

## ВЛИЯНИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ НА ДИНАМИКУ ПОПУЛЯЦИИ *L. MONOCYTOGENES* В КОЗЬЕМ МОЛОКЕ

Гершун В.И. - д.в.н., профессор, Костанайский государственный университет имени А.Байтурсынова.  
Динер А.П., - магистрант, Костанайский государственный университет имени А.Байтурсынова.

В статье приведены результаты исследований влияния молочнокислых бактерий на динамику популяции *L. monocytogenes* в стерильном козьем молоке при различных температурных режимах (4°C, 18°C, 37°C). В опыте использованы 3 музейных штамма *Listeria monocytogenes* из коллекции кафедры ветеринарной санитарии КГУ им. А. Байтурсынова, которые выделены из головного мозга овцы, силоса и почвы и обладали типичными морфологическими, культуральными, биохимическими и патогенными свойствами. В опыте использовали сухую заквасочную культуру «Кефир», содержащую молочнокислые бактерии (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*) и кефирные грибки. Концентрацию листерий в молоке определяли путем посева на пластинки МПА с 0,004% налединовой кислоты. Концентрация листерий в козьем молоке с кефирной закваской зависела от температурного режима и pH молока.

Исследования показали, что молочнокислые бактерии угнетали развитие листерий в козьем молоке при всех температурных режимах. Однако, наиболее выраженное антагонистическое воздействие молочнокислых бактерий отмечалось при комнатной температуре и в термостате. *L. monocytogenes* сохраняли жизнеспособность в смешанных культурах с кефирной закваской при всех температурных режимах в течение 7 суток.

Установлено, что использование сухой заквасочной культуры «Кефир» вызывает угнетение динамики популяций *L. monocytogenes* в козьем молоке, но не приводит к их гибели.

Ключевые слова: возбудитель листериоза, динамика популяции, молочнокислые бактерии, козье молоко.

## ЕШКІ СҮТІНДЕГІ *L. MONOCYTOGENES* ПОПУЛЯЦИЯ ДИНАМИКАСЫНА СҮТҚЫШҚЫЛДЫ БАКТЕРИЯНЫҢ ӘСЕРІ

Гершун В.И. - в.ф.д., профессор, А.Байтұрсынов атындағы Қостанай мемлекеттік университеті  
Динер А.П. - магистрант, А.Байтұрсынов атындағы Қостанай мемлекеттік университеті

Осы мақалада *L. monocytogenes* популяция динамикасының стерильді және стерильсіз түрлі температурада ешкі сүтті сынамаларында зерттеу нәтижелері көрсетілген. А. Байтұрсынов атындағы ҚМУ ветеринарлық-санитария кафедрасының жинағынан *Listeria monocytogenes* мұражайлық үш штамы пайдаланды, паспорттық құжаттарға сай морфологиялық, культуральдық, биохимиялық және патогендік қасиеттеріне ие, бас мидан бөлінген, сүрлем және топырақ. Тәжірибеде құрғақ стартер культурасын «Кефир» (өндірісте) қолданылады, сүтқышқылды бактерияның болуы (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*) және кефирлі саңырауқұлақтар. Листерияны культиверлеуі және бөлінуі үшін зерттелген объектілерден пластинкаларға ЕПА 0,004 % надиліков қышқылмен себінді жасады. Листерияның концентрациясы стерильді ешкі сүтінде кефирлі стартер температура режимі мен сүттегі pH-қа байланысты.

Зерттеу көрсетілді, бүкіл температура режимінен ешкі сүтіндегі листерияның сүтқышқылды бактерияның дамуы езілген. Дегенмен, термостатта және бөлме температурасында сүтқышқылды бактерияның антагоникалық әсері білдірілді. *L. monocytogenes* өмір сүруін араласқан температурада кефирлі стартер бүкіл температура режимінде 7 күн ішінде сақталады.

Құрғақ стартер культурасы «Кефир» ешкі сүтіндегі *L. monocytogenes* популяция динамикасында түңілушілікті туындататыны анықталды, бірақ олардың өлуіне әкеліп соқтырады.

Кілтті сөздер: листериоз қоздырғышы, популяция динамикасы, сүтқышқылды бактерия, ешкі сүті.

