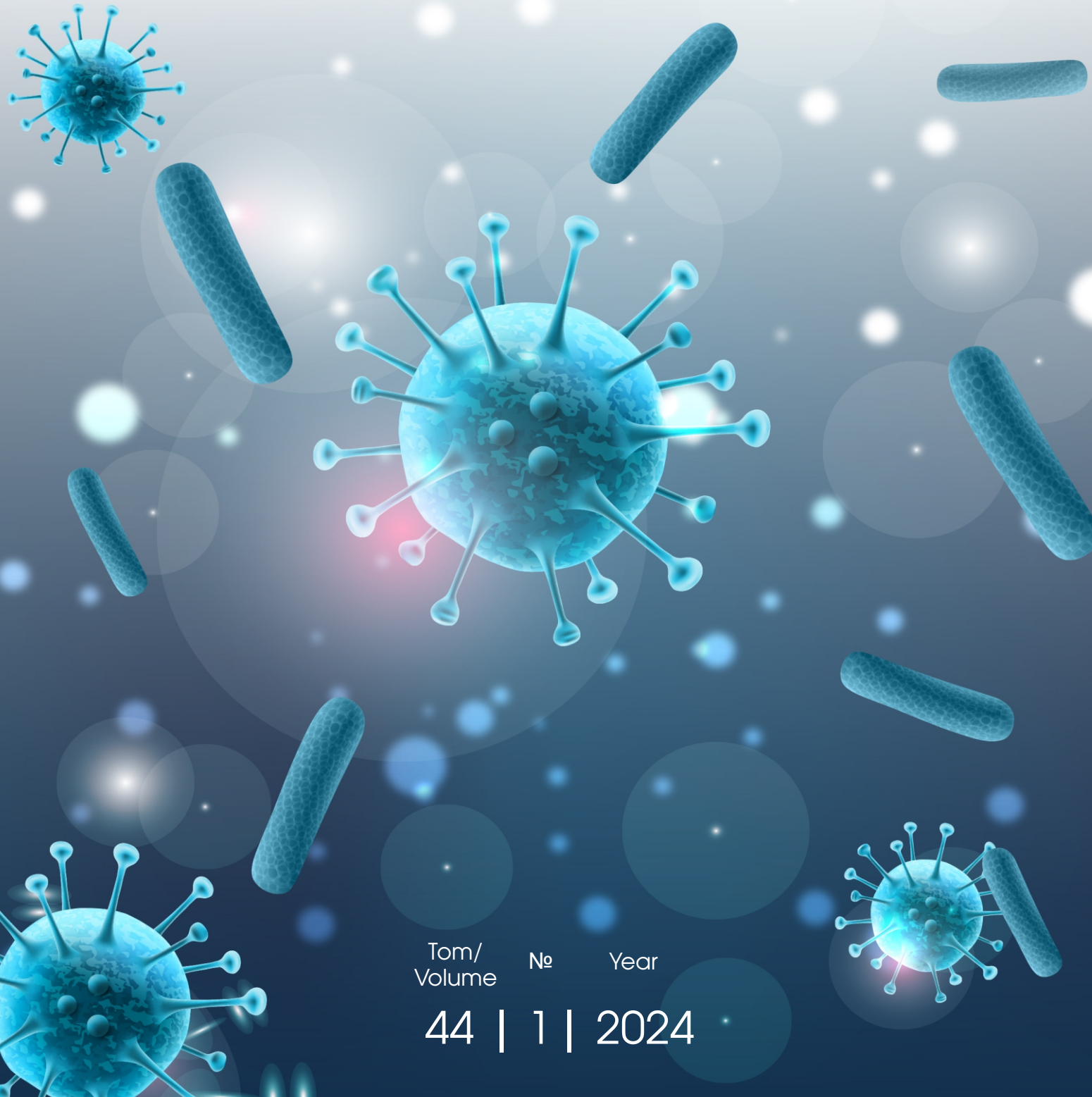
ISSN 2304-585X
ISSN online 3005-222X
ИНДЕКС 76057

МИКРОБИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ВИРУСОЛОГИЯ

MICROBIOLOGY AND VIROLOGY



Том/ Volume № Year
44 | 1 | 2024

LLP «Scientific and Production Center of Microbiology and Virology»
«Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы» ЖШС
ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии»

MICROBIOLOGY AND VIROLOGY
МИКРОБИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ВИРУСОЛОГИЯ
МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

№ 1 (44)

ALMATY
2024

ISSN 2304-585 X
ISSN online 3005-222X
MICROBIOLOGY AND VIROLOGY
№ 1 (44)/2024

Scientific and practical journal
The journal is registered with the Committee of Information and Archives of the Ministry of Culture and Information of the Republic of Kazakhstan.
Certificate of registration No.12821-Z dated 06/12/2012

FOUNDER AND PUBLISHER
© LLP «Research and Production Center of Microbiology and Virology»

Editorial Board
Sadanov A.K. – Doctor of Biological Sciences, Professor, Academician (Editor-in-Chief)
Baimakhanova B.B. – Candidate of Biological Sciences
Aitkeldiyeva S.A. – Doctor of Biological Sciences
Balgimbayeva A.S. – Candidate of Biological Sciences (Executive Editor)
Dr. Azliati Azizan (USA) – PhD
Berezin V.E. - Doctor of Biological Sciences, Professor, Corresponding Member of the NAS RK
Bogoyavlenskiy A.P. – Doctor of Biological Sciences, Professor
Rapoport A. (Latvia) – Doctor of Biological Sciences, Professor
Golovleva L.A. (Russia) – Doctor of Biological Sciences, Professor
Kydyrmanov A.I. - Doctor of Veterinary Sciences
Magay E.B. (Uzbekistan) – candidate of biological sciences
Muradov P.Z. (Azerbaijan) - Doctor of Biological Sciences, Professor, Member of the NAS of Azerbaijan
Nauanova A.P. – Doctor of Biological Sciences, Professor
Ratnikova I.A. – Doctor of Biological Sciences, Associate Professor
Savitskaya I.S. – Doctor of Biological Sciences, Professor
Dr. Sasan Fereidouni (Austria) – DVM, PhD
Kuzmetov A.R. (Uzbekistan) – Doctor of Biological Sciences, Professor
Saubenova M.G. – Doctor of Biological Sciences, Professor
Smirnova I.E. - Doctor of Biological Sciences

EDITORIAL OFFICE ADDRESS:
050010, 105 Bogenbai Batyr str., Almaty
Telephone:+7(727) 291-84-97, 291-97-36
Website: http://imv-journal.kz
Subscription index – 76057
PRINT
LLP «Print Market.kz»
Address: 125 Kazybek bi str., Almaty
telephone: 8 (727) 328-14-67, 225-00-68
Distribution area –
The Republic of Kazakhstan
Frequency – 4 issues per year
Circulation of 500 copies

ISSN 2304-585 X
ISSN online 3005-222X
МИКРОБИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ВИРУСОЛОГИЯ
№ 1 (44)/2024

Научно-практический журнал
Журнал зарегистрирован в Комитете информации и архивов Министерства культуры и информации Республики Казахстан.
Свидетельство о регистрации №12821-Ж от 12.06.2012

УЧРЕДИТЕЛЬ И ИЗДАТЕЛЬ
© ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии»

Редакционная коллегия
Саданов А.К. – доктор биологических наук, профессор, академик (главный редактор)
Баймаханова Б.Б. – кандидат биологических наук
Айткельдиева С.А. – доктор биологических наук
Балгимбаева А.С. – кандидат биологических наук (ответственный редактор)
Dr. Azliati Azizan (USA) – PhD
Березин В.Э. – доктор биологических наук, профессор, член - корреспондент НАН РК
Богоявленский А.П. – доктор биологических наук, профессор
Рапопорт А. (Латвия) – доктор биологических наук, профессор
Головлева Л.А. (Россия) – доктор биологических наук, профессор
Кыдырманов А.И. – доктор ветеринарных наук
Магай Е.Б. (Узбекистан) – кандидат биологических наук
Мурадов П.З. (Азербайджан) – доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент НАН Азербайджана
Науанова А.П. – доктор биологических наук, профессор
Ратникова И.А. – доктор биологических наук, доцент
Савицкая И.С. – доктор биологических наук, профессор
Dr. Sasan Fereidouni (Germany) – DVM, PhD
Кузметов А.Р. (Узбекистан) – доктор биологических наук, профессор
Саубенова М.Г. – доктор биологических наук, профессор
Смирнова И.Э. – доктор биологических наук

АДРЕС РЕДАКЦИИ: 050010,
г. Алматы, ул. Богенбай батыра, 105
Телефон:+7(727) 291-84-97, 291-97-36
Сайт: http://imv-journal.kz
Подписной индекс – 76057
ПЕЧАТЬ
ТОО «Print Market.kz»
Адрес: г. Алматы, ул. Казыбек би, 125
Телефон: 8 (727) 328-14-67, 225-00-68
Территория распространения –
Республика Казахстан
Периодичность – 4 номера в год
Тираж 500 экземпляров

CONTENTS

REWIEW RESEARCH PAPERS

S.D. Zhantlessova, A.K. Sadanov, B.B. Baimakhanova, O.N. Lakhk, A.S. Balgimbaeva, L.P. Trenozhnikova, V.E. Berezin, S.E. Orazymbet, A.S. Kistaubayeva, A.D. Massirbayeva, M.B. Yerdenbekova, T.D. Doolotkeldieva
Diversity of actinomycetes and their role as antibiotic producers.....6

M.G. Shamenova, G.V. Lukmanova, N.G. Klivleyeva, T.I. Glebova, N.T. Saktaganov, A.M. Baimukhametova, E.N. Vetrova
Interspecies transmission and adaptation of influenza virus to dogs.....22

Z.Zh. Turlybayeva, B.B. Baymakhanova, A.K. Sadanov, O.N. Lakhk, S.A. Orazymbet, I.R. Kulmagambetov, A.D. Massirbayeva, Sh.M. Miralimova
Vaginal candidiasis and clinical expression of infection….....42

T.V. Melnikova, A.M. Bagybaeva, N. Ch. Hanif, G.Sh. Mussina, G.A. Jamalova
Biological and ecological characteristics of the salmonellosis causative agent in commercial chickens ….....54

K.G. Mustafin, N.A. Bisko, Zh.B. Suleimenova, A.S. Zhakipbekova, Zh.B. Narmuratova, G.K. Zhumagalieva, R. Izimova, G.B. Admanova
Basidiomycetes - potential biocontrol agents.....86

Z.Zh. Turlybayeva, B.B. Baymakhanova, L.N. Ibragimova, A.K. Sadanov, A.S. Balgimbayeva, S.A. Orazymbet, A.Zh. Sultanova, S.D. Zhantlessova, M.B. Erdenbekova, Sh.M. Miralimova
Antifungal pharmacotherapy in the management of vaginal candidiasis.....104

A.D. Massirbayeva, S.D. Zhantlessova, M.B. Yerdenbekova, T. Doolotkeldieva, A.K. Sadanov, B.B. Baimaxanova, I.A. Ratnikova, S.E. Orazimbet, E.J. Shorabaev
The role of probiotics in the treatment of intestinal infections.....121

S.T. Daugaliyeva, A.T. Daugaliyeva, S. Peletto, A.E. Yelubayeva, K.T. Amirova, A. Kapar, A.I. Abiti
Determination of the floral composition of honey by methods of palynological analysis and metabarcoding of ecological dna.....136

ORIGINAL RESEARCH PAPERS

S.V. Bazhenov, V.O. Matveeva, P.A. Viushinskij, A.A. Kudryavtseva, B.S. Zhoshibekova, M.S. Alexyuk, A.P. Bogoyavlenskiy, I.V. Manukhov
Luminescent microbiota of the Aral sea.....146

A.K. Yernazarova, G.K. Kaiyrmanova, U.T. Shaimerdenova, R.B. Magmiyayev, A.R. Islamova
Identification of indigenous cultures of microorganisms of the genus *Bacillus* and their potential application for enhanced oil recovery.....158

A.A. Arapova, E.K. Assembayeva, A.E. Ryabova, S.N. Sarimbekova, E.Zh. Gabdullina
Assessment of quality indicators of curd products.....176

Ch.A. Azizov, N.A. Zamanbekov, P.H. Sobiech, N.K. Kobdikova, E.M. Korabaev, Sh.B. Turzhigitova, A.A. Zhylgeldieva
Study of antimicrobial activity and immunological properties of some types of medicinal plants used for the treatment of respiratory diseases of lambs.....188

A.M. Baimukhametova, T.I. Glebova, N.T. Saktaganov, S.B. Baiseiit, G.V. Lukmanova, M.G. Shamenova, N.G. Klivleyeva, G.G. Kasymova, G.K. Xetayeva, E.N. Vetrova
Circulation of influenza and other acute respiratory viral infections in almaty and almaty region in 2022-2023.....206

A.A. Zhylgeldieva , E.M. Korabaev, N.A. Zamanbekov, P.H. Sobiech, N.K. Kobdikova, Sh.B. Turzhigitova, M.S. Baymurzayeva, N.S. Bayberekov
The effect of a phytopreparation used for calves dyspepsia on morphological and biochemical blood parameters.....219

G.M. Kaldybekova, Sh.N. Akhmetsadykova, A.A. Saparbekova, M. Vinceković
Obtaining protein hydrolyzate from residual brewer's yeast for use as a feed additive.....233

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

С.Д. Жантлесова, А.К. Саданов, Б.Б. Баймаханова,
О.Н. Лахк, А.С. Балгимбаева, Л.П. Треножникова,
В.Э. Березин, С.Э. Оразымбет, А.С. Кистаубаева,
А.Д. Масирбаева, М.Б. Ерденбекова,
Т.Д. Доолоткельдиева
Разнообразие актиномицетов и их роль как продуцентов антибиотиков.....13

М.Г. Шаменова, Г.В. Лукманова, Н.Г. Кливлеева,
Т.И. Глебова, Н.Т. Сактаганов, А.М. Баймухаметова,
Е.Н. Ветрова
Межвидовой переход и адаптация вируса гриппа к собакам.....32

