium, production processes optimization.*

Введение

Бруцеллез человека, вызываемый видами *Brucella*, относится к наиболее распространенным бактериальным зоонозным заболеваниям во всем мире, ежегодно регистрируется около 500 000 случаев, эндемичен для Средиземноморского бассейна, Ближнего Востока, некоторых районов Центральной и Южной Америки, Африки и Азии. *B. melitensis* является преобладающим видом, вызывающим большинство случаев заболевания людей [1, с. 5]. Бруцеллез – всемирный зооноз, вызываемый внутриклеточными бактериальными патогенами рода *Brucella*. Хотя бруцеллез редко опасен для жизни, он может быть крайне изнуряющим и инвалидизирующим заболеванием и вновь приобретает значение из-за растущей угрозы его использования в качестве биологического оружия и его повторного появления в районах, где он считался почти искорененным. Внутриклеточные инфекционные агенты, такие как бактерии рода *Brucella*, вызывают аборт и бесплодие у жвачных животных и представляют тропизм к клетке-хозяину, в основном ограниченный линией моноцитов / макрофагов. Таким образом, бруцеллез трудно искоренить, поскольку микроорганизм может эффективно избежать лечения антибиотиками. В настоящее время программы вакцинации скота, мониторинг и убой серопозитивных носителей представляют собой единственные доступные средства для искоренения заболевания [2, с. 1, 3, с. 3].

Поэтому необходимо адекватно контролировать инфекцию бруцелл в стадах. Современные методы обнаружения бруцелл включают классические микробиологические анализы, т.е. обнаружение колониеобразующих единиц (КОЕ) на агаровых пластинах, а также несколько серологических анализов, основанных на иммунном ответе. Удивительно, однако молекулярные методы, такие как ПЦР в реальном времени и классическая ПЦР с конечной точкой, не считаются эффективными с точки зрения наблюдения за распространенностью в стадах или стаях [4, с. 2]. В попытке понять потенциальные причины, которые препятствуют более широкому использованию ПЦР в реальном времени для обнаружения инфекции *Brucella*, создали модель инфекции макрофагов овец, используя десятично разбавленную *B. melitensis*, чтобы имитировать взаимодействие клетки-хозяина/микроорганизма *in vitro* и контролировать количество включенных бруцелл / клеток, одновременно сравнивая классический метод обнаружения КОЕ с молекулярным методом обнаружения ПЦР в реальном времени. Результаты показали, что метод ПЦР в реальном времени имеет более низкий уровень чувствительности обнаружения и предполагает, что потенциальная будущая диагностика инфекции *Brucella* с помощью ПЦР в реальном времени может быть надежной только при наличии большого количества инфицированных клеток [5, с. 1].

Род *Brucella* включает очень близкие виды с высоким (>98%) сходством генома. Культуральные фенотипические тесты (потребность в CO₂, продукция H₂S, агглютинация с моноспецифической сывороткой и чувствительность к красителю и т. д.) по-прежнему используются для диагностики бруцеллеза и для дифференциации видов и биоваров *Brucella* [6, с. 2].

В последние десятилетия поляризационные методы флуоресценции и молекулярные методы были использованы в качестве альтернативы традиционным методам диагностики бруцеллеза, основанным на микробиологическом посеве, тестах на агглютинацию сыворотки и связывание комплемента. Международное Эпизоотическое бюро (МЭБ) рекомендует одновременное использование селективных сред, в том числе Фаррелла и модифицированного Тейера Martin media, за первичное выделение видов бруцелл из образцов животных (МЭБ, 2009). Селективная среда Фаррелла подавляет рост большинства бактериальных и грибковых загрязнений и, по видимому, является наиболее широко используемой селективной средой для бактериологической диагностики во всем мире. Однако некоторые противомикробные препараты, присутствующие в составе этой среды, подавляют рост некоторых видов бруцелл [7, с. 2]. Модифицированная среда Тейера-Мартина обладает большей чувствительностью, по сравнению со средой Фаррелла, хотя она также не подавляет загрязняющие микроорганизмы. По этой причине CITA media была разработана на основе модифицированного Thayer Среда Martin с добавлением различных противомикробных препаратов и амфотерицина В для подавления загрязняющих веществ без ущерба для роста видов бруцелл.