## THE INFLUENCE OF LACTIC ACID BACTERIA ON THE DYNAMICS POPULATION OF *L. MONOCYTOGENES* IN THE GOAT'S MILK

Gershun V. – The Doctor of Veterinary, professor, Kostanay State University named after A. Baitursynov  
Diner A. – The undergraduate, Kostanay State University named after A. Baitursynov

The results of studies of the effect of lactic acid bacteria on the dynamics of populations of *L. monocytogenes* in sterile goat milk at different temperatures (4 ° C, 18 ° C, 37 ° C). In the experiment, 3 museum *Listeria monocytogenes* strains from the collection of the Department of Veterinary Sanitation Sh. A. Baitursynov that isolated from the brain of sheep, silage and soil and had typical morphological, cultural, biochemical and pathogenic properties. In the experiment, dry starter culture 'Kefir' containing lactic acid bacterium (*Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *Cremoris*) and kefir grains. The

concentration of *Listeria* in the milk is determined by seeding on a plate with a 0.004% IPA nalidixic acid. The concentration of *Listeria monocytogenes* in goat's milk with kefir starter depended on the temperature and pH of the milk.

Studies have shown that lactic acid bacteria inhibit the growth of *Listeria monocytogenes* in goat's milk at all temperatures. However, the most pronounced antagonistic effect of lactic acid bacteria was noted at room temperature and in an oven. *L. monocytogenes* survive in mixed cultures with kefir starter at all temperatures for 7 days.

It was found that the use of a dry starter culture "Kefir" cause depression population dynamics *L.monocytogenes* in goat's milk, but does not lead to their death.

*Keywords: pathogen listeria, population dynamics, lactic acid bacteria, goat's milk.*

Установлено, что молочнокислые бактерий подавляют развитие листерий в кукурузном соке в результате понижения pH среды и образования антибиотических веществ [1]. Имеются сообщения о возможности размножения листерий при pH 4,2 в присутствии молочной кислоты. Листерии выживали в сквашенном молоке и йогурте с pH 3,76-4,06 в течение 9-25 суток при 4°C [2].

Изучение выживаемости листерий в молоке и молочных продуктах, показало, что после инкубации в течение 7 суток концентрация листерий увеличивается в молоке на 4 порядка (со 108 до 10<sup>12</sup> тыс. КОЕ/мл), а в кисломолочных продуктах на три порядка. Установлено, что в контаминированных пробах биокефира и йогуртного продукта листерии способны размножаться в условиях комнатной и пониженной температуры (4°C). Методом сканирующей электронной микроскопии показано, что популяции листерий в образцах биокефира находятся в гетероморфизме с проявлениями L-трансформации, что обусловлено действием биологически активных веществ, синтезируемых молочнокислыми бактериями [3].

При изучении влияния закваски «Бифидум» на жизнеспособность листерий в обезжиренном коровьем молоке установлено, что молочнокислые бактерии вызывали угнетение а затем гибель листерий при 18-37°C на седьмые сутки [4].

Установлено, что молочнокислые бактерии значительно угнетали развитие листерий в кумысе и вызывали их гибель независимо от температурного режима на третьи-пятые сутки [5].

В связи с этим была поставлена цель изучить влияние молочнокислых бактерий на динамику популяции *L.monocytogenes* в козьем молоке. С этой целью использовали сухую заквасочную культуру «Кефир» (Болгария), содержащую молочнокислые бактерии (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *cremoris*) и кефирные грибки.

Для опыта использовали пробы стерилизованного козьего молока, которое разливали в пробирки по 6 мл и вносили в них сухую заквасочную культуру «Кефир». Каждую пробу инфицировали листериями из расчета 3,37-3,4 тыс. КОЕ/мл и выдерживали в условиях холодильника 4°C, при комнатной температуре 18°C и в термостате 37°C в течение 7 суток. Ежедневно определяли pH молока и концентрацию в нем листерий. Для культивирования и выделения листерий из исследуемых объектов производили посева на пластинки МПА с 0,004% налидиксовой кислотой. В качестве контроля использовали стерильное молоко, инфицированное культурой возбудителя листериоза.