З.Ж. Турлыбаева, Б.Б. Баймаханова, А.К. Саданов,
О.Н. Лахк, С.Э. Оразымбет, И.Р. Кулмагамбетов,
А.Д. Масирбаева, Ш.М. Миралимова
Вагинальный кандидоз и клинические проявления инфекции.....47

Т.В. Мельникова, А.М. Багыбаева, Н.Ч. Ханиф,
Г.Ш. Мусина, Г.А. Джамалова
Биологическая и экологическая характеристика возбудителя сальмонеллеза сельскохозяйственных кур.....69

К.Г. Мустафин, Н.А. Бисько, Ж.Б. Сулейменова,
А.С. Жакипбекова, Ж.Б. Нармуратова,
Г.К. Жумагалиева, Р. Изимова, Г.Б. Адманова
Базидиомицеты – потенциальные агенты биоконтроля.....95

З.Ж. Турлыбаева, Б.Б. Баймаханова, Л.Н. Ибрагимова,
А.К. Саданов, А.С. Балгимбаева, С.А. Оразымбет,
А.Ж. Султанова, С.Д. Жантлесова, М.Б. Ерденбекова,
Ш.М. Миралимова
Противогрибковые лекарственные средства для лечения вагинального кандидоза.....112

А.Д. Масирбаева, С.Д. Жантлесова, М.Б. Ерденбекова,
Т. Доолоткельдиева, А.К. Саданов, Б.Б. Баймаханова,
И.А. Ратникова, С.Э. Оразымбет, Е.Ж. Шорабаев
Роль пробиотиков в лечении кишечных инфекций.....128

С.Т. Даугалиева, А.Т. Даугалиева, S. Peletto,
А.Е. Елубаева, Қ.Т. Әмірова, А. Капар, А.И. Әбіті
Определение флорального состава меда методами палинологического анализа и метабаркодирования экологической днк.....141

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

С.В. Баженов, В.О. Матвеева, П.А. Вьюшинский,
А.А. Кудрявцева, Б.С. Жошибекова, М.С. Алексюк,
А.П. Богоявленский, И.В. Манухов
Люминесцирующая микрофлора Арала.....151

А.К. Ерназарова, Г.К. Кайырманова,
У.Т. Шаймерденова, Р.Б. Магмияев, А.Р. Исламова
Идентификация аборигенных культур микроорганизмов рода *Bacillus* и их потенциальное применение для увеличения нефтеотдачи пластов...166

А.А. Арапова, Э.К. Асембаева, А.Е. Рябова,
С.Н. Саримбекова, Е.Ж. Габдуллина
Оценка показателей качества творожных продуктов.181

Х.А. Азизов, Н.А. Заманбеков, П.Х. Собиех,
Н.К. Кобдикова, Е.М. Корабаев, Ш.Б. Туржигитова,
А.А. Жыльгелдиева
Изучение антимикробной активности и иммунологических свойств некоторых видов лекарственных растений, применяемых для лечения респираторных болезней ягнят.....196

А.М. Баймухаметова, Т.И. Глебова, Н.Т. Сактаганов,
С.Б. Байсейіт, Г.В. Лукманова, М.Г. Шаменова,
Н.Г. Кливлеева, Г.Г. Касымова, Г.К. Ксетаева,
Е.Н. Ветрова
Циркуляция гриппа и других острых респираторных вирусных инфекций в городе Алматы и Алматинской области в 2022- 2023 годы.....212

А.А. Жыльгелдиева, Е.М. Корабаев, Н.А. Заманбеков,
П.Х. Собиех, Н.К. Кобдикова, Ш.Б. Туржигитова,
М.С. Баймурзаева, Н.С. Байбереков
Влияние фитопрепарата, применяемого при диспепсии телят, на морфологические и биохимические показатели крови 225

Г.М. Калдыбекова, Ш.Н. Ахметсадыкова,
А.А. Сапарбекова, М. Винцекович
Получение белкового гидролизата из остаточных пивных дрожжей для применения в качестве кормовой добавки 239

МАЗМҰНЫ

ШОЛЫМА МАҚАЛАЛАР

С.Д. Жантлесова, А.К. Саданов, Б.Б. Баймаханова, О.Н. Лахк, А.С. Балгимбаева, Л.П. Треножникова, В.Э. Березин, С.Э. Оразымбет, А.С. Кистаубаева, А.Д. Масирбаева, М.Б. Ерденбекова, Т.Д. Доолоткельдиева
Актиномицеттердің әртүрлілігі және олардың антибиотик өндірушілері ретіндегі рөлі.....13

М.Г. Шаменова, Г.В. Лукманова, Н.Г. Кливлеева, Т.И. Глебова, Н.Т. Сактаганов, А.М. Баймухаметова, Е.Н. Ветрова
Тұмау вирусының иттерге тұрақтық берілуі және бейімделуі.....31

З.Ж. Турлыбаева, Б.Б. Баймаханова, А.К. Саданов, О.Н. Лахк, С.Э. Оразымбет, И.Р. Кулмагамбетов, А.Д. Масирбаева, Ш.М. Миралимова
Қынаптық кандидоз және инфекцияның клиникалық көріністері.....47

Т.В. Мельникова, А.М. Бағыбаева, Н.Ч. Ханиф, Г.Ш. Мусина, Г.А. Джамалова
Ауылшаруашылық тауықтарының сальмонеллез қоздырғышының биологиялық және экологиялық сипаттамасы.....68

К.Г. Мустафин, Н.А. Бисько, Ж.Б. Сулейменова, А.С. Жакипбекова, Ж.Б. Нармуратова, Г.К. Жумагалиева, Р. Изимова, Г.Б. Адманова
Базидиомицеттер – биобақылаудың потенциалды агенттер.....94

З.Ж. Турлыбаева, Б.Б. Баймаханова, Л.Н. Ибрагимова, А.К. Саданов, А.С. Балгимбаева, С.А. Оразымбет, А.Ж. Султанова, С.Д. Жантлесова, М.Б. Ерденбекова, Ш.М. Миралимова
Қынаптық кандидозды емдеуге арналған зеңге қарсы дәрілік заттар.....111

А.Д. Масирбаева, С.Д. Жантлесова, М.Б. Ерденбекова, Т. Доолоткельдиева, А.К. Саданов, Б.Б. Баймаханова, И.А. Ратникова, С.Э. Оразымбет, Е.Ж. Шорабаев
Пробиотиктердің ішек инфекцияларын емдеудегі рөлі.....128

С.Т. Дәуғалиева, А.Т. Дәуғалиева, S. Peletto, А.Е. Елубаева, Қ.Т. Әмірова, А. Қапар, А.И. Әбіті
Экологиялық днқ-ны палинологиялық талдау және метабаркодтау арқылы балдың флоралық құрамын анықтау.....140

БІРТУМА МАҚАЛАЛАР

С.В. Баженов, В.О. Матвеева, П.А. Вьюшинский, А.А. Кудрявцева, Б.С. Жошибекова, М.С. Алексюк, А.П. Богоявленский, И.В. Манухов
Арал теңізінің люминесцентті микрофлорасы.....152

А.К. Ерназарова, Г.К. Қайырманова, Ұ.Т. Шаймерденова, Р.Б. Магмияев, А.Р. Исламова
Аборигенді *Bacillus* туысы микроб дақылдарының анықталуы және олардың мұнай шығаруды жоғарылатуында қолданылу мүмкіншілігі.....166

А.А. Арапова, Э.К. Асембаева, А.Е. Рябова, С.Н. Саримбекова, Е.Ж. Габдуллина
Сүзбе өнімдерінің сапа көрсеткіштерін бағалау.....182

Х.А. Азизов, Н.А. Заманбеков, П.Х. Собиех, Н.К. Кобдикова, Е.М. Қорабаев, Ш.Б. Туржигитова, А.А. Жыльгелдиева
Қозылардың респираторлық ауруларына қарсы қолданылатын кейбір дәрілік өсімдіктер түрлерінің антимикробты белсенділігін және иммунологиялық қасиеттерін зерттеу.....197

А.М. Баймухаметова, Т.И. Глебова, Н.Т. Сактаганов, С.Б. Байсейіт, Г.В. Лукманова, М.Г. Шаменова, Н.Г. Кливлеева, Г.Г. Касымова, Г.К. Ксетаева, Е.Н. Ветрова
Алматы қаласы және Алматы облысы бойынша 2022-2023 жылдар аралығында тұмау және жіті респираторлы вирустар айналымы.....212

А.А. Жыльгелдиева, Е.М. Корабаев, Н.А. Заманбеков, П.Х. Собиех, Н.К. Кобдикова, Ш.Б. Туржигитова, М.С. Баймурзаева, Н.С. Байбереков
Бұзаулардың диспепсиясы кезінде қолданылған фитопрепараттың қанның морфологиялық және биохимиялық көрсеткіштеріне әсері.....226

Г.М. Калдыбекова, Ш.Н. Ахметсадыкова, А.А. Сапарбекова, М. Винцекович
Азықтық қоспа ретінде қолдануға арналған ақуыз гидолизатын қалдық сыра ашытқыларынан ал.....239

REVIEW RESEARCH PAPERS

IRSTI: 62.09.39, 31.23.25

S.D. ZHANTLESSOVA[1*], A.K. SADANOV[1], B.B. BAIMAKHANOVA[1], O.N. LAKHK[1], A.S. BALGIMBAEVA[1], L.P. TRENOZHNIKOVA[1], V.E. BEREZIN[1], S.E. ORAZYMBET[1], A.S. KISTAUBAYEVA[1,2], A.D. MASSIRBAYEVA[1], M.B. YERDENBEKOVA[1], T.D. DOOLOTKELDIEVA[3]
[1]Research and Production Center of Microbiology and Virology, Almaty, Kazakhstan
[2]Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan
[3]Kyrgyz-Turkish «Manas» University, Bishkek, Kyrgyzstan
[*]e-mail: sirina.zhantlessova@mail.ru

DIVERSITY OF ACTINOMYCETES AND THEIR ROLE AS ANTIBIOTIC PRODUCERS

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.01

Abstract

Actinomycetes are universal producers of a variety of secondary metabolites, including antibiotics. According to the World Health Organization (WHO), antibiotic resistance is currently one of the biggest threats to human health, food security and development. This review summarizes information about actinomycetes and their ability to produce antibiotics. The search for a variety of natural compounds provides the opportunity to obtain antibiotics with different chemical structures and mechanisms of action. Many ecological niches remain unexplored and need to be explored to increase the diversity of new actinomycetes. Recent advances and promising directions for future research in this area are reviewed. Since different strains of actinomycetes produce different compounds, it is necessary to intensify research on screening and isolating new strains to find new biologically active substances.

Keywords: actinomycetes, antibiotics, secondary metabolites.

Initially, the classification of actinomycetes caused difficulties. Some scientists classified them as *Eubacteriales* or higher bacteria, while others believed that they were closer to hypomycetes or lower fungi. After much speculation and the collection of vast amounts of data, actinomycetes are now classified as the phylum *Actinomycetota*, formerly known as *Actinobacteria* [1]. These are gram-positive bacteria that form extensive branching substrates and aerial mycelium.

For bacteria, they have a relatively large genome (size up to ~12 Mb), consisting of DNA with a high content of guanine-cytosine (up to 74 mol. %). Their growth is characterized by the formation of branching filaments and rods that form a typical unicellular mycelium, especially in the initial stages of growth [2]. Usually, the hyphae do not form septa, but under certain conditions they can become septate. When grown on agar nutrient medium, actinomycetes branch, forming a network of hyphae growing both on and under the surface of the agar. Hyphae on the nutrient medium surface are called aerial hyphae, and hyphae below the surface are called substrate hyphae. *Streptomycetes*, for example, are characterized by the presence of aerial mycelium in laboratory conditions, while the aerial mycelium of *Nocardia* may be invisible. Actinomycetes reproduce by special sporulating bodies or parts of vegetative mycelium [2]. Most actinomycetes are immobile. If motility is present, it is limited to flagellated spores.

Actinomycetes are primarily soil dwellers, but they are also found in a wide variety of aquatic ecosystems, including sediments from the deep sea and even the Mariana Trench. Their presence has been reported in extreme conditions, especially in cryophilic regions, such as in soil

taken from Antarctica and even in desert soil [3,4]. Comparative studies have shown that the population of actinomycetes is most numerous in soils of the surface layer and gradually decreases with increasing depth; individual strains of actinomycetes are present in all soil layers [5].

Actinomycetes are heterotrophs. Many of them are aerobic, and some, such as *Actinomyces*, are anaerobic. Most are strict saprophytes, and some are the result of parasitic or mutualistic relationships with plants and animals. Actinomycetes grow on conventional bacteriological media, such as nutrient, tryptone, blood, starch-casein agar, Gause 1, Gause 2, etc. (Figure 1). *Sporoactinomycetes* require special nutrient media to differentiate and form characteristic spores and pigments. Some of these media are not commercially available and must be prepared in the laboratory. Pale, shiny, hard colonies of *Streptomyces* species on nutrient agar can transform into bright yellow colonies with powdery white aerial mycelium and arthrospore spirals when subcultured on more suitable media such as oatmeal or inorganic salts and starch agar.



Figure 1 – Colonies of *Streptomyces* spp. isolated from soil, grown on agar nutrient media after 7-day incubation at +28°C

Genes involved in the biosynthesis of antibiotics and other metabolites related to secondary metabolism are in the genome of the microorganism and in plasmids. They are grouped into very long operons. It is usually possible to identify coding and regulatory sequences that can stimulate or inhibite gene expression in response to specific environmental changes. These genes encode enzymes involved in the assembly and editing of a bioactive compound, protecting the cell from its toxicity, and facilitating its expulsion into the environment [6,7].

It is worth noting that the production of secondary metabolites in actinomycetes strictly depends on the morphological and physiological differentiation of cells. Such factors as nutrient concentration and availability, presence of competitors in the environment, metabolites and cell density can influence gene expression and the set of enzymes within the cell [8].