Актуальность разработки питательных сред для культивирования бруцелл обусловлена сложностью выращивания и в связи с требовательностью этих микробов к питательной ценности субстрата и их медленным ростом. *Brucella spp.* изначально были описаны как прихотливые организмы, которым требуются сложные условия культивирования *in vitro* с питательно сложными средами на основе пептонов и, предпочтительно, с добавлением крови или сыворотки. Однако ранние исследования, изучающие рост классических видов *Brucella* в

определенных средах, показали, что большинство штаммов способны размножаться в менее сложных средах, состоящих только из солевых растворов, аммиака в качестве источника азота, отдельных источников углерода и ограниченного числа витаминов, особенно биотина [8, с. 2, 9, с. 8].

Жидкие питательные среды, используемые для бруцелл и кинетики роста: бульон Мюллера-Хинтона с катионной коррекцией (CAMNB, Becton Dickinson), бульон бруцелл (BB, Becton Dickinson), H-среда (MERLIN), CAMNB, содержащая 5% лошадиной крови и 20 мг/л β -НАД (CAMNB-F, согласно EUCAST SOP), и CAMNB, дополненная 10 мг/л IsovitaleX (CAMNB-X, Thermo Fisher, Waltham, MA, USA) [10, с. 2].

Существенное значение для диагностики бруцеллеза и оптимизации производства биопрепаратов имеет сокращение сроков культивирования данных микроорганизмов. Эмбриональные и внеэмбриональные ткани птиц представляют из себя биологически активную субстанцию и используются в микробиологической промышленности, преимущественно в качестве питательной добавки к средам. Эмбрионально-яичная масса кур и перепелов используется в качестве сырья для приготовления стимуляторов роста отдельных микроорганизмов. Улучшение биологических свойств питательных сред, предназначенных для культивирования различных штаммов бруцелл (в диагностических и исследовательских работах, при производстве бактериальных препаратов) возможно путем использования гидролизата, полученного из эмбриональных и внеэмбриональных тканей птиц, в качестве стимулятора роста [11, с. 2].

Цель наших исследований заключалась в сравнительном анализе питательных сред, применяемых для эффективного роста и размножения бруцелл в условиях глубинного культивирования в биореакторе.

Нами были **поставлены следующие задачи**: оценить и провести сравнительный анализ роста бруцелл в 4 питательных средах, а также оценить скорость роста и продуктивности культивируемого штамма *B. melitensis* Rev-1 в данных средах.

Материалы и методы

Штамм

Штамм *Brucella melitensis* Rev-1 – живой аттенуированный штамм бруцелл, применяемый в производстве иммунобиологических препаратов, вакцин и диагностических тест-систем. Штамм Rev-1 адаптирован к культивированию на твердых и жидких питательных средах, а также к глубинному культивированию в биореакторах.

Питательные среды

Для исследования были выбраны 4 композиции питательных сред:

1. Контрольная питательная среда на основе перевара Хоттингера
Ферментативный гидролизат – 6 г/л
Дрожжевой экстракт – 6 г/л
Глицерин – 5 г/л
Натрий сульфат – 5 г/л
pH – 7,2–7,4
2. Композиция №1 – бульон триптиказо-соевый (TSB, Tryptic Soy Broth)
Триптиказо-пептон – 17 г/л
Пептон соевого бобов – 3 г/л
Натрий хлорид – 5 г/л
Декстроза – 2,5 г/л
Дифосфат калия – 2,5 г/л
pH – 7,2–7,4
3. Композиция №2 – Среда Феррициани (Ferrarini Liquid Medium)
Мясной пептон – 5 г/л
Дрожжевой экстракт – 5 г/л
Глицерин – 5 г/л
Натрий сульфат – 5 г/л
pH – 7,2–7,4
4. Композиция №3 – Среда Альбиани (Albini Liquid Medium)
Мясной пептон – 10 г/л
Дрожжевой пептон – 5 г/л
Декстроза – 5 г/л
Натрий хлорид – 5 г/л
pH – 7,2–7,4