Таблица 1 – Динамика популяции *L.monocytogenes* в козьем молоке с кефирной закваской

Тем- ра, °С	Кол-во проб	0 сутки		1 сутки		2 сутки		3 сутки		4 сутки		5 сутки		6 сутки		7сутки	
		pH	тыс. КОЕ/м л	pH	тыс. КОЕ/м л	pH	тыс. КОЕ/м л	pH	тыс. КОЕ/м л	pH	тыс. КОЕ/м л	pH	тыс. КОЕ/м л	pH	тыс. КОЕ/м л	pH	тыс. КОЕ/м л
4	3	6,65	3,4 ± 0,25	6,58 - 6,60	41,3 ± 2,5	6,53 - 6,55	973 ± 77	6,53- 6,54	2300 ± 309	6,53- 6,54	6933 ± 401	6,46 - 6,49	7867 ± 185	6,46 - 6,48	8933 ± 402	6,43 - 6,48	22333 ± 2781
18	3	6,65	3,4 ± 0,25	6,56 - 6,58	663 ± 68	6,42 - 6,43	9333 ± 772	5,30- 5,44	170000 ± 10815	4,46- 4,49	280000 ± 18540	4,52 - 4,55	280000 ± 15450	4,49 - 4,52	230000 ± 21630	4,40 - 4,42	153333 ± 21630
37	3	6,65	3,4 ± 0,25	4,99 - 5,10	8733 ± 834	4,52 - 4,56	98000 ± 6489	4,35- 4,37	236667 ± 43260	4,29- 4,32	296667 ± 37080	4,30 - 4,32	206667 ± 27810	4,30 - 4,32	206667 ± 27810	4,29 - 4,32	96000 ± 618

Динамика популяций *L.monocytogenes* в стерильном козьем молоке с кефирной закваской отражена в табл.1. В результате комплексного воздействия молочнокислой микрофлоры в пробах стерилизованного козьего молока при 4°С pH незначительно понижалась и на 3 сутки составила 6,53-6,54 по сравнению с исходным 6,65. В этих пробах в течение опыта отмечалось незначительное размножение листерий, которое достигло на 7 сутки максимума – 22333±2781КОЕ/мл.

При температуре 18°С pH на 2 сутки составила 6,42-6,43, на 4 сутки - 4,46-4,49 и на 7 сутки - 4,40-4,42. Концентрация листерий в этих пробах увеличилась и достигла максимума на 4 сутки 280000±18540 и затем концентрация незначительно понижалась.

При 37°С на 4-7 сутки отмечалось значительное понижение исходного pH (6,65) до 4,29-4,32. Концентрация листерий достигла максимума на 4 сутки и составила 296667±37080 КОЕ/мл и затем постепенно снижалась и к концу опыта составила 96000±618 КОЕ/мл.

Исследования показали, что молочнокислые бактерии угнетали жизнедеятельность листерий при температуре 18°С и 37°С в результате значительного снижения pH. В аналогичных пробах в холодильнике молочнокислые бактерии не оказывали существенного влияния на динамику популяции листерий.

Таблица 2 – Динамика популяций *L.monocytogenes* в козьем молоке (контроль), тыс.КОЕ/мл

Тем-ра	Кол-во проб	0 сутки	1 сут	2 сут	3 сут	4 сут	5 сут	6 сут	7сут
4°C	3	3,37	34,7	840	2433	7167	8133	9567	26667
		± 0,31	± 3,34	± 52,53	± 123	± 185	± 463	± 309	± 6180
18°C	3	3,37	680	9167	176667	323333	498333	623333	413333
		± 0,31	± 120	± 1081	± 7725	± 24720	± 24720	± 24720	± 64890
37°C	3	3,37	7667	101333	319300	505000	613333	510000	260000
		± 0,31	± 1081	± 463	± 927	± 16995	± 21630	± 43260	± 33990

Динамика популяций *L.monocytogenes* в контрольных пробах стерильного козьего молока представлена в табл.2. При 4°C происходил незначительный рост популяции листерий, которая к концу опыта составляла 26667±6180 тыс.КОЕ/мл.

При 18 °С максимальный рост отмечался на 6 сутки – 623333±24720 КОЕ/мл, на 7 сутки этот показатель снизился до 413333±64890 тыс.КОЕ/мл.

В условиях термостата при 37°C в контрольных образцах отмечался значительный рост популяции листерий, которая на 5 сутки достигла максимума – 613333±21630 тыс.КОЕ/мл, а затем незначительно понижалась. В контрольных пробах популяция листерий была значительно выше, чем опытных.

В ходе исследований нами установлено, что заквасочная культура «Кефир» угнетает популяцию *L.monocytogenes*, но не вызывает их гибель в козьем молоке, независимо от температурного режима.