Antibiotics are truly called “miracle medicine” for their success in the fight against pathogenic microorganisms. They attack almost all types of microbial activity: DNA, RNA and protein synthesis, membrane function, electron transport, sporulation [9]. Before the discovery of antibiotics, it was impossible to treat people with infectious diseases. Antimicrobial resistance has now become a major public health problem. This has compromised the effective prevention and treatment of a wide range of diseases caused by various pathogens that are no longer sensitive to commonly used antibiotics. To combat the problem of resistance, studies are constantly being conducted to discover new medicines.

The antibiotic activity of a molecule depends on its chemical structure and therefore on its affinity for a specific biological target. Antibiotics produced by actinomycetes are divided into several main classes: aminoglycosides (streptomycin and kanamycin), ansamycins (rifampin), anthracyclines (doxorubicin), β-lactams (cephalosporins), macrolides (erythromycin) and

tetracycline [10–12]. Table 1 shows examples of antibiotics with different mechanisms of action and their producers. The specificity of the action of antibiotics is due to the disruption of the most important processes associated exclusively with the survival of bacteria.

Table 1 – Antibiotics with different mechanisms of action and a variety of genera of actinomycete producers

Actinomycetes	Antibacterial compound	Activity spectrum
Nocardia sp. [13]	Thiolactomycin	Inhibition of fatty acid synthesis
Verrucosispora AB-18-032 [14]	Abyssomycins	Abyssomycin C is active against gram-positive bacteria, including *Enterococcus faecalis*, vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Bacillus thuringiensis*, *Micrococcus luteus* and MRSA
Streptomyces sp. [15]	Chaxamycin D	Effective against gram-positive bacteria, including *Staphylococcus aureus*
Streptomyces griseus [16]	Streptocin	Inhibits bacterial protein synthesis
Streptomyces sp. QD01-2 [17]	Gilvocarcin HE	Effective against *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*
Actinopolyspora [18]	Erythromycin	Effective against gram-positive bacteria, including *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus pyogenes*, *Corynebacterium diphtheria*, *Streptococcus pneumoniae*, *Corynebacterium minutissimum* and *Staphylococcus aureus*, also against gram-negative bacteria, including *Neisseria gonorrhoeae*, *Bordetella pertussis* and *Legionella pneumophila*
Streptomyces ambofaciens [19]	Spiramycin	Inhibits protein biosynthesis due to the rapid destruction of polyribosomes by binding to the 50S ribosomal subunit
Micromonospora rifamycinica [20]	Rifamycin	Effective against mycobacteria
Streptomyces sp. strain CNH365 [21]	Anthracymycin	Effective against *Bacillus anthracis*, MRSA, and VRSA
Amycolatopsis orientalis [22]	Vancomycin	Inhibits cell wall synthesis
Streptomyces formicae KY5 [23]	Formicamycins A-L	Effective against MRSA, vancomycin-resistant enterococci, but does not show activity against gram-negative bacteria

The current arsenal of antimicrobials mainly consists of natural substances derived from either actinomycetes or fungi [24,25]. Among actinomycetes, about 7600 compounds are produced by *Streptomyces* species. Some of these secondary metabolites are potent antibiotics. About 70% of antibiotics are produced by this group of actinomycetes. Moreover, *Streptomyces* produce a variety of non-antibiotic bioactive metabolites, including enzymes, enzyme inhibitors, immunological regulators, antioxidants, and other substances [26,27]. The genus *Streptomyces* includes more than 1100 tested species that produce specialized metabolites that form the basis of ~50% of clinically used antibiotics [28].

In Kazakhstan, the antibiotic roseofungin was developed, the producer of which is the strain *Streptomyces roseoflavus var. roseofungini* AS-20.14. The antibiotic produced by this strain is called “roseofungin” by analogy with the name of the producer culture and the presence of antifungal activity. It was discovered and studied in the 70s of the 20th century by a group of Kazakh scientists. Based on this antibiotic, the antifungal medicine “Roseofungin-AS, ointment 2%” is produced, introduced into clinical use in 2017. The antibiotic is active against pathogens

of superficial and deep mycoses – trichophytosis, microsporia, favus, candidiasis, cryptococcosis, sporotrichosis, chromomycosis, aspergillosis and others [29].

The ability of members of *Streptomyces* genus to produce commercially valuable antibiotics remains unsurpassed, perhaps due to the very large DNA content of these bacteria [30]. Currently, more than 625 genome sequences of *Streptomyces* genus alone are available [31]. Genomic analysis shows that less than 10% of the genetic potential of antibiotic producers is currently being exploited [32], implying the existence of a huge untapped genetic reservoir for drug discovery.

In 2002, the first genome sequence of *Streptomyces* was published [33]. This was the genome sequence of the actinomycete *Streptomyces coelicolor*. The analysis revealed that *S. coelicolor* contains 22 secondary metabolite gene clusters but produces only four of the encoded metabolites under laboratory conditions. Thus, new methods are needed to access the biosynthetic potential of these compounds, including modification of nutrient conditions in the medium, cocultivation with other microorganisms or chemical elicitors, and genetic recombination of biosynthetic gene clusters.

Modern methods of molecular biology and genetics provide researchers with tools to increase the efficiency of searching for new microbial specific molecular targets and biologically active compounds. Screening methods are becoming more sophisticated and accurate and are mainly based on [34]:

(i) using antisense RNA;

(ii) new adjuvant molecules;

(iii) new natural microorganisms resistant to antibiotics;

(iv) new cultivation methods of microorganisms;

(v) activation of silent operons responding to secondary metabolism.

Over the past two decades, the proportion of non-streptomycete actinomycetes (rare actinomycetes) has increased significantly and amounted to 25–30% of all known antibiotics [35].

The term "rare" actinomycetes represents the group of all actinomycete genera excluding *Streptomyces*. The ABL database describes the relative distribution of strains producing bioactive compounds among rare actinomycetes according to the number of bioactive metabolites they produce (Figure 2).

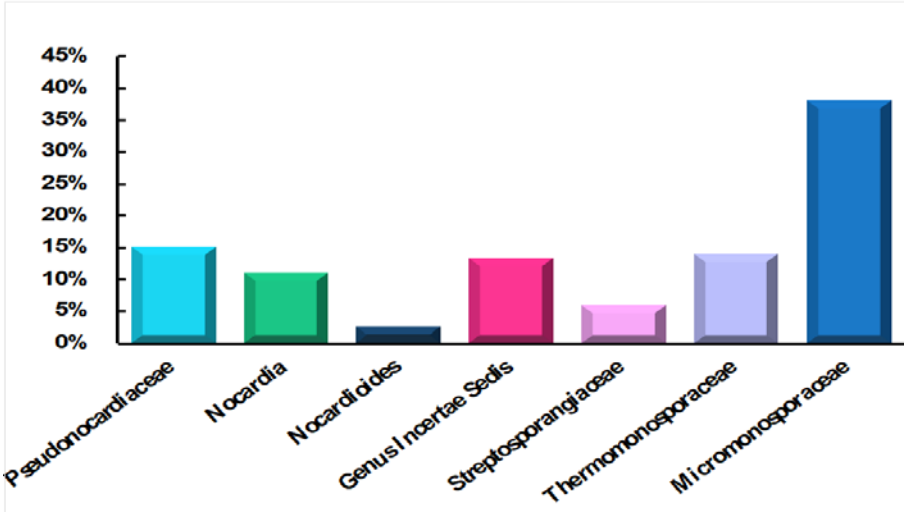


Figure 2 – Distribution of producing strains among rare actinomycetes (according to the classification published in the atlas of actinomycetes of Japan) [36]

Contrary to popular belief, the name “rare actinomycetes” does not reflect their abundance in nature, but the fact that they are relatively little studied compared to *Streptomyces* genus.

Increasing evidence suggests that the “rare” ones should be excluded, as studies of, for example, the genera *Amycolatopsis*, *Micromonospora*, *Pseudonocardia*, *Saccharopolyspora* and *Salinospora* have revealed chemically diverse and novel specialized metabolites. The potential of these genera has been the focus of recent review articles [37–39]. Thus, in the search for new antimicrobial agents, it is necessary to expand research into these underrepresented genera.

The relevance of rare actinomycetes can also be confirmed by the fact that many of the successful antibiotics currently available on the market are produced by them. For example, rifamycin is produced by *Amycolatopsis mediterranei*, erythromycin by *Saccharopolyspora erythraea*, teicoplanin by *Actinoplanes teichomyceticus*, vancomycin by *Amycolatopsis orientalis*, and gentamicin by *Micromonopsora purpurea*.

The longest clinically used antibacterial drug based on rare actinomycetes is the macrolide antibiotic erythromycin, produced by *Saccharopolyspora erythraea*, introduced more than 70 years ago [40]. Macrolide antibiotics inhibit protein synthesis of the pathogen and are particularly useful in the treatment of upper respiratory tract infections. However, erythromycin is susceptible to acid instability, which is associated with common gastrointestinal side effects [41]. To overcome these limitations, semisynthetic variants have been developed, with clarithromycin and azithromycin standing out as the most successful [42].

Vancomycin, a glycopeptide antibiotic produced by *Amycolatopsis orientalis*, inhibits cell wall biosynthesis by binding to a lipid-II precursor [43]. It is an antibiotic with a narrow spectrum of antimicrobial activity. Active against gram-positive microorganisms: *Staphylococcus* spp. (penicillinase-forming and methicillin-resistant strains), *Streptococcus* spp., *Streptococcus pneumoniae* (including penicillin-resistant strains), *Corynebacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Clostridium* spp., *Actinomyces* spp. [43]. Of all the listed gram-positive microorganisms, resistance to vancomycin can be detected in certain strains of enterococci, but it is extremely rare. Vancomycin is not active against gram-negative microorganisms, since its large molecule is not able to penetrate the outer membrane of the microbial cell.

The latest approved antibacterial drug produced by a rare actinomycete is the antibiotic fidaxomicin [44]. Since fidaxomicin contains an 18-membered lactone ring in its structure, it is called a macrocyclic lactone antibiotic. This is a new macrolide drug effective for the treatment of diarrhea caused by *Clostridioides* (formerly *Clostridium*) *difficile* in adults and children over 6 months of age. Fidaxomicin has a bactericidal effect and inhibits RNA synthesis by bacterial RNA polymerase.

Conclusion

Microbial diversity is known to represent enormous potential, and it is reliably estimated that less than 1% of this diversity is currently represented in the world's microbial culture collections. Of particular interest are previously unexplored substrates, ecological niches and regions. These regions are biodiversity hotspots, where it is believed that local environmental influences may lead to the development of new secondary metabolic pathways.

Actinomycetes are among the most important prokaryotes in biotechnology and represent a major reservoir of key secondary metabolites. Diverse genera of rare actinomycetes, which previously could only be discovered by chance using conventional dilution methods, can now be successfully isolated.

Undoubtedly, in the near future we will see new advances in the field of biotechnology and microbiological methods aimed at optimizing the discovery of new antibiotics. The development of new strategies for screening actinomycetes, studies of the mechanisms of antibiotic action and the identification of new targets, as well as the application of new genetic methods and optimization of relevant biosynthetic pathways are expected to expand the production of bioactive compounds.

Funding

The work was carried out within the framework of program-targeted funding of the

Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan (IRN BR21882248 «Development and organization of original domestic medicines production according to GMP standards» (2023-2025).

References:

1 Oren A., Garrity G.M. Valid publication of the names of forty-two phyla of prokaryotes. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2021, 71: 005056. (doi: 10.1099/ijsem.0.005056)

2 Waksman S.A. On the Classification of Actinomycetes. *J Bacteriol*. 1940, 39: 549–558. (doi: 10.1128/jb.39.5.549-558.1940)

3 Chaudhary H.S., Soni B., Shrivastava A.R., Shrivastava S. Diversity and Versatility of Actinomycetes and its Role in Antibiotic Production. *J Appl Pharm Sci*. 2013, 3: S83–S84. (doi: 10.7324/JAPS.2013.38.S14)

4 Ngamcharungchit C., Chaimusik N., Panbangred W., Euanorasetr J., Intra B. Bioactive Metabolites from Terrestrial and Marine Actinomycetes. *Molecules*. 2023, 28, 5915. (doi: 10.3390/molecules28155915)

5 Takahashi Y., Omura S. Isolation of new actinomycete strains for the screening of new bioactive compounds. *J Gen Appl Microbiol*. 2003, 49: 141–154. (doi: 10.2323/jgam.49.141)

6 Nodwell J.R. Antimicrobials: Expressing antibiotic gene clusters. *Nat Microbiol*. 2017, 2: 17061. (doi: 10.1038/nmicrobiol.2017.61)

7 Craney A., Ahmed S., Nodwell J. Towards a new science of secondary metabolism. *J Antibiot (Tokyo)*. 2013, 66: 387–400. (doi: 10.1038/ja.2013.25)

8 Thomashow L.S., Bonsall R.F., David M. Secondary metabolites in soil ecology. Springer, Berlin Heidelberg. 2008, 14: 23–36. (https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-540-74543-3_2)

9 Kohanski M.A., Dwyer D.J., Collins J.J. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nat Rev Microbiol*. 2010, 8: 423–435. (doi: 10.1038/nrmicro2333)

10 Floss H.G., Yu T.-W. Lessons from the rifamycin biosynthetic gene cluster. *Curr Opin Chem Biol*. 1999, 3: 592–597. (doi: 10.1016/S1367-5931(99)00014-9)

11 Kremer L.C., van Dalen E.C, Offringa M., Ottenkamp J., Voûte P.A. Anthracycline-Induced Clinical Heart Failure in a Cohort of 607 Children: Long-Term Follow-Up Study. *Journal of Clinical Oncology*. 2001, 19: 191–196. (doi: 10.1200/JCO.2001.19.1.191)

12 Kollef M.H. New antimicrobial agents for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Crit Care Resusc*. 2009, 11: 282–286. (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20001879/)

13 Sasaki H., Oishi H., Hayashi T., Matsuura I., Ando K., Sawada M. Thiolactomycin, a new antibiotic. II. Structure elucidation. *J Antibiot (Tokyo)*. 1982, 35: 396–400. (doi: 10.7164/antibiotics.35.396)