Биореактор

Биореактор Bailun BiBio 120L (Bailun Biotechnology Co., Ltd., Китай). Биореактор объемом 120 литров, рабочий объем составляет 100 литров. Биореактор оснащен панелью автоматического и ручного управления параметрами культивирования (температура, давление в камере, pH, уровень растворенного кислорода (DO – dissolved oxygen), скорость оборотов мешалки и др.), благодаря блоку управления варианты питательных сред подавались в различные промежутки времени вместе с пеногасителем.

Режим глубинного культивирования

Глубинное культивирование проводилось циклами до 72 часов культивирования, при следующих параметрах:

- температура +37°C,
- давление в камере биореактора 0,5 л/с,
- pH 7,0-7,2,
- уровень растворенного кислорода 80%
- скорость оборотов мешалки 50 об./мин.

Данная технология глубинного культивирования позволяет поддерживать оптимальные условия для культивирования бруцелл, а также позволяя стандартизировать технологические процессы для всех питательных сред.

Контроль концентрации бруцелл

Для оценки концентрации бруцелл применялось два метода: (I) турбидиметрия – метод контроля концентрации бруцелл основанный на изменении опалесценции субстратов; (II) КОЕ – метод контроля концентрации жизнеспособных бруцелл в различных разведениях.

Турбидиметрия

Контроль концентрации бруцелл производился с помощью денситометра DEN-1B, с измерением мутности клеточных суспензий в пределах диапазона 0,0-6,0 единиц МакФарланда (McF) (0 – 180 x 10⁷ клеток/см³), вместе с стандартами мутности МакФарланда 0.5; 1.0 и 2.0 (BaSO₄).

КОЕ

Для определения жизнеспособных бруцелл в ходе культивирования с различными питательными средами образцы разводились десятикратным титрованием для получения различных концентраций. Далее разведенные образцы высевались на мясопептонный агар (МПА) в заранее разлитые в стерильные чашки петри. Через 72 часа инкубаций проводился подсчет колоний.

Результаты

Оценка роста бруцелл

Оптимизация состава питательных сред для глубинного культивирования бруцелл позволят на основе оценки кинетики накопления стандартизировать технологические процессы производства ветеринарных препаратов. Глубинное культивирование в биореакторе является современным решением накопления большого количества специфического антигена, не имеющего рисков грибковой и бактериальной контаминации, а также соответствующего требованиям биобезопасности GMP. Результаты оценки роста бруцелл в исследуемых питательных средах представлены в таблице 1.

Таблица 1 – концентрация бруцелл в ходе культивирования

№	Время культивирования, ч	Контрольная среда	Композиция №1	Композиция №2	Композиция №3
1	0	1x10 ⁵	1x10 ⁵	1x10 ⁵	1x10 ⁵
2	12	2x10 ⁵	3x10 ⁵	4x10 ⁵	3x10 ⁵
3	24	4x10 ⁵	5x10 ⁵	6x10 ⁵	5x10 ⁵
4	36	1x10 ⁶	2x10 ⁶	3x10 ⁶	2x10 ⁶
5	48	2x10 ⁶	3x10 ⁶	4x10 ⁶	3x10 ⁶
6	60	3x10 ⁶	4x10 ⁶	5x10 ⁶	4x10 ⁶
7	72	3x10 ⁶	4x10 ⁶	5x10 ⁶	5x10 ⁶

Из представленных данных видно, что каждая из четырёх питательных сред демонстрирует различную кинетику накопления, а также демонстрирует различную S-образную кривую роста, что представлено в рисунках 1-4.



Рисунок 1 – график кинетики накопления бруцелл в контрольной питательной среде



Рисунок 2 – график кинетики накопления бруцелл в композиции №1



Рисунок 3 – график кинетики накопления бруцелл в композиции №2



Рисунок 4 – график кинетики накопления бруцелл в композиции №3

Согласно полученным результатам, все 3 композиции обеспечивают более высокий выход бруцелл по сравнению с контрольной средой.