Результаты наших исследований согласуются с выводами других авторов, которые установили, что молочнокислые бактерии угнетают развитие листерий.

#### Литература:

1. Гершун В.И. Листерии сельскохозяйственных животных.- Алма-ата: Кайнар, 1981, с. 96
2. Ефимочкина Н.Р., Карликанова С.Н. Выделение *L. monocytogenes* из молока и молочных продуктов./ Молочная промышленность, №5, 2004, с.36-38
3. Банникова Д.А., Павлова И.Б., Власов А.А.. Выживаемость и морфология популяций листерий в молочных продуктах (сканирующая электронная микроскопия)// Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии, 2010, № 2.
4. Гершун В. И., Кравченко А.В.- Воздействие молочнокислых бактерий на жизнеспособность листерий в оброте // Perspektywi czneopracowania są nauką i technikami – 2012: materiały międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji 07-15 listopada 2013 roku. – Przemysł: Nauka I studia, 2013. – Vol. 27. – с. 49-51.
5. Гершун В.И., Тыштыкбаева С.Б.- Жизнеспособность *L. monocytogenes* в кумысе // 3i:intellect, idea, innovation–интеллект, идея, инновация.- Костанай, 2013. – N3. – с. 33-35.

#### References:

1. Gershun V.I. Listerioz selskohozyaystvennyih zhyvotnyih.- Almaty: Kaynar, 1981, p. 96.
2. Efimochkina N.R., Karlikanova S.N. Vydelenie *L. monocytogenes* iz moloka i molochnyih produktov./ Molochnaya promyshlennost, №5, 2004, s.36-38.
3. Bannikova D.A., Pavlova I.B., Vlasov A.A.. Vyizhivaemost i morfologiya populyatsiy listeriy v molochnyih produktah (skaniruyuschaya elektronnyaya mikroskopiya)// Problemyi veterinarnoy sanitarii, gigieny i ekologii, 2010, № 2.
4. Gershun V. I., Kravchenko A.V.- Vozdeystvie molochnokislyih bakteriy na zhiznesposobnost listeriy v obrate // Perspektywi czneopracowania są nauką i technikami – 2012: materiały międzynarodowej naukowo-praktycznej konferencji 07-15 listopada 2013 roku. – Przemysł: Nauka I studia, 2013. – Vol. 27. – с. 49-51.
5. Gershun V.I., Tyishtyikbaeva S.B.- Zhiznesposobnost *L. monocytogenes* v kumyise // 3i:intellect, idea, innovation–intellekt, ideya, innovatsiya.- Kostanay, 2013. – N3. – s. 33-35.

#### Сведения об авторах

*Гершун Владимир Иосифович - профессор кафедры ветеринарной санитарии Костанайского государственного университета имени А.Байтурсынова, доктор ветеринарных наук, г.Костанай, ул.Гоголя д.96, тел. 87774127570, e-mail: gershun@mail.ru*

*Динер Анастасия Павловна – магистрант кафедры ветеринарной санитарии Костанайского государственного университета имени А.Байтурсынова, Костанай, ул.Чкалова д.16 кв.27, тел.87775814168, e-mail:anastasia-diner@mail.ru*

*Гершун Владимир Иосифович – А.Байтұрсынов атындағы Қостанай мемлекеттік университеті ветеринариялық санитария кафедрасының профессоры, ветеринария ғылымдарының докторы, Қостанай, Гоголь к. 96, тел. 87774127570, e-mail:gershun@mail.ru*

*Динер Анастасия Павловна - А.Байтұрсынов атындағы Қостанай мемлекеттік университеті ветеринариялық санитария кафедрасының магистранты, Қостанай, Чкалова к. 16–27, тел. 87775814168, e-mail:saniya\_yz@mail.ru*

*Gershun Vladimir Iosefovich – Professor, Department of Veterinary Sanitation; Kostanay State University named after A.Baitursynov, Doctor of Veterinary Sciences, Kostanay, 96 Gogol' st., phone:87774127570, e-mail:[gershun@mail.ru](mailto:gershun@mail.ru)*

*Diner Anastasia Pavlovna – Master of Veterinary Sanitation of Kostanay State University named after A.Baitursynov, Kostanay, Chkalova st.,16-27, phone:8777581416, e-mail:[anastasia-diner@mail.ru](mailto:anastasia-diner@mail.ru)*