14 Rahman H., Austin B., Mitchell W., Morris P., Jamieson D., Adams D., Spragg A.M., Schweizer M. Novel Anti-Infective Compounds from Marine Bacteria. *Mar Drugs*. 2010, 8: 498–518. (doi: 10.3390/md8030498)

15 Rateb M.E., Houssen W.E., Arnold M., Abdelrahman M.H., Deng H., Harrison W.T., Okoro C.K., Asenjo J.A., Andrews B.A., Ferguson G., et al. Chaxamycins A–D, Bioactive Ansamycins from a Hyper-arid Desert *Streptomyces* sp. *J Nat Prod*. 2011, 74: 1491–1499. (doi: 10.1021/np200320u)

16 Kupferberg A.B., Styles H., Singher H.O., Waksman S.A. The production of streptocin by different strains of *Streptomyces griseus*. *J Bacteriol*. 1950, 59: 523–526. (doi: 10.1128/jb.59.4.523-526.1950)

17 Hou J., Liu P., Qu H., Fu P., Wang Y., Wang Z., Li Y., Teng X., Zhu W. Gilvocarcin HE: a new polyketide glycoside from *Streptomyces* sp. *J Antibiot (Tokyo)*. 2012, 65: 523–526. (doi: 10.1038/ja.2012.61)

18 Huang S.-X., Zhao L.-X., Tang S.-K., Jiang C.-L., Duan Y., Shen B. Erythronolides H and I, new erythromycin congeners from a new halophilic actinomycete *Actinopolyspora* sp. YIM90600. *Org Lett*. 2009, 11: 1353–1356. (doi: 10.1021/ol900143j)

19 Louns A., Lebrihi A., Benslimane C., Lefebvre G., Germain P. Glycerol effect on spiramycin production and valine catabolism in *Streptomyces ambofaciens*. *Curr Microbiol*. 1995, 31: 304–311. (doi: 10.1007/BF00314585)

20 Majumdar S. Reclassification of *Amycolatopsis orientalis* DSM 43387 as *Amycolatopsis benzoatilytica* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2006, 56: 199–204. (doi: 10.1099/ijs.0.63766-0)

21 Rodríguez V., Martín J., Sarmiento-Vizcaíno A., de la Cruz M., García L.A., Blanco G., Reyes F. Anthracimycin B, a Potent Antibiotic against Gram-Positive Bacteria Isolated from Cultures of the Deep-Sea *Actinomycete Streptomyces cyaneofuscatus* M-169. *Mar Drugs*. 2018, 16. (doi: 10.3390/md16110406)

22 Levine D.P. Vancomycin: A History. *Clinical Infectious Diseases*. 2006, 42: S5–S12. (doi: 10.1086/491709)

23 Devine R., McDonald H.P., Qin Z., Arnold C.J., Noble K., Chandra G., Wilkinson B., Hutchings M.I. Re-wiring the regulation of the formicamycin biosynthetic gene cluster to enable the development of promising antibacterial compounds. *Cell Chem Biol*. 2021, 28: 515-523.e5. (doi: 10.1016/j.chembiol.2020.12.011)

24 Butler M.S., Buss A.D. Natural products — The future scaffolds for novel antibiotics*? Biochem Pharmacol*. 2006, 71: 919–929. (doi: 10.1016/j.bcp.2005.10.012)

25 Newman D.J., Cragg G.M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. *J Nat Prod*. 2007, 70: 461–477. (doi: 10.1021/np068054v)

26 Newman D.J., Cragg G.M. Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J Nat Prod*. 2012, 75: 311–335. (doi: 10.1021/np200906s)

27 Bérdy J. Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading. *J Antibiot* (Tokyo). 2012, 65: 385–395. (doi: 10.1038/ja.2012.27)

28 Hutchings M.I., Truman A.W., Wilkinson B. Antibiotics: past, present and future. *Curr Opin Microbiol*. 2019, 51: 72–80. (doi: 10.1016/j.mib.2019.10.008)

29 Sadanov A.K., Berezin V.E., Trenozhnikova L.P., Balgimbaeva A.S. Mikozy cheloveka i protivogribkovye preparaty. Almaty, 2016, 315. (https://pps.kaznu.kz/kz/Main/FileShow2/213940/76/1/17127/0)

30 Kurtboke I. Bacteriophages [Internet]. Rijeka: IntechOpen. 2012. (doi: 10.5772/1065)

31 Blin K., Pascal Andreu V., de los Santos E.L., Del Carratore F., Lee S.Y., Medema M.H., Weber T. The antiSMASH database version 2: a comprehensive resource on secondary metabolite biosynthetic gene clusters. *Nucleic Acids Res*. 2019, 47: D625–D630. (doi: 10.1093/nar/gky1060)

32 Nett M., Ikeda H., Moore B.S. Genomic basis for natural product biosynthetic diversity in the actinomycetes. *Nat Prod Rep*. 2009, 26: 1362. (doi: 10.1039/b817069j)

33 Bentley S.D., Chater K.F., Cerdeño-Tárraga A.-M., Challis G.L., Thomson N.R., James K.D., Harris D.E., Quail M.A., Kieser H., Harper D., et al. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*. 2002, 417: 141–147. (doi: 10.1038/417141a)

34 Genilloud O. Actinomycetes: still a source of novel antibiotics. *Nat Prod Rep*. 2017, 34: 1203–1232. (doi: 10.1039/C7NP00026J).

35 Ding T., Yang L.-J., Zhang W.-D., Shen Y.-H.. The secondary metabolites of rare actinomycetes: chemistry and bioactivity. *RSC Adv*. 2019, 9: 21964–21988. (doi: 10.1039/c9ra03579f)

36 Tiwari K., Gupta R.K. Rare actinomycetes: a potential storehouse for novel antibiotics. *Crit Rev Biotechnol*. 2012, 32: 108–132. (doi: 10.3109/07388551.2011.562482)

37 Amin D.H., Abdallah N.A., Abolmaaty A., Tolba S., Wellington E.M. Microbiological and molecular insights on rare Actinobacteria harboring bioactive prospective. *Bull Natl Res Cent*. 2020, 44: 5. (doi: 10.1186/s42269-019-0266-8)

38 Ding T., Yang L.-J., Zhang W.-D., Shen Y.-H. The secondary metabolites of rare actinomycetes: chemistry and bioactivity. *RSC Adv.* 2019, 9: 21964–21988. (doi: 10.1039/C9RA03579F)

39 Lazzarini A., Cavaletti L., Toppo G., Marinelli F. Rare genera of actinomycetes as potential producers of new antibiotics. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2000, 78: 399–405. (doi: 10.1023/A:1010287600557)

40 Mcguire J.M., Bunch R.L., Anderson R.C., Boaz H.E., Flynn E.H., Powell H.M., Smith J.W. Ilotycin, a new antibiotic. *Antibiot Chemother (Northfield)*. 1952, 2: 281–283. (https://europepmc.org/article/med/13015030)

41 Weber F.H., Richards R.D., McCallum R.W. Erythromycin: a motilin agonist and gastrointestinal prokinetic agent. *Am J Gastroenterol*. 1993, 88: 485–490. (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8470625/)

42 Dinos G.P. The macrolide antibiotic renaissance. *Br J Pharmacol*. 2017, 174: 2967–2983. (doi: 10.1111/bph.13936)

43 McCormick M.H., McGuire J.M., Pittenger G.E., Pittenger R.C., Stark W.M. Vancomycin, a new antibiotic. I. Chemical and biologic properties. *Antibiot Annu*. 1955, 3: 606–611.

(https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13355336/)

44 Zhanel G.G., Walkty A.J., Karlowsky J.A. Fidaxomicin: A novel agent for the treatment of *Clostridium difficile* infection. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2015, 26: 305–312. (doi: 10.1155/2015/934594)

С.Д. ЖАНТЛЕСОВА[1*], А.К. САДАНОВ[1], Б.Б. БАЙМАХАНОВА[1], О.Н. ЛАХК[1], А.С. БАЛГИМБАЕВА[1], Л.П. ТРЕНОЖНИКОВА[1], В.Э. БЕРЕЗИН[1], С.Э. ОРАЗЫМБЕТ[1], А.С. КИСТАУБАЕВА[1,2], А.Д. МАСИРБАЕВА[1], М.Б. ЕРДЕНБЕКОВА[1], Т.Д. ДООЛОТКЕЛЬДИЕВА[3]

[1]Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы, Алматы, Қазақстан
[2]Әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан
[3]«Манас» қырғыз-түрік университеті, Бішкек, Қырғызстан
[*]e-mail: sirina.zhantlessova@mail.ru

АКТИНОМИЦЕТТЕРДІҢ ӘРТҮРЛІЛІГІ ЖӘНЕ ОЛАРДЫҢ АНТИБИОТИК ӨНДІРУШІЛЕРІ РЕТІНДЕГІ РӨЛІ

Түйін

Актиномицеттер әртүрлі қайталама метаболиттердің, соның ішінде антибиотиктердің әмбебап өндірушілері болып табылады. Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымының (ДДҰ) мәліметтері бойынша, антибиотиктерге төзімділік қазіргі уақытта адам денсаулығына, азық-түлік қауіпсіздігіне және дамуына ең үлкен қауіптердің бірі болып табылады. Бұл шолуда актиномицеттер және олардың антибиотиктер шығару қабілеті туралы мәліметтер жинақталған. Әртүрлі табиғи қосылыстарды іздеу түрлі химиялық құрылымы мен әсер ету механизмі бар антибиотиктерді алуға мүмкіндік береді. Көптеген экологиялық тауашалар әлі зерттелмеген және жаңа актиномицеттердің әртүрлілігін арттыру үшін зерттелуі керек. Осы саладағы болашақ зерттеулердің соңғы жетістіктері мен перспективалық бағыттары қарастырылады. Актиномицеттердің әртүрлі штаммдары әртүрлі қосылыстар түзетіндіктен, жаңа биологиялық белсенді заттарды табу үшін жаңа штаммдарды скринингтік және оқшаулау бойынша зерттеулерді күшейту қажет.

Кілтті сөздер: актиномицеттер, антибиотиктер, қайталама метаболиттер.

МРНТИ: 62.09.39, 31.23.25

С.Д. ЖАНТЛЕСОВА[1*], А.К. САДАНОВ[1], Б.Б. БАЙМАХАНОВА[1], О.Н. ЛАХК[1], А.С. БАЛГИМБАЕВА[1], Л.П. ТРЕНОЖНИКОВА[1], В.Э. БЕРЕЗИН[1], С.Э. ОРАЗЫМБЕТ[1], А.С. КИСТАУБАЕВА[1,2], А.Д. МАСИРБАЕВА[1], М.Б. ЕРДЕНБЕКОВА[1], Т.Д. ДООЛОТКЕЛЬДИЕВА[3]

[1]Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии, Алматы, Казахстан
[2]Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Алматы, Казахстан
[3]Кыргызско-турецкий университет «Манас», Бишкек, Кыргызстан
[*]e-mail: sirina.zhantlessova@mail.ru

РАЗНООБРАЗИЕ АКТИНОМИЦЕТОВ И ИХ РОЛЬ КАК ПРОДУЦЕНТОВ АНТИБИОТИКОВ

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.01

Аннотация

Актиномицеты являются универсальными продуцентами разнообразных вторичных метаболитов, в том числе и антибиотиков. По данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), устойчивость к антибиотикам в настоящее время является одной из самых больших угроз

для здоровья человечества, продовольственной безопасности и развития. В этом обзоре обобщены сведения об актиномицетах и их способности продуцировать антибиотики. Поиск разнообразных природных соединений предоставляет возможность получения антибиотиков с различной химической структурой и механизмом действия. Многие экологические ниши все еще остаются неисследованными, и их необходимо изучить для увеличения разнообразия новых актиномицетов. Рассматриваются последние достижения и перспективные направления исследований в этой области. В связи с тем, что различные штаммы актиномицетов продуцируют разные соединения, необходимо активизировать исследования по скринингу и выделению новых штаммов для изыскания новых биологически активных веществ.

Ключевые слова: актиномицеты, антибиотики, вторичные метаболиты.

Первоначально классификация актиномицетов вызывала затруднения. Одни ученые относили их к *Eubacteriales* или высшим бактериям, а другие полагали, что они ближе к гифомицетам или низшим грибам. В настоящее время актиномицеты классифицируются как тип *Actinomycetota*, ранее известный как *Actinobacteria* [1]. Это грамположительные бактерии, образующие обширные ветвящиеся субстраты и воздушный мицелий.

Для бактерий они обладают относительно большим геномом (размером до ∼12 Мб), состоящим из ДНК с высоким содержанием гуанин-цитозина (до 74 мол. %). Их рост характеризуется формированием ветвящихся нитей и палочек, образующих типичный одноклеточный мицелий, особенно на начальных стадиях роста [2]. Обычно гифы не образуют перегородок, но при определенных условиях могут стать перегородчатыми. При выращивании на агаризованной питательной среде актиномицеты разветвляются, образуя сеть гиф. Гифы на поверхности питательной среды называются воздушными, а гифы под поверхностью — гифами субстрата. Стрептомицеты, например, характеризуются наличием воздушного мицелия в лабораторных условиях, в то время как у нокардий воздушный мицелий может быть невидимым. Актиномицеты размножаются специальными спорулирующими телами или частями вегетативного мицелия [2]. Большинство актиномицетов неподвижны. Если подвижность присутствует, она ограничивается жгутиковыми спорами.

В основном актиномицеты являются обитателями почвы, но также они обнаруживаются в самых разных водных экосистемах, включая отложения, полученные из глубин моря, и даже из Марианской впадины. Сообщалось об их присутствии в экстремальных условиях, особенно в криофильных регионах, например, в почве, взятой из Антарктиды, и даже в почве пустыни [3,4]. Сравнительными исследованиями показано, что популяция актиномицетов наиболее многочисленна в почвах поверхностного слоя и постепенно снижается с увеличением глубины; отдельные штаммы актиномицетов присутствуют во всех слоях почвы [5].