Контрольная среда пик накопления бруцелл достигается через 60 часов культивирования и составляет 3×10^6 кл/см³, общий рост бруцелл соответствует стандартной S-образной кривой роста бактерий. Согласно динамике роста, период лаг-фазы роста составляет 12 часов, период логарифмической фазы роста составляет 60 часов, стоит отметить, что логарифмическая фаза в данной композиции короткая. Период стационарной фазы роста составляет 12 часов, стоит отметить, что данная фаза очень длительная, наблюдается высокая концентрация бруцелл, при низкой выживаемости.

Композиция №1 пик накопления бруцелл достигается через 60 часов и составляет 4×10^6 кл/см³, общий рост бруцелл соответствует стандартной S-образной кривой роста бактерий. Согласно динамике роста, период лаг-фазы роста составляет менее 12 часов, что говорит о том, что бруцеллы быстрее адаптируются к данной питательной среде, период логарифмической фазы роста составляет 60 часов, стоит отметить, что логарифмическая фаза в данной композиции длиннее. Период стационарной фазы роста составляет 12 часов, стоит отметить, что данная фаза очень длительная, наблюдается высокая концентрация бруцелл, при большей выживаемости.

Композиция №2 пик накопления бруцелл достигается через 60 часов и составляет 5×10^6 кл/см³, рост бруцелл соответствует стандартной S-образной кривой роста бактерий. Согласно динамике роста, период лаг-фазы роста составляет менее 12 часов, стоит отметить, что длительность лаг-фазы длиннее даже контрольной среды. Период логарифмической фазы роста составляет 48 часов, данная фаза роста довольно короткая. Период стационарной фазы также длительная, отмечается высокая концентрация бруцелл, при высокой выживаемости.

Композиция №3 пик накопления достигается через 60 часов и составляет 5×10^6 кл/см³, рост бруцелл не соответствует S-образной кривой роста бактерий. Согласно динамике роста, период лаг-фазы роста составляет 72 часа, стоит отметить, что период лаг-фазы роста стандартная и составляет часов, данная фаза роста характеризуется большой длительностью, Период стационарной фазы роста характеризуется малой длительностью, и длительным сохранением жизнеспособных бруцелл.

Заключение

Согласно полученным результатам, питательные среды и их состав являются одним из решающих факторов, влияющих на кинетику накопления бруцелл. В зависимости от вида и состава питательной среды штамм *B. melitensis* REV-1 будет по-разному проходить цикл культивирования. При применении стандартной питательной среды (контрольная среда) пик накопления составляет 3×10^6 кл/см³, имеет стандартную S-образную кривую роста. При применении композиции №1 пик накопления составляет 4×10^6 кл/см³, имеет стандартную S-образную кривую роста с ускорением логарифмической фазы. При применении композиции №2 пик накопления составляет 5×10^6 кл/см³, имеет стандартную S-образную кривую роста с ускорением логарифмической фазы, и замедлением в стационарную фазу. При применении композиции №3 пик накопления составляет 5×10^6 кл/см³, имеет стандартную S-образную кривую роста с ускорением логарифмической фазы и замедлением в стационарную фазу.

Финансирование

Исследование выполнено в рамках реализации проекта ИРН №AP19676655 конкурса на грантовое финансирование по научным и (или) научно-техническим проектам на 2023-2025 годы (Комитет науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Seleem M. N., Boyle S. M., Sriranganathan N., **Brucellosis: a re-emerging zoonosis** [Text] / Seleem M. N., Boyle S. M., Sriranganathan N. // *Veterinary microbiology*. – 2010. – 140(3-4). – P.392-398.
2. Hikal A. F., Wareth G., Khan A., **Brucellosis: Why is it eradicated from domestic livestock in the United States but not in the Nile River Basin countries?** [Text] / Hikal A. F., Wareth G., Khan A. // *Ger. J. Microbiol.* – 2023. – Vol.3. – P.19-25.
3. Avila-Calderón E. D., Lopez-Merino A., Sriranganathan N., Boyle S. M., Contreras-Rodríguez A., **A history of the development of Brucella vaccines** [Text] / Avila-Calderón E. D., Lopez-Merino A., Sriranganathan N., Boyle S. M., Contreras-Rodríguez A. // *BioMed research international*. – 2013. – 2013(1). – 743509p.
4. **World Organisation for Animal Health., Brucellosis (Brucella abortus, B. melitensis and B. suis) (infection with B. abortus, B. melitensis and B. suis)** [Text] / *Manual for diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals* 2018.
5. Karponi G., Kritas S. K., Papanikolaou E., Petridou E., **A cellular model of infection with Brucella melitensis in ovine macrophages: novel insights for intracellular bacterial detection** [Text] / Karponi G., Kritas S. K., Papanikolaou E., Petridou E. // *Veterinary sciences*. – 2019. – 6(3). – 71p.
6. Celik E., Kayman T., Buyuk F., Saglam A. G., Abay S., Akar M., Aydin F. **The canonical Brucella species-host dependency is changing, however, the antibiotic susceptibility profiles remain unchanged** [Text] / Celik E., Kayman T., Buyuk F., Saglam A. G., Abay S., Akar M., Aydin F. // *Microbial Pathogenesis*. – 2023. – Vol.182. – P.106261.
7. de Nardi Júnior G., Megid J., Vicente A. F., Paganini F. J., Chacur M. G. M., Ribeiro M. G. **Comparison of Brucella agar, CITA and Farrell media for selective isolation of Brucella abortus from semen of bovine bulls** [Text] / de Nardi Júnior G., Megid J., Vicente A. F., Paganini F. J., Chacur M. G. M., Ribeiro M. G. // *African Journal of Microbiology Research*. – 2015. – 9(9). – P.617-620.
8. Zúñiga-Ripa A., Barbier T., Lázaro-Antón L., de Miguel M. J., Conde-Álvarez R., Muñoz P. M., Moriyón I. **The fast-growing Brucella suis biovar 5 depends on phosphoenolpyruvate carboxykinase and pyruvate phosphate dikinase but not on Fbp and GlpX fructose-1, 6-bisphosphatases or isocitrate lyase for full virulence in laboratory models** [Text] / Zúñiga-Ripa A., Barbier T., Lázaro-Antón L., de Miguel M. J., Conde-Álvarez R., Muñoz P. M., Moriyón I. // *Frontiers in Microbiology*. – 2019. – Vol. 9. – 641p.

9. Barbier T., Zúñiga-Ripa A., Moussa S., Plovier H., Sternon J. F., Lázaro-Antón L., Letesson J. J. **Brucella central carbon metabolism: an update** [Text] / Barbier T., Zúñiga-Ripa A., Moussa S., Plovier H., Sternon J. F., Lázaro-Antón L., Letesson J. J. // *Critical reviews in microbiology*. – 2018. – 44(2). – P.182-211.
10. Tscherne A., Mantel E., Boskani T., Budniak S., Elschner M., Fasanella A., Zange S., **Adaptation of Brucella melitensis antimicrobial susceptibility testing to the ISO 20776 standard and validation of the method** [Text] / Tscherne A., Mantel E., Boskani T., Budniak S., Elschner M., Fasanella A., Zange S. // *Microorganisms*. – 2022. – Vol.10(7). – 1470.
11. Курилова, А. А., Катунина, Л. С., Сизоненко, М. Н., Тимченко, Л. Д., Ржепаковский, И. В., Ковтун, Ю. С., ... & Жаринова, Н. В. **Изучение ростостимулирующего эффекта гидролизата эмбриональных и внеэмбриональных тканей птиц при культивировании бруцелл** [Текст] / Курилова, А.А., Катунина, Л.С., Сизоненко, М.Н., Тимченко, Л.Д., Ржепаковский, И.В., Ковтун, Ю.С., Жаринова, Н.В. // *Национальные приоритеты России*. – 2021. – (3 (42)). – С. 338-340.