Актиномицеты являются гетеротрофами. Многие относятся к аэробам, но некоторые, например *Actinomyces*, анаэробы. Большинство из них строгие сапрофиты, а некоторые являются результатом паразитических или мутуалистических связей с растениями и животными. Актиномицеты растут на обычных бактериологических средах, таких как питательный, триптон-соевый, кровяной, крахмало-казеиновый агар, Гаузе 1, Гаузе 2 и т. д. (Рисунок 1). *Sporoactinomycetes* требуют особых питательных сред для дифференциации и формирования характерных спор и пигментов. Некоторые из этих сред коммерчески недоступны и их готовят в лаборатории. Бледные, блестящие, твердые колонии видов *Streptomyces* на питательном агаре могут трансформироваться в ярко-желтые колонии с порошкообразным белым воздушным мицелием и спиралями артроспор при субкультивировании на более подходящей среде, как овсяная или агар с неорганическими солями и крахмалом.



Рисунок 1 – Колонии *Streptomyces* spp., выделенных из почвы и выращенные на агаризованных питательных средах, после 7-дневной инкубации при +28°С

Гены, участвующие в биосинтезе антибиотиков и других метаболитов, относящихся к вторичному метаболизму, расположены в геноме микроорганизма и плазмидах. Они сгруппированы в очень длинные опероны. Обычно можно идентифицировать кодирующие и регуляторные последовательности, которые способны стимулировать или ингибировать экспрессию генов, реагируя на определенные изменения окружающей среды. Эти гены кодируют ферменты, участвующие в сборке и редактировании биоактивного соединения, защите клетки от его токсичности и облегчении ее вытеснения в окружающую среду [6, 7].

Стоит отметить, что продукция вторичных метаболитов у актиномицетов строго зависит от морфологической и физиологической дифференцировки клеток. Такие факторы, как концентрация и доступность питательных веществ, появление конкурентов в среде, метаболиты и плотность клеток, могут влиять на экспрессию генов и набор ферментов внутри клетки [8].

Антибиотики поистине называют «чудо-лекарствами» за их успех в борьбе с патогенными микроорганизмами. Они атакуют практически все виды микробной активности: синтез ДНК, РНК и белка, мембранную функцию, транспорт электронов и споруляцию [9]. До открытия антибиотиков лечить людей с инфекционными заболеваниями было невозможно. В настоящее время устойчивость к противомикробным препаратам стала одной из основных проблем общественного здравоохранения. Это поставило под угрозу эффективную профилактику и лечение широкого спектра заболеваний, вызванных различными возбудителями, которые больше не чувствительны к часто используемым антибиотикам. Для борьбы с проблемой резистентности постоянно проводятся исследования по открытию новых лекарственных веществ.

Антибиотическая активность молекулы зависит от ее химической структуры и, следовательно, от ее сродства к конкретной биологической мишени. Антибиотики, продуцируемые актиномицетами, подразделяются на несколько основных классов: аминогликозиды (стрептомицин и канамицин), ансамицины (рифамицин), антрациклины (доксорубицин), β-лактамы (цефалоспорины), макролиды (эритромицин) и тетрациклин [10–12]. В таблице 1 приведены примеры антибиотиков с различными механизмами действия и с их продуцентами. Специфичность действия антибиотиков обусловлена нарушением важнейших процессов, связанных исключительно с выживанием бактерий.

Таблица 1 – Антибиотики с различными механизмами действия и разнообразием родов продуцентов-актиномицетов

Актиномицеты	Антибактериальное соединение	Спектр активности
Nocardia sp. [13]	Тиолактомицин	Ингибирование синтеза жирных кислот
Verrucosispora AB-18-032 [14]	Абиссомицины	Абиссомицин C активен в отношении грамположительных бактерий, включая *Enterococcus faecalis*, устойчивый к ванкомицину *Staphylococcus aureus, Bacillus thuringiensis, Micrococcus luteus* и MRSA
Streptomyces sp. [15]	Хаксамицин D	Эффективен в отношении грамположительных бактерий, в том числе *Staphylococcus aureus*
Streptomyces griseus [16]	Стрептоцин	Ингибирует синтез бактериального белка
Streptomyces sp. QD01-2 [17]	Гилькарцин HE	Эффективен в отношении *Escherichia coli, Bacillus subtilis, Staphylococcus aureus*
Actinopolyspora [18]	Эритромицин	Эффективен в отношении грамположительных бактерий, включая *Listeria monocytogenes, Streptococcus pyogenes, Corynebacterium diphtheria, Streptococcus pneumoniae, Corynebacterium minutissimum* и *Staphylococcus aureus*, также в отношении грамотрицательных бактерий, включая *Neisseria gonorrhoeae, Bordetella pertussis* и *Legionella pneumophila*
Streptomyces ambofaciens [19]	Спирамицин	Ингибирует биосинтез белка за счет быстрого разрушения полирибосом путем связывания 50S-субъединицей рибосом
Micromonospora rifamycinica [20]	Рифампицин	Особенно эффективен против микобактерий
Streptomyces sp. штамм CNH365 [21]	Антрацимицин	Обладает активностью против *Bacillus anthracis,* MRSA и VRSA
Amycolatopsis orientalis [22]	Ванкомицин	Ингибирует синтез клеточной стенки
Streptomyces formicae KY5 [23]	Формикамицины A-L	Эффективны в отношении MRSA, ванкомицин-резистентных энтерококков, но не проявляет активности в отношении грамотрицательных бактерий

Текущий арсенал противомикробных препаратов в основном состоит из природных веществ, продуцируемых либо актиномицетами, либо грибами [24,25]. Среди актиномицетов около 7600 соединений продуцируются видами *Streptomyces*. Некоторые из этих вторичных метаболитов являются мощными антибиотиками. Около 70% антибиотиков синтезируются именно этой группой актиномицетов. Кроме того, *Streptomyces* продуцируют разнообразные неантибиотические биоактивные метаболиты, включая ферменты, ингибиторы ферментов, иммунологические регуляторы, антиоксиданты и прочие вещества [26,27]. Род *Streptomyces* включает более 1100 проверенных видов, продуцирующих специализированные метаболиты, составляющие основу ~50% клинически используемых антибиотиков [28].

В Казахстане разработан антибиотик розеофунгин, продуцентом которого является штамм *Streptomyces roseoflavus var. roseofungini* AS-20.14. Антибиотик, образуемый данным штаммом назван «розеофунгином» по аналогии с названием культуры продуцента и наличием антифунгальной активности. Он был открыт и изучен в 70-х годах XX века группой казахстанских ученых. На основе данного антибиотика производится противогрибковый препарат «Розеофунгин-АС, мазь 2%», введенный в клиническое

применение в 2017 г. Антибиотик активен в отношении возбудителей поверхностных и глубоких микозов – трихофитии, микроспории, фавуса, кандидозов, криптококкоза, споротрихоза, хромомикоза, аспергиллеза и др. [29].

Способность представителей рода *Streptomyces* продуцировать коммерчески значимые антибиотики остается непревзойденной, возможно, из-за очень большого набора ДНК этих бактерий [30]. В настоящее время доступно более 625 последовательностей генома только рода *Streptomyces* [31]. Анализ генома показывает, что в настоящее время используется менее 10% генетического потенциала продуцентов антибиотиков [32], что подразумевает существование огромного неиспользованного генетического резервуара для открытия новых лекарств.

В 2002 г. была опубликована первая последовательность генома *Streptomyces* [33]. Это была последовательность генома актиномицета *Streptomyces coelicolor*. Анализ показал, что *S. coelicolor* содержит 22 кластера генов вторичных метаболитов, но в действительности производит только четыре из кодируемых метаболитов в лабораторных условиях. Таким образом, необходимы новые методы для доступа к биосинтетическому потенциалу этих соединений, включая модификацию питательных условий в среде, кокультивирование с другими микроорганизмами или химическими элиситорами, а также генетическую рекомбинацию кластеров биосинтетических генов.

Современные методы молекулярной биологии и генетики предоставляют исследователям возможности повышения эффективности поиска новых специфических микробных молекулярных мишеней и биологически активных соединений. Методы скрининга становятся более сложными и точными и в основном базируются на [34]:

(i) использовании антисмысловой РНК;
(ii) новых молекулах-адъювантах;
(iii) новых природных микроорганизмах, устойчивых к антибиотикам;
(iv) новых методах культивирования микроорганизмов;
(v) активации молчащих оперонов, отвечающих на вторичный метаболизм.

За последние два десятилетия доля нестрептомицетных актиномицетов (редких актиномицетов) значительно увеличилась и составила 25–30% от всех известных продуцентов антибиотиков [35].

Термин «редкие» актиномицеты представляет собой группу всех родов актиномицетов, за исключением *Streptomyces*. В базе данных ABL описано относительное распределение штаммов-продуцентов биоактивных соединений среди редких актиномицетов по количеству продуцируемых ими биоактивных метаболитов (рисунок 2).

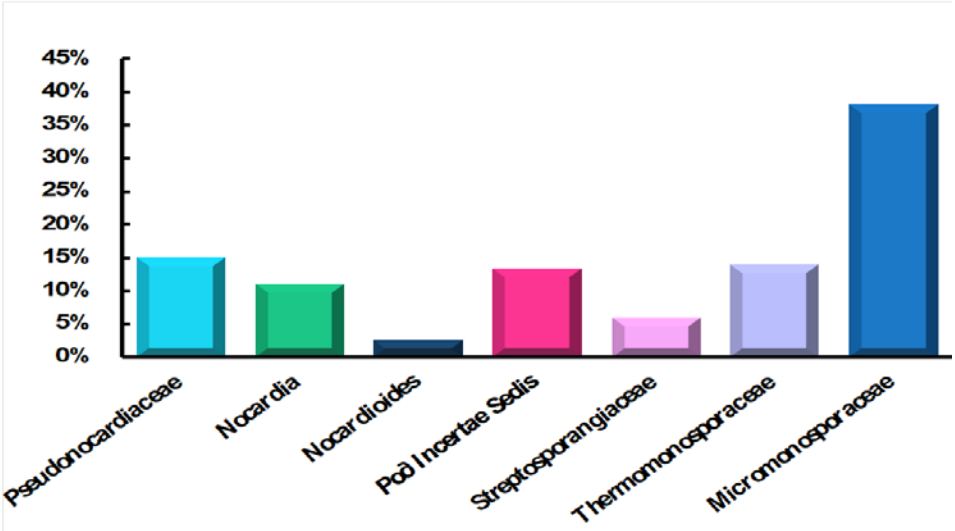


Рисунок 2 – Распределение штаммов-продуцентов среди редких актиномицетов (согласно классификации, опубликованной в атласе актиномицетов Японии) [36]

Вопреки распространённому мнению, наименование «редкие актиномицеты» отражает не их обилие в природе, а то, что они сравнительно мало изучены по сравнению с родом *Streptomyces*. Все больше данных свидетельствует о том, что «редкие» следует исключить, поскольку исследования, например родов *Amycolatopsis, Micromonospora, Pseudonocardia, Saccharopolyspora* и *Salinospora* выявили у них химически разнообразные и новые специализированные метаболиты. Потенциал этих родов был в центре внимания недавних обзорных статей [37–39]. Таким образом, в поисках новых противомикробных агентов необходимо расширять исследования в отношении этих недостаточно представленных родов.

Актуальность редких актиномицетов также подтверждается тем, что многие из успешных антибиотиков, доступных в настоящее время на рынке, производятся ими. Например, рифампицин продуцируется *Amycolatopsis mediterranei*, эритромицин – *Saccharopolyspora erythraea*, тейкопланин – *Actinoplanes teichomyceticus*, ванкомицин – *Amycolatopsis orientalis*, гентамицин – *Micromonopsora purpurea*.

Самым долгим клинически используемым антибактериальным препаратом на основе редких актиномицетов является макролидный антибиотик эритромицин, продуцируемый *Saccharopolyspora erythraea*, введенный в применение более 70 лет назад [40]. Макролидные антибиотики ингибируют синтез белка возбудителя и особенно полезны для лечения инфекций верхних дыхательных путей. Тем не менее, эритромицин подвержен кислотной нестабильности, что сопровождается общими побочными эффектами в области желудочно-кишечного тракта [41]. Для преодоления этих ограничений были разработаны полусинтетические варианты, среди которых кларитромицин и азитромицин выделяются как наиболее успешные [42].

Ванкомицин – гликопептидный антибиотик, продуцируемый *Amycolatopsis orientalis*, ингибирует биосинтез клеточной стенки путем связывания с предшественником липида-II [43]. Это антибиотик с узким спектром противомикробной активности. Активен в отношении грамположительных микроорганизмов: *Staphylococcus* spp. (пенициллиназообразующие и метициллинорезистентные штаммы), *Streptococcus* spp., *Streptococcus pneumoniae* (включая штаммы, резистентные к пенициллину), *Corynebacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Clostridium* spp., *Actinomyces* spp. [43]. Из всех перечисленных грамположительных микроорганизмов резистентность к ванкомицину может быть выявлена у отдельных штаммов энтерококков, однако крайне редко. В отношении грамотрицательных микроорганизмов ванкомицин не активен, поскольку его крупная молекула не способна проникать через внешнюю мембрану микробной клетки.

Последний одобренный антибактериальный препарат, продуцируемый редким актиномицетом – антибиотик фидаксомицин [44]. Поскольку фидаксомицин содержит в своей структуре 18-членное лактонное кольцо, его называют макроциклическим лактонным антибиотиком. Это новый макролидный препарат, эффективный для лечения диареи, вызванной *Clostridioides* (ранее *Clostridium*) *difficile*, у взрослых и детей в возрасте старше 6 месяцев. Фидаксомицин оказывает бактерицидное действие и тормозит синтез РНК бактериальной РНК-полимеразы.

Заключение

Известно, что микробное разнообразие представляет собой огромный потенциал и, по достоверным оценкам, менее 1% этого разнообразия в настоящее время представлено в мировых коллекциях культур микроорганизмов. Особый интерес вызывают ранее неизведанные субстраты, экологические ниши и регионы. Эти регионы являются «горячими точками» биоразнообразия, где влияние местной окружающей среды может привести к развитию новых вторичных метаболических путей.