REFERENCES:

1. Seleem M.N., Boyle S.M., Sriranganathan N. **Brucellosis: a re-emerging zoonosis**. *Veterinary microbiology*, 2010, 140(3-4), pp. 392-398.
2. Hikal A.F., Wareth G., Khan A. **Brucellosis: Why is it eradicated from domestic livestock in the United States but not in the Nile River Basin countries?**. *Ger. J. Microbiol.*, 2023, 3, pp. 19-25.
3. Avila-Calderón E.D., Lopez-Merino A., Sriranganathan N., Boyle S.M., Contreras-Rodríguez A. **A history of the development of Brucella vaccines**. *BioMed research international*, 2013, 1, 743509 p.
4. World Organisation for Animal Health. (2018). **Brucellosis (Brucella abortus, B. melitensis and B. suis)(infection with B. abortus, B. melitensis and B. suis)**. *Manual for diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals 2018*. (2013).
5. Karponi G., Kritas S.K., Papanikolaou E., Petridou E.A **cellular model of infection with Brucella melitensis in ovine macrophages: novel insights for intracellular bacterial detection**. *Veterinary sciences*, 2019, 6(3), 71 p.
6. Celik E., Kayman T., Buyuk F. et al. **The canonical Brucella species-host dependency is changing, however, the antibiotic susceptibility profiles remain unchanged**. *Microbial Pathogenesis*, 2023, 182, 106261 p.
7. de Nardi Júnior G., Megid J., Vicente A.F. et al. **Comparison of Brucella agar, CITA and Farrell media for selective isolation of Brucella abortus from semen of bovine bulls**. *African Journal of Microbiology Research*, 2015, 9(9), pp. 617-620.
8. Zúñiga-Ripa A., Barbier T., Lázaro-Antón L. et al. **The fast-growing Brucella suis biovar 5 depends on phosphoenolpyruvate carboxykinase and pyruvate phosphate dikinase but not on Fbp and GlpX fructose-1, 6-bisphosphatases or isocitrate lyase for full virulence in laboratory models**. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9, 641 p.
9. Barbier T., Zúñiga-Ripa A., Moussa S. et al. **Brucella central carbon metabolism: an update**. *Critical reviews in microbiology*, 44(2), pp. 182-211.
10. Tscherne A., Mantel E., Boskani T. et al. **Adaptation of Brucella melitensis antimicrobial susceptibility testing to the ISO 20776 standard and validation of the method**. *Microorganisms*, 2022, 10(7), 1470 p.
11. Kurilova A.A., Katunina L.S., Sizonenko M.N. et al. **Izuchenie rostostimuliruyushhego e'ffekta gidrolizata e'mbrionalny'h i vneembrionalny'h tkanej ptic pri kultivirovanii brucell** [Study of the growth-stimulating effect of hydrolysate of embryonic and extraembryonic tissues of birds during the cultivation of Brucella]. *Nacionalny'e priorityty' Rossii*, 2021, 3 (42), pp. 338-340. (In Russian)

Сведения об авторах:

Хусаинов Дамир Микдатович – кандидат ветеринарных наук, ассоциированный профессор, старший научный сотрудник, ТОО «Научно-производственное предприятие «Антиген», Республика Казахстан, 040905, Алматинская обл., Карасайский район, пос. Абай, ул. Азербайева, 4, тел.: +7-707-729-01-85, e-mail: ereke.antigen@mail.ru.

Сансызбай Абылай Рысбаевич* – доктор ветеринарных наук, профессор, старший научный сотрудник, ТОО «Научно-производственное предприятие «Антиген», Республика Казахстан, 040905, Алматинская обл., Карасайский район, пос. Абай, ул. Азербайева, 4, тел.: +7-701-880-25-25, e-mail: sansyzbai-ar@mail.ru.

Ахметсадыков Нурлан Нуролдинович – доктор ветеринарных наук, профессор, генеральный директор, ТОО «Научно-производственное предприятие «Антиген», Республика Казахстан, 040905, Алматинская обл., Карасайский район, пос. Абай, ул. Азербайева, 4, тел.: +7-701-729-01-75, e-mail: nurlan.akhmetsadykov@gmail.com.

Мендыбаева Анара Муратовна – PhD специальности «Ветеринарная санитария», старший научный сотрудник, ТОО «Научно-производственное предприятие «Антиген», Республика Казахстан, 040905, Алматинская обл., Карасайский район, пос. Абай, ул. Азербайева, 4, тел.: +7-705-108-08-38, e-mail: jks1992@mail.ru.

Хусаинов Дамир Микдатович – ветеринария ғылымдарының кандидаты, қауымдастырылған профессор, аға ғылыми қызметкер, «Антиген» ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Қазақстан Республикасы, 040905 Алматы облысы, Қарасай ауданы, Абай кенті, Әзірбаев көш., 4, тел.: +7-707-729-01-85, e-mail: ereke.antigen@mail.ru.

Сансызбай Абылай Рысбаевич* – ветеринария ғылымдарының докторы, профессор, аға ғылыми қызметкер, «Антиген» ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Қазақстан Республикасы, 040905, Алматы облысы, Қарасай ауданы, Абай кенті, Әзірбаев көш 4, тел.: +7-701-880-25-25, e-mail: sansyzbai-ar@mail.ru.

Ахметсадыков Нурлан Нуролдинович – ветеринария ғылымдарының докторы, профессор, бас директор, «Антиген» ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, Қазақстан Республикасы, 040905, Алматы облысы, Қарасай ауданы, Абай кенті, Әзірбаев көш., 4, тел.: +7-701-729-01-75, e-mail: nurlan.akhmetsadykov@gmail.com.

Мендыбаева Анара Муратовна – «Ветеринариялық санитария» мамандығының PhD, аға ғылыми қызметкер, «Антиген» ғылыми-өндірістік кәсіпорны ЖШС, 040905, Алматы облысы, Қарасай ауданы, Абай кенті, Әзірбаев көш 4, тел.: +7-705-108-08-38, e-mail: jks1992@mail.ru.

Khussainov Damir Mikdatovich – Candidate of Veterinary Sciences, Associate Professor, Senior Researcher, Antigen Research and Development Enterprise LLP, Republic of Kazakhstan, 040905, Almaty region, Karasay district, Abai village, 4 Azerbayev Str., tel.: +7-707-729-01-85, e-mail: ereke.antigen@mail.ru.

Sansyzbay Abylay Rysbayevich* – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, Senior Researcher, Antigen Research and Development Enterprise LLP, Republic of Kazakhstan, 040905, Almaty region. Karasay district, Abai village, 4 Azerbayev Str., tel.: +7-701-880-25-25, e-mail: sansyzbai-ar@mail.ru.

Akhmetsadykov Nurlan Nuroldinovich – Doctor of Veterinary Sciences, Professor, General Director, Antigen Research and Development Enterprise LLP, Republic of Kazakhstan, 040905, Almaty region. Karasay district, Abai village, 4 Azerbayev Str., tel.: +7-701-729-01-75, e-mail: nurlan.akhmetsadykov@gmail.com.

Mendybayeva Anara Muratovna – PhD in Veterinary Sanitation, Senior Researcher, Antigen Research and Development Enterprise LLP, Republic of Kazakhstan, 040905, Almaty region, Karasay district, Abai village, 4 Azerbayev Str., tel.: +7-705-108-08-38, e-mail: jks1992@mail.ru.

МРНТИ 34.23.23, 34.23.59

УДК 575.175

https://doi.org/10.52269/22266070_2025_1_93

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА НЕСТАБИЛЬНОСТИ ГЕНОМА У КАЗАХСКИХ СОБАК ПОРОДЫ ТОБЕТ И АУТБРЕДНЫХ СОБАК С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НЕ ИНВАЗИВНОГО МЕТОДА

Чередниченко О.Г. – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория генетического мониторинга Республиканского Государственного предприятия «Институт генетики и физиологии» Комитета Науки Министерства науки и высшего образования РК, г. Алматы, Республика Казахстан.