Актиномицеты являются одними из наиболее важных прокариотов в биотехнологии и представляют собой основной резервуар ключевых вторичных метаболитов.

Разнообразные роды редких актиномицетов, которые раньше можно было обнаружить только случайно с помощью обычных методов разведения, теперь можно успешно изолировать.

Несомненно, в ближайшем будущем нас ждут новые достижения в области биотехнологий и микробиологических методов, направленные на оптимизацию изыскания новых антибиотиков. Ожидается, что разработка новых стратегий скрининга актиномицетов, исследований механизмов действия антибиотиков и установление новых мишеней, а также применение новых генетических методов и оптимизация соответствующих путей биосинтеза расширят получение биоактивных соединений.

Финансирование

Работа выполнена в рамках программно-целевого финансирования Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (ИРН BR21882248 «Разработка и организация производства оригинальных отечественных лекарственных средств по стандартам GMP» (2023-2025 гг.).

Литература:

1 Oren A., Garrity G.M. Valid publication of the names of forty-two phyla of prokaryotes. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2021, 71: 005056. (doi: 10.1099/ijsem.0.005056)

2 Waksman S.A. On the Classification of Actinomycetes. *J Bacteriol*. 1940, 39: 549–558. (doi: 10.1128/jb.39.5.549-558.1940)

3 Chaudhary H.S., Soni B., Shrivastava A.R., Shrivastava S. Diversity and Versatility of Actinomycetes and its Role in Antibiotic Production. *J Appl Pharm Sci*. 2013, 3: S83–S84. (doi: 10.7324/JAPS.2013.38.S14)

4 Ngamcharungchit C., Chaimusik N., Panbangred W., Euanorasetr J., Intra B. Bioactive Metabolites from Terrestrial and Marine Actinomycetes. *Molecules*. 2023, 28, 5915. (doi: 10.3390/molecules28155915)

5 Takahashi Y., Omura S. Isolation of new actinomycete strains for the screening of new bioactive compounds. *J Gen Appl Microbiol*. 2003, 49: 141–154. (doi: 10.2323/jgam.49.141)

6 Nodwell J.R. Antimicrobials: Expressing antibiotic gene clusters. *Nat Microbiol*. 2017, 2: 17061. (doi: 10.1038/nmicrobiol.2017.61)

7 Craney A., Ahmed S., Nodwell J. Towards a new science of secondary metabolism. *J Antibiot (Tokyo)*. 2013, 66: 387–400. (doi: 10.1038/ja.2013.25)

8 Thomashow L.S., Bonsall R.F., David M. Secondary metabolites in soil ecology. Springer, Berlin Heidelberg. 2008, 14: 23–36. (https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-540-74543-3_2)

9 Kohanski M.A., Dwyer D.J., Collins J.J. How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. *Nat Rev Microbiol*. 2010, 8: 423–435. (doi: 10.1038/nrmicro2333)

10 Floss H.G., Yu T.-W. Lessons from the rifamycin biosynthetic gene cluster. *Curr Opin Chem Biol*. 1999, 3: 592–597. (doi: 10.1016/S1367-5931(99)00014-9)

11 Kremer L.C., van Dalen E.C, Offringa M., Ottenkamp J., Voûte P.A. Anthracycline-Induced Clinical Heart Failure in a Cohort of 607 Children: Long-Term Follow-Up Study. *Journal of Clinical Oncology*. 2001, 19: 191–196. (doi: 10.1200/JCO.2001.19.1.191)

12 Kollef M.H. New antimicrobial agents for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Crit Care Resusc*. 2009, 11: 282–286. (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20001879/)

13 Sasaki H., Oishi H., Hayashi T., Matsuura I., Ando K., Sawada M. Thiolactomycin, a new antibiotic. II. Structure elucidation. *J Antibiot (Tokyo)*. 1982, 35: 396–400. (doi: 10.7164/antibiotics.35.396)

14 Rahman H., Austin B., Mitchell W., Morris P., Jamieson D., Adams D., Spragg A.M., Schweizer M. Novel Anti-Infective Compounds from Marine Bacteria. *Mar Drugs*. 2010, 8: 498–518. (doi: 10.3390/md8030498)

15 Rateb M.E., Houssen W.E., Arnold M., Abdelrahman M.H., Deng H., Harrison W.T., Okoro C.K., Asenjo J.A., Andrews B.A., Ferguson G., et al. Chaxamycins A–D, Bioactive Ansamycins from a Hyper-arid Desert *Streptomyces* sp. *J Nat Prod*. 2011, 74: 1491–1499. (doi: 10.1021/np200320u)

16 Kupferberg A.B., Styles H., Singher H.O., Waksman S.A. The production of streptocin by different strains of *Streptomyces griseus*. *J Bacteriol*. 1950, 59: 523–526. (doi: 10.1128/jb.59.4.523-526.1950)

17 Hou J., Liu P., Qu H., Fu P., Wang Y., Wang Z., Li Y., Teng X., Zhu W. Gilvocarcin HE: a new polyketide glycoside from *Streptomyces* sp. *J Antibiot (Tokyo).* 2012, 65: 523–526. (doi: 10.1038/ja.2012.61)

18 Huang S.-X., Zhao L.-X., Tang S.-K., Jiang C.-L., Duan Y., Shen B. Erythronolides H and I, new erythromycin congeners from a new halophilic actinomycete *Actinopolyspora* sp. YIM90600. *Org Lett.* 2009, 11: 1353–1356. (doi: 10.1021/ol900143j)

19 Louns A., Lebrihi A., Benslimane C., Lefebvre G., Germain P. Glycerol effect on spiramycin production and valine catabolism in *Streptomyces ambofaciens. Curr Microbiol*. 1995, 31: 304–311. (doi: 10.1007/BF00314585)

20 Majumdar S. Reclassification of *Amycolatopsis orientalis* DSM 43387 as *Amycolatopsis benzoatilytica* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*. 2006, 56: 199–204. (doi: 10.1099/ijs.0.63766-0)

21 Rodríguez V., Martín J., Sarmiento-Vizcaíno A., de la Cruz M., García L.A., Blanco G., Reyes F. Anthracimycin B, a Potent Antibiotic against Gram-Positive Bacteria Isolated from Cultures of the Deep-Sea *Actinomycete Streptomyces cyaneofuscatus* M-169. *Mar Drugs*. 2018, 16. (doi: 10.3390/md16110406)

22 Levine D.P. Vancomycin: A History. *Clinical Infectious Diseases*. 2006, 42: S5–S12. (doi: 10.1086/491709)

23 Devine R., McDonald H.P., Qin Z., Arnold C.J., Noble K., Chandra G., Wilkinson B., Hutchings M.I. Re-wiring the regulation of the formicamycin biosynthetic gene cluster to enable the development of promising antibacterial compounds. *Cell Chem Biol*. 2021, 28: 515-523.e5. (doi: 10.1016/j.chembiol.2020.12.011)

24 Butler M.S., Buss A.D. Natural products — The future scaffolds for novel antibiotics*? Biochem Pharmacol*. 2006, 71: 919–929. (doi: 10.1016/j.bcp.2005.10.012)

25 Newman D.J., Cragg G.M. Natural Products as Sources of New Drugs over the Last 25 Years. *J Nat Prod*. 2007, 70: 461–477. (doi: 10.1021/np068054v)

26 Newman D.J., Cragg G.M. Natural Products As Sources of New Drugs over the 30 Years from 1981 to 2010. *J Nat Prod*. 2012, 75: 311–335. (doi: 10.1021/np200906s)

27 Bérdy J. Thoughts and facts about antibiotics: Where we are now and where we are heading. *J Antibiot* (Tokyo). 2012, 65: 385–395. (doi: 10.1038/ja.2012.27)

28 Hutchings M.I., Truman A.W., Wilkinson B. Antibiotics: past, present and future. *Curr Opin Microbiol*. 2019, 51: 72–80. (doi: 10.1016/j.mib.2019.10.008)

29 Саданов А.К., Березин В.Э., Треножникова Л.П., Балгимбаева А.С. Микозы человека и противогрибковые препараты. Алматы, 2016, 315. (https://pps.kaznu.kz/kz/Main/FileShow2/213940/76/1/17127/0)

30 Kurtboke I. Bacteriophages [Internet]. Rijeka: IntechOpen. 2012. (doi: 10.5772/1065)

31 Blin K., Pascal Andreu V., de los Santos E.L., Del Carratore F., Lee S.Y., Medema M.H., Weber T. The antiSMASH database version 2: a comprehensive resource on secondary metabolite biosynthetic gene clusters. *Nucleic Acids Res*. 2019, 47: D625–D630. (doi: 10.1093/nar/gky1060)

32 Nett M., Ikeda H., Moore B.S. Genomic basis for natural product biosynthetic diversity in the actinomycetes. *Nat Prod Rep*. 2009, 26: 1362. (doi: 10.1039/b817069j)

33 Bentley S.D., Chater K.F., Cerdeño-Tárraga A.-M., Challis G.L., Thomson N.R., James K.D., Harris D.E., Quail M.A., Kieser H., Harper D., et al. Complete genome sequence of the model actinomycete *Streptomyces coelicolor* A3(2). *Nature*. 2002, 417: 141–147. (doi: 10.1038/417141a)

34 Genilloud O. Actinomycetes: still a source of novel antibiotics. *Nat Prod Rep*. 2017, 34: 1203–1232. (doi: 10.1039/C7NP00026J).

35 Ding T., Yang L.-J., Zhang W.-D., Shen Y.-H.. The secondary metabolites of rare actinomycetes: chemistry and bioactivity. *RSC Adv*. 2019, 9: 21964–21988. (doi: 10.1039/c9ra03579f)

36 Tiwari K., Gupta R.K. Rare actinomycetes: a potential storehouse for novel antibiotics. *Crit Rev Biotechnol*. 2012, 32: 108–132. (doi: 10.3109/07388551.2011.562482)

37 Amin D.H., Abdallah N.A., Abolmaaty A., Tolba S., Wellington E.M. Microbiological and molecular insights on rare Actinobacteria harboring bioactive prospective. *Bull Natl Res Cent*. 2020, 44: 5. (doi: 10.1186/s42269-019-0266-8)

38 Ding T., Yang L.-J., Zhang W.-D., Shen Y.-H. The secondary metabolites of rare actinomycetes: chemistry and bioactivity. *RSC Adv.* 2019, 9: 21964–21988. (doi: 10.1039/C9RA03579F)

39 Lazzarini A., Cavaletti L., Toppo G., Marinelli F. Rare genera of actinomycetes as potential producers of new antibiotics. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2000, 78: 399–405. (doi: 10.1023/A:1010287600557)

40 Mcguire J.M., Bunch R.L., Anderson R.C., Boaz H.E., Flynn E.H., Powell H.M., Smith J.W. Ilotycin, a new antibiotic. *Antibiot Chemother (Northfield).* 1952, 2: 281–283. (https://europepmc.org/article/med/13015030)

41 Weber F.H., Richards R.D., McCallum R.W. Erythromycin: a motilin agonist and gastrointestinal prokinetic agent. *Am J Gastroenterol*. 1993, 88: 485–490. (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8470625/)

42 Dinos G.P. The macrolide antibiotic renaissance. *Br J Pharmacol*. 2017, 174: 2967–2983. (doi: 10.1111/bph.13936)

43 McCormick M.H., McGuire J.M., Pittenger G.E., Pittenger R.C., Stark W.M. Vancomycin, a new antibiotic. I. Chemical and biologic properties. *Antibiot Annu*. 1955, 3: 606–611. (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13355336/)

44 Zhanel G.G., Walkty A.J., Karlowsky J.A. Fidaxomicin: A novel agent for the treatment of *Clostridium difficile* infection. *Can J Infect Dis Med Microbiol*. 2015, 26: 305–312. (doi: 10.1155/2015/934594)

IRSTI: 34.25.29

M.G. SHAMENOVA[1], G.V. LUKMANOVA[1]*, N.G. KLIVLEYEVA[1], T.I. GLEBOVA[1], N.T. SAKTAGANOV[1], A.M. BAIMUKHAMETOVA[1], E.N. VETROVA[2]
[1]Research and production center for microbiology and virology, Almaty, Kazakhstan
[2]National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia
* e-mail: biochem_vir@mail.ru

INTERSPECIES TRANSMISSION AND ADAPTATION OF INFLUENZA VIRUS TO DOGS

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.02

Abstract

Influenza viruses are widespread worldwide pathogens with a wide range of hosts, including virtually all warm-blooded animals. Influenza A viruses have the ability to adapt quickly to new hosts due to rapid mutation and combinative variability based on high mutation rates and segmented genome structure. The ever-growing new strains that break the interspecies barrier and are new zoonotic pathogens are one of the most serious public health problems. Traditionally, peculiar attention is paid to avian influenza viruses as the main reservoir of influenza viruses and the main source of new highly pathogenic strains. However, in recent years, canine influenza has come into focus following several outbreaks in North America and South Asia caused by the influenza H3N8 and H3N2 virus. Thus, influenza epidemics in pets may pose a threat to the emergence of new zoonotic pathogens and their rapid spread due to the high numbers and close contact of these animals with humans, although currently the risks to humans are not well understood. This article presents data on the epidemiology of influenza A viruses in dogs, considers evidence of the ability of influenza viruses to intraspecific transmission, adaptation to the host and the formation of new influenza A virus lineages through genomic reassembly within the dog body. The described facts justify the need for systematic monitoring and in-depth study of canine influenza viruses to ensure preparedness for inevitable outbreaks and pandemics, as well as to identify the role of interaction between pets and humans in the light of the “One Health” concept [1] and the threat of the emergence of new zoonotic viruses.

Keywords: influenza, zoonosis, dog, interspecies transmission, virus adaptation.

Influenza virus is one of the most common pathogens of humans and animals. Influenza viruses type A (IAV) are the most clinically important, systematically causing epidemics of varying severity among humans and animals. Migratory waterbirds and bats are the main natural reservoirs; from them the virus can be transmitted to other host animal species, such as marine mammals, ungulates, raptors, birds of other ecological groups, as well as domestic animals such as ducks, chickens, horses, pigs, cats, dogs, etc. [2-10]. Typically, IAVs are species specific, but from time to time, they acquire the ability for interspecies transmission [11-13]. Due to the segmented RNA genome, IAVs has a high mutation rate and the ability to reassortment, which, combined with high replication rates, allows the virus to quick adapt to other hosts. Which, in turn, creates the risk of the emergence of a new highly pathogenic strain that can reproduce in the human body. Domestic animals in this sense pose a particular threat to human health as most historically recorded human pandemics originate from birds and pigs [14-15]. Currently, the social behavior of dog owners tends to perceive these animals as family members [16-18], in addition, they create a continuous contact lineage from wild animals to pets, and so studying the epidemiology of IAV in dogs and the ways they are transmitted seems to be an urgent task.

Influenza A virus in dogs

Unlike most pets, among which influenza transmission is inefficient due to small numbers in residential homes and low frequency of contact with other members of the same species. Domestic dogs have a wide range of contacts among their relatives, because they require a daily

outing, attend training schools, or they are kept in dense populations such as nurseries or animal shelters. In the street, there is inevitable contact between domestic dogs and feral animals, as well as with synanthropic animals, including birds, and in the countryside with agricultural and wild animals, including recognized carriers of IAV and sources of reassortant strains, increasing the likelihood of infectious agents entering the dog population. This, in turn, can lead to tension of epizootic potential, and close contact of dogs with humans, also creates a risk of exchange of viruses between dogs and humans.

Currently, dogs have mainly five IAV subtypes. These are variants of horse and bird H3N8 [19-21] and H3N2 IAVs [22-24], avian influenza H5N1 and H7N2 viruses, as well as H1N1pdm virus [25-26], nowadays circulating among people as seasonal. Other subtypes have been reported among dogs with respiratory infection, such as H5N6, H5N2, H3N1, H9N2 and H10N8 [27-31]. These are mainly avian influenza viruses or reassortants that include avian, pig, and human IAV genes.

The effective interspecies transmission of IAV depends on the molecular characteristics of both host cells and virion, and the spread of the virus in the new host population depends on adaptation [13, 32]. Among the determinants of IAV specificity priority is given to the structure of receptors on the surface of host cells susceptible to viral surface glycoproteins, especially hemagglutinin (HA).

Equine origin canine influenza

Horse-origin influenza A/H3N8 virus was first reported in dogs in 2004, when the virus caused severe respiratory disease in dogs at the Florida racetrack, where greyhound racing were also took place. Infection was easily transmitted from infected dogs to other ones through direct contact [34], but there is serological evidence for the presence of canine influenza H3N8 virus in 1999. [11, 23, 33, 34]. Genome analysis showed that horses infected the dogs, and then H3N8 was adapted to the new host by point mutation [35]. Persistence of the infection over several years and its geographical spread indicate effective horizontal transmission of influenza virus among dogs [11, 36-38]. Three regions in the USA may be considered endemic for canine influenza viruses (CIV): New York, South Florida, and North Colorado/South Wyoming [39]. There is no evidence that the virus can be transmitted to humans, cats or other animal species [40]. Apart from cases in the USA, CIV-H3N8 infection has been reported in other parts of the world such as Canada, UK, Australia, China and Nigeria, but only sporadically, and no cases of infection have been reported since 2016 [41], so the risk of VIV-H3N8 emergence can be recognized low [42-46]. Apparently, CIV H3N8 circulates in large urban animal shelters where the population density of susceptible animals is high [47–51].

The emergence of CIV-H3N8 occurred because of infection of dogs with influenza from infected horses during contact between animals when kept together [11]. Phylogenetic analysis of СШИМ-H3N8 sequences revealed that all isolates found in dogs form one monophyletic group that differs from the equine influenza virus, which may indicate a single case of interspecies transfer of IAV from horses to dogs [11] with subsequent horizontal spread of infection in the dog population. Comparison of the molecular structure of the equine and canine IAV H3N8 genes revealed key regions that most likely determine the specificity binding of a virion to host cells [23, 52, 53].

The interspecies IAV transfer from horses to dogs is ensured by the HA mutation Trp222Leu, which changes the binding site to receptors [54-56]. At the same time, there is no data on differences in the phenotype of CIV and horses H3N8 in terms of such characteristics as infectivity and replication intensity, suggesting that interspecies H3N8 transition and adaptation to dogs can likely be determined by subtle changes in the biology of the virus [52, 57]. Modern data on the genetics of CIV-H3N8 isolates have revealed significant antigenic drift of the virus already in the body of dogs, as a result of which CIV has now divided into several lineages [58].

Avian origin canine influenza

Most described in the literature avian origin CIVs have the antigenic formula A/H3N2, but along with this, facts of dogs' infection with other avian IAVs were had in China: H9N2 [27, 31], H5N1 [59, 60], H5N6 [61], H5N2 [28].

The subtype of IAV H3N2 in dogs was first discovered in 2006 in China and South Korea and has now rapidly spread and become enzootic in Southeast Asia [22–24, 62–64]. In 2015, CIV H3N2 caused an epidemic outbreak of severe respiratory disease in more than 1000 dogs in the USA [65–67]. The spread of VIVs to North America may have resulted from the importation of dogs from Asia [68, 69]. In late 2022, CIV-H3N2 together with bacterial respiratory pathogens caused a spike in dog morbidity because of filling up shelters and a pet boarding facilities following the easing of public health measures related to the COVID-19 pandemic [70]. Despite local control measures, persistent horizontal transmission has been observed in dog populations in the USA and Canada [65, 68].

Avian IAV H5N1 has been known since 1996 [59]. It has been proven that dogs can become infected with it through direct contact with sick birds, especially when eating them raw [71, 72]. Of particular concern is the broad spectrum of infection: from asymptomatic to severe, even fatal, not limited to damage to the respiratory system. In severe cases, the liver and gastrointestinal tract was manifested also hurt, and in many cases systemic infection. In severe cases, there were also damage to the liver and gastrointestinal tract, and in many cases, it was systemic infection.

A comparison of the molecular structure of the IAV H3N2 genes in dogs and birds revealed that they are very similar, which may indicate transmission of the virus from birds to dogs without any significant change and reassortment, that is, dogs are susceptible to avian IAV H3N2 strains directly [22, 24, 73]. Infection of dogs from birds usually occurs in places where dogs are kept compactly and in direct contact with birds [73-75]. The majority of IAV H3N2 isolated from dogs have at least two HA mutations (Ser159Asn and Trp222Leu), which likely affect the ability of influenza A/H3N2 virus to be successfully transmitted from birds to dogs [66, 76]. Also, a possible factor in the CIV H3N2 adaptation to dogs may be the gradual accumulation of mutations in all eight gene segments [73, 77]. Notably, the rate of evolution of the neuraminidase segment was higher than that of other segments [79]. The evolution and adaptation of IAV inside dogs are confirmed by the fact that, according to Korean researchers, CIV H3N2 isolates 2012-2013 have more pronounced clinical manifestations and have been replicated in higher titers than the IAV 2009.

Experiments have shown that in conditions where dogs live together some CIV H3N2 reassortants have the ability to be effectively transmitted within the population, and alternating generations of viruses replicating in dogs cannot but increase the adaptation level of the virus to dogs [78, 57].

The ability of CIV H3N2 to infect cats naturally without prior adaptation has been noted [10, 79, 80]. This fact may indicate an expansion of the range of potential hosts for this virus and the role of cats in the infection spread, as well as the fact that the adaptive properties of IAV H3N2 of avian origin apply not only to canines, but also to felines, and, possibly, to other representatives of the carnivorous mammal order.

Human origin influenza dogs

Influenza H1N1pdm09 virus has been reported in dogs in rare cases of natural infection, symptoms were mild, and there was virtually no dog-to-dog transmission of the virus. Thus, despite the ability of the virus to replicate in the dogs in the event of experimental infection, it is now possible to say that the IAV H1N1 subtype for dogs is rather uncommon [81].

Avian IAV forms a connection with susceptible cells, complex glycans with α-2.3 bond to sialic acid residues embedded in the membrane of which; mammalian IAV binds to receptors having an α-2,6 connection [82]. It has been proven that dogs have epithelial cells with receptors with α-2,3 linkage, and there is evidence of the presence of receptors with α-2,6 linkage in them,

and although cases of reassortment of viruses of various origins in the body of dogs have not yet been reliably recorded, the probability of this is high [24, 26, 83].

There are a number of serological analysis data from different countries confirming the infection of dogs with seasonal human A(H1N1)pdm09 virus and IAV A/H3N2. Infection in dogs occurred probably directly from their owners [84-87]. This assumption is supported by the following facts: firstly, the most common contact person was a recent influenza-like case, and this was confirmed by PCR in some cases. Secondly, seropositivity to influenza in dogs was almost entirely consistent with influenza prevalence in the human population, both territorially and seasonally. Molecular-genetic comparisons of viruses derived from dogs and humans have shown a high degree of similarity, which makes it possible to hypothesize the possibility of infecting dogs with human viruses without prior adaptation. However, this issue requires study that is more complete.

Reassortment influenza A viruses in dogs

The pig organism is considered the main reservoir for IAV reassortment [88, 89]. This is due to the presence in the epithelium of the pig's respiratory system of both α-2,3 and α-2,6 receptors, therefore the pig is equally easily infected with IAV, swine, avian and human subtypes of IAV, which can already assemble into virions with different combinations of genes of various origins inside the cell. Since both receptors are found in the respiratory tract of dogs [90, 91, 92], they can also be infected with birds and mammals IAV, and this places the dog's body among other possible reservoirs for the generation of strains with new combinations of genes, maintaining the risk of genetic shift and the emergence of viruses with high epidemic potential.

One example of reassortment of HAV genes in dogs is the discovery in 2012 in South Korea of a new A/H3N1 strain. Whole-genome sequencing showed that it contains the IAV H3 gene, and the other seven gene segments of the human origin A(H1N1)pdm09 virus [9]. There are also other examples of reassortment IAV H3N2 in dogs and the human A(H1N1)pdm09 in South Asia [78, 93, 94]. The simultaneous H3N2 IAV and the human influenza A(H1N1)pdm09 virus antibodies detection in the dogs blood further confirms the possibility of co-infection with H3N2 and A(H1N1)pdm09 IAV and, accordingly, the likelihood of recombination of genome segments IAV in dogs [24, 94, 95].

In 2007, multiple genomic reassortment was reported in China between the lineages of porcine origin A/H1N1 and enzootic CIV A/H3N2 cocirculating in dogs [96]. A CIV-H3N2 has been discovered, where the NS gene is included in a monophyletic group with avian influenza A/H5N1 viruses, which indicates probable recombination between the canine A/H3N2 and avian A/H5N1 viruses [91, 97]. The examples of multiple recombination of CIV, and especially the H3N2 viruses, with IAVs adapted to birds and mammals, were described in the literature, convincingly show that the avian, human and canine virus genomes are indeed compatible and, accordingly, dogs should be considered as vessels for the recombination of genes with the formation of new reassortant IAV.

Despite the continued circulation of two IAV (H3N8 and H3N2), cases of interspecies infection in dogs with other IAVs did not lead to the infection spread and gradually disappeared. To date, there have been no reported cases of interspecies influenza transmission from dogs to humans [98]. However, infected humans can be a source for animal infection, and the potential for co-infection dogs from different sources creates the conditions for reassortment and, as a consequence, the potential for the virus to cross the species barrier between pets and people. New reassortant viruses may subsequently spread widely among dogs and potentially pose a threat to human health.

Based on the information accumulated to date on IAV interspecies transmission, adaptation and reassortment in dogs, and the molecular mechanisms that substantiate and accompany these processes, it seems relevant to conduct systematic monitoring of canine influenza within the framework of the "One World, One Health" concept. Serological surveillance of IAV in dog populations may identify areas for study of emerging zoonotic influenza viruses that pose a risk to human health. Also, the information obtained about influenza viruses circulating in dog

populations can serve in the selection of viruses for the creation of effective vaccines [99], which, in turn, can contribute to the prevention and control of future epidemics, since all known most dangerous outbreaks of respiratory viral infections among humans were zoonotic.

Funding

The work was carried out within the grant of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan AP19677712 «Virom of Dogs (*Canis Familiaris*) as a potential source of zoonotic infections».

References:

1 WHO-One Health. Available: https://www.euro.who.int/ru/health-topics/health-emergencies/pages/action-plan/strategic-pillar-1/one-health (Accessed: 2022-02-02)

2 Herfst S, Imai M, Kawaoka Y, Fouchier A. Avian influenza virus transmission to mammals. In: influenza pathogenesis and control – volume 1. Current topics in microbiology and Immunology. *Cham (Switzerland)*: Springer, 2014: 137-55.

3 Krog J., Hansen M., Holm E., Hjulsager C., Chriel M., Pedersen K, Andersen L., Abildstrom M., Jensen T. and Larsen L. Influenza A(H10N7) virus in dead harbor seals, Denmark. *Emerg Infect Dis*, 2015, 21(4): 684-687 (doi:10.3201/eid2104.141484)

4 Klivleyeva N., Ongarbayeva N., Baimukhametova A., Saktaganov N., Lukmanova G., Glebova T., Sayatov M., Berezin V., Nusupbaeva G. and Aikimbayev A. Detection of influenza virus and pathogens of acute respiratory viral infections in population of Kazakhstan during 2018-2019 epidemic season. *Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, 11(1): 137-147. (doi.: 10.15789/2220-7619-DOI-1348)

5 Waddell G.H., Teigland M.B., Sigel M.M. A new influenza virus associated with equine respiratory disease. *J Am Vet Med Assoc*, 1963, 143: 587–590.