Азизбекова Д.Э.* – магистр, младший научный сотрудник, лаборатория генетического мониторинга Республиканского Государственного предприятия «Институт генетики и физиологии» Комитета Науки Министерства науки и высшего образования РК, г. Алматы, Республика Казахстан.

Пилюгина А.Л. – магистр, старший научный сотрудник, лаборатория генетического мониторинга Республиканского Государственного предприятия «Институт генетики и физиологии» Комитета Науки Министерства науки и высшего образования РК, г. Алматы, Республика Казахстан.

Амиргалиева А.С. – старший научный сотрудник, лаборатория молекулярной генетики Республиканского Государственного предприятия «Институт генетики и физиологии» Комитета Науки Министерства науки и высшего образования РК, г. Алматы, Республика Казахстан.

В последние годы наблюдается повышенный интерес к аборигенным казахским породам собак, таких как Тобет и Тазы. Для их сохранения и успешного разведения необходим тщательный анализ природы их наследственных признаков и нестабильности генома на разных уровнях биологической организации. В частности, многие аспекты цитогенетики собак, в том числе представителей собак породы Тобет, изучены гораздо меньше, чем другие домашние животные. В данном исследовании проведена оценка геномной нестабильности собак породы Тобет в сравнении с аутбредными собаками как модели генетического разнообразия с использованием не инвазивного метода – цитомный анализ (анализ цитологических и кариологических нарушений) буккального эпителия ротовой полости. Проведенное исследование выявило значительные различия в геномных и цитологических профилях собак породы Тобет, по сравнению с беспородными собаками, при этом у собак породы Тобет отмечен более высокий уровень микроядер и кариологических аномалий с различием по половому признаку. Полученные результаты могут быть связаны с генетическими факторами, влиянием окружающей среды или инбридингом, и подчеркивают важность постоянного генетического мониторинга для сохранения этой редкой породы. Также представлен спектр и характеристика кариологических аномалий буккального эпителия, выявленных у собак, и особенности его использования у животных.

Ключевые слова: тобет, нестабильность генома, микроядра, кариологические нарушения, буккальный эпителий, цитомный анализ.

ҚАЗАҚ ТӨБЕТ ТҰҚЫМДЫ ИТТЕР МЕН АУТБРЕДТІ ИТТЕРДІҢ ГЕНОМДЫҚ ТҰРАҚСЫЗДЫҒЫН ИНВАЗИВТІ ЕМЕС ӘДІСТІ ПАЙДАЛАНУ АРҚЫЛЫ САЛЫСТЫРМАЛЫ БАҒАЛАУ

Чередниченко О.Г. – биология ғылымдарының кандидаты, жетекші ғылыми қызметкер, генетикалық мониторинг зертханасы, Ғылым және жоғары білім министрлігі Ғылым комитетінің «Генетика және физиология институты» Республикалық мемлекеттік кәсіпорны, Алматы қ., Қазақстан Республикасы.

Азизбекова Д.Э.* – магистр, кіші ғылыми қызметкер, генетикалық мониторинг зертханасы, Ғылым және жоғары білім министрлігі Ғылым комитетінің «Генетика және физиология институты» Республикалық мемлекеттік кәсіпорны, Алматы қ., Қазақстан Республикасы.

Пилюгина А.Л. – магистр, аға ғылыми қызметкер, генетикалық мониторинг зертханасы, Ғылым және жоғары білім министрлігі Ғылым комитетінің «Генетика және физиология институты» Республикалық мемлекеттік кәсіпорны, Алматы қ., Қазақстан Республикасы.

Амиргалиева А.С. – аға ғылыми қызметкер, молекулалық генетика зертханасы, Ғылым және жоғары білім министрлігі Ғылым комитетінің «Генетика және физиология институты» Республикалық мемлекеттік кәсіпорны, Алматы қ., Қазақстан Республикасы.