6 Guo Y, Wang M, Kawaoka Y, Gorman O, Ito T, Saito T, Webster RG. Characterization of a new avian-like influenza A virus from horses in China. *Virology*, 1992, 188: 245–255. (doi: 10.1016 /0042-6822(92)90754-D)

7 Saktaganov N., Klivleyeva N., Ongarbayeva N., Glebova T., Lukmanova G. and Baimukhametova A. Study on antigenic relationships and biological properties of swine influenza A/H1N1 virus strains isolated in Northern Kazakhstan in 2018. Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology], 2020, 55(2): 355-363 Available: http://agrobiology.ru/2-2020saktaganov-eng.html (doi: 10.15389/agrobiology.2020.2.355eng)

8 Harder, T. and Vahlenkamp, T. Influenza virus infections in dogs and cats. *Vet Immunol Immunopathol*, 2010, 134: 54-60.

9 Song D., Moon H., An D., Jeoung H., Kim H., Yeom M., Hong M., Nam J., Park S., Park B., Oh J., Song M., Webster R., Kim J. and Kang B. A novel reassortant canine H3N1 influenza virus between pandemic H1N1 and canine H3N2 influenza viruses in Korea. *Gen Virol*, 2012, 93: 551–554 (doi:10.1099/vir.0.037739-0)

10 Song D., An D., Moon H., Yeom M., Jeong H., Jeong W., Park S., Kim H., Han S., Oh J., Park B., Kim J., Poo H., Webster R., Jung K. and Kang B. Interspecies transmission of the canine influenza H3N2 virus to domestic cats in South Korea, 2010. *Gen Virol*, 2011, 92(Pt 10): 2350-2355 (doi:10.1099/vir.0.033522-0)

11 Crawford P.C., Dubovi E.J., Castleman W.L., Stephenson I., Gibbs E.P., Chen L., Smith C., Hill R.C., Ferro P., Pompey J., Bright R.A., Medina M.J., Johnson C.M., Olsen C.W., Cox N.J., Klimov A.I., Katz J.M., Donis R.O. Transmission of equine influenza virus to dogs. *Science*, 2005, 310: 482–485 (doi: 10.1126/science.1117950)

12 Wright P.F., Webster R.G. *Orthomyxoviruses*. In: Fields / B.N. and Knipe, D.M. (eds.), Lippincott W. & W, Philadelphia, 2001.

13 Joseph U., Su Y. C., Vijaykrishna D., & Smith G. J. The ecology and adaptive evolution of influenza A interspecies transmission. *Influenza Other Respir Viruses*, 2017, 11: 74–84 (doi: 10.1111/irv.12412)

14 Peiris J. S., de Jong M. D., Guan Y. Avian influenza virus (H5N1): a threat to human health. *Clin Microbiol Rev*, 2007, 20: 243–67 (doi: 10.1128/CMR.00037-06)

15 Yang Z.F., Mok C.K., Peiris J.S., Zhong N.S. Human infection with a novel Avian influenza A(H5N6) virus. *N Engl J Med*, 2015, 373: 487–9 (doi: 10.1056/NEJMc1502983)

16 Charles N. Post-human families? Dog-human relations in the domestic sphere. *Sociol Res Online*, 2016, 21: 1–12 (doi: 10.5153/sro.3975)

17 Irvine L, Cilia L. More-than-human families: pets, people, and practices in multispecies households. *Sociol Comp*, 2017, 11 (doi: 10.1111/soc4.12455)

18 AVMA. 2017–2018 Pet Ownership & Demographics Sourcebook. Schaumburg, IL., *American Veterinary Medical Association*, 2018.

19 Said A.W., Usui T., Shinya K., Ono E., Ito T., Hikasa Y., Matsuu A., Takeuchi T., Sugiyama A., Nishii N., Yamaguchi T. A sero-survey of subtype H3 influenza A virus infection in dogs and cats in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 2011, 73: 541–544 (doi: 10.1292/jvms.10-0428)

20 Coppinger R., Coppinger L. *Dogs: A Startling New Understanding of Canine Origin, Behavior & Evolution*. Scribner, New York, 2001.

21 Wasik B.R., Voorhees I., Parrish C.R. Canine and Feline Influenza. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2021, 11(1): a038562 (doi: 10.1101/cshperspect.a038562)

22 Li S., Shi Z., Jiao P., Zhang G., Zhong Z., Tian W., Long L. P., et al. Avian-origin H3N2 canine influenza A viruses in Southern China. *Infect Genet Evol*, 2010, 10: 1286–8 (doi: 10.1016/j.meegid.2010.08.010)

23 Payungporn S., Crawford P.C., Kouo T.S., Chen L.M., Pompey J, CastlemanWL, et al. Influenza A virus (H3N8) in dogs with respiratory disease, Florida. *Emerg Infect Dis*, 2008, 14: 902–8 (doi: 10.3201/eid1406.071270)

24 Song D., Kang B., Lee C., Jung K., Ha G., Kang D, et al. Transmission of avian influenza virus (H3N2) to dogs. *Emerg Infect Dis*, 2008, 14: 741–6 (doi: 10.3201/eid1405.071471)

25 Wang G., Borges L.G., Stadlbauer D., Ramos I., González M.C., He J., Ding Y., Wei Z., Ouyang K., Huang W., Simon V., Fernandez-Sesma A., Krammer F., Nelson M. I., Chen Y., García-Sastre A. Characterization of swine-origin H1N1 canine influenza viruses. *Emerging Microbes & Infections*, 2019, 8(1): 1017-1026 (doi: 10.1080/22221751.2019.1637284)

26 Borland S., Gracieux P., Jones M., Mallet F., Yugueros-Marcos J. Influenza A Virus Infection in Cats and Dogs: A Literature Review in the Light of the “One Health” Concept. *Frontiers in Public Health*, 2020, 8 (doi: 10.3389/fpubh.2020.00083)

27 Sun X., Xu X., Liu Q., Liang D., Li C., He Q., et al. Evidence of avian-like H9N2 influenza A virus among dogs in Guangxi, China. *Infect Genet Evol*, 2013, 20: 471–5 (doi: 10.1016/j.meegid.2013.10.012)

28 Song Q.Q., Zhang F.X., Liu J.J., Ling Z.S., Zhu Y.L., Jiang S.J., et al. Dog to dog transmission of a Novel influenza virus (H5N2) isolated from a canine. *Vet Microbiol*, 2013, 161: 331–3 (doi: 10.1016/j.vetmic.2012.07.040)

29 Lee I.H., Le T.B., Kim H.S., Seo S.H. Isolation of a novel H3N2 influenza virus containing a gene of H9N2 avian influenza in a dog in South Korea in 2015. *Virus Genes*, 2016, 52(1): 142-5 (doi: 10.1007/s11262-015-1272-z)

30 Su S., Qi W., Zhou P., Xiao C., Yan Z., Cui J., Jia K., Zhang G., Gray G.C., Liao M., Li S. First evidence of H10N8 avian influenza virus infections among feral dogs in live poultry markets in Guangdong province, China. *Clin Infect Dis*, 2014, 59(5): 748-50.

31 Zhang K., Zhang Z., Yu Z., Li L., Cheng K., Wang T., et al. Domestic cats and dogs are susceptible to H9N2 avian influenza virus. *Virus Res*, 2013, 175: 52–7 (doi: 10.1016/j.virusres.2013.04.004)

32 Long J.S., Mistry B., Haslam S.M., Barclay W.S. Host and viral determinants of influenza A virus species specificity. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17: 67–81 (doi: 10.1038/s41579-018-0115-z)

33 Anderson T.C., Bromfield C.R., Crawford P.C., Dodds W.J., Gibbs E.P., Hernandez J.A. Serological evidence of H3N8 canine influenza-like virus circulation in USA dogs prior to 2004. *Vet J*, 2012, 191: 312–6 (doi: 10.1016/j.tvjl.2011.11.010)

34 Xie X., Ma K., Liu Y. Influenza A virus infection in dogs: Epizootiology, evolution and prevention - A review. *Acta Vet Hung*, 2016, Mar, 64(1): 125-39 (doi: 10.1556/004.2016.014)

35 Buonavoglia C., Martella V. Canine respiratory viruses. *Vet. Res*, 2007, 38(2): 355–73 (doi:10.1051/vetres:2006058)

36 Rosenthal M. CIV may have started circulating earlier than originally thought. *Veterinary Forum. Veterinary Learning Systems*, 2007, 24 (7): 12.

37 Klivleyeva N.G., Glebova T.I., Shamenova M.G., Saktaganov N.T. Influenza A viruses circulating in dogs: A review of the scientific literature. *Open Veterinary Journal*, 2022, 12(5): 676–687

(doi: 10.5455/OVJ.2022.v12.i5.12)

38 Tremayne J. Canine flu confirmed in 22 states, *DVM*, 2006, 1: 66–67.

39 Yin S. Managing canine influenza virus. *Veterinary Forum. Veterinary Learning Systems*, 2007, 24 (9): 40–41.

40 Crawford C., Dubovi E.J., Donis R.O., Castleman W.L., Gibbs E.P.J., Hill R.C., Katz J.M., Ferro P., Anderson T.C. Canine Influenza Virus Infection. *Proceedings of the North American Veterinary Conference. Retrieved, 2006*, 2007-04-21.

41 Kruth S.A., Carman S., Weese J.S. Seroprevalence of antibodies to canine influenza virus in dogs in Ontario. *Can Vet J*, 2008, 49: 800–802.

42 Kirkland P.D., Finlaison D.S., Crispe E., Hurt A.C. Influenza virus transmission from horses to dogs, Australia. *Emerg Infect Dis*, 2010, 16: 699–702 (doi: 10.3201/eid1604.091489)

43 Daly J.M., Blunden A.S., MacRae S., Miller J., Bowman S.J., Kolodziejek J., et al. Transmission of equine influenza virus to english foxhounds. *Emerg Infect Dis*, 2008, 14: 461–4 (doi: 10.3201/eid1403.070643)

44 Zhou P., Huang S., Zeng W., Zhang X.,Wang L., Fu X., et al. Seroepidemiological evidence of subtype H3N8 influenza virus infection among pet dogs in China. *PLoS ONE*, 2016, 11 (doi: 10.1371/journal.pone.0159106)

45 Oluwayelu D.O., Bankole O., Ajagbe O., Adebiyi A.I., Abiola J.O., Otuh P., et al. Serological survey for emerging canine H3N8 and H3N2 influenza viruses in pet and village dogs in Nigeria. *Afr J Med Med Sci*, 2014, 43: 111–5.

46 Schulz B., Klinkenberg C., Fux R., Anderson T., de Benedictis P., Hartmann K. Prevalence of canine influenza virus A (H3N8) in dogs in Germany. *Vet J*, 2014, 202: 184–5 (doi: 10.1016/j.tvjl.2014.07.008)

47 Hayward J.J., Dubovi E.J., Scarlett J.M., Janeczko S., Holmes E.C., Parrish C.R. Microevolution of canine influenza virus in shelters and its molecular epidemiology in the United States. *J Virol*, 2010, 84: 12636–45 (doi: 10.1128/JVI.01350-10)

48 Barrell E.A., Pecoraro H.L., Torres-Henderson C., Morley P.S., Lunn K.F., Landolt G.A. Seroprevalence and risk factors for canine H3N8 influenza virus exposure in household dogs in Colorado. *J Vet Inter Med*, 2010, 24: 1524–7 (doi: 10.1111/j.1939-1676.2010.0616.x)

49 Pecoraro H.L., Bennett S., Huyvaert K.P., Spindel M.E., Landolt G.A. Epidemiology and ecology of H3N8 canine influenza viruses in US shelter dogs. *J Vet Inter Med*, 2014, 28: 311–8 (doi: 10.1111/jvim.12301)

50 Holt D.E., Mover M.R., Brown D.C. Serologic prevalence of antibodies against canine influenza virus (H3N8) in dogs in a metropolitan animal shelter. *J Am Vet Med Assoc*, 2010, 237: 71–3 (doi: 10.2460/javma.237.1.71)

51 Dalziel B.D., Huang K., Geoghegan J.L., Arinaminpathy N., Dubovi E.J., Grenfell B.T., et al. Contact heterogeneity, rather than transmission efficiency, limits the emergence and spread of canine influenza virus. *PLoS Pathog*., 2014, 10: e1004455 (doi: 10.1371/journal.ppat.1004455)

52 Rivailler P., Perry I.A., Jang Y., Davis C.T., Chen L.M., Dubovi E.J., et al. Evolution of canine and equine influenza. (H3N8) viruses co-circulating between 2005 and 2008. *Virology*, 2010, 408: 71–9 (doi: 10.1016/j.virol.2010.08.022)

53 Feng K.H., Gonzalez G., Deng L., Yu H., Tse V.L., Huang L., et al. Equine and Canine Influenza H3N8 viruses show minimal biological differences despite phylogenetic divergence. *J Virol*, 2015, 89: 6860 (doi: 10.1128/JVI.00521-15)

54 Collins P.J., Vachieri S.G., Haire L.F., Ogrodowicz R.W., Martin S.R., Walker P.A., et al. Recent evolution of equine influenza and the origin of canine influenza. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 11175–80 (doi: 10.1073/pnas.1406606111)

55 Wen F., Blackmon S., Olivier A.K., Li L., Guan M., Sun H., et al. MutationW222L at the receptor binding site of hemagglutinin could facilitate viral adaption from Equine influenza A(H3N8) virus to dogs. *J Virol*, 2018, 92: e01115-18 (doi: 10.1128/JVI.01115-18)

56 He W., Li G., Wang R., Shi W., Li K., Wang S., et al. Host-range shift of H3N8 canine influenza virus: a phylodynamic analysis of its origin and adaptation from equine to canine host. *Vet Res*, 2019, 50: 87 (doi: 10.1186/s13567-019-0707-2)

57 Gonzalez G., Marshall J.F., Morrell J., Robb D., McCauley J.W., Perez D.R., et al. Infection and pathogenesis of canine, equine, and human influenza viruses in canine tracheas. *J Virol*, 2014, 88: 9208–19 (doi: 10.1128/JVI.00887-14)

58 Pecoraro H.L., Bennett S., Spindel M.E., Landolt G.A. Evolution of the hemagglutinin gene of H3N8 canine influenza virus in dogs. *Virus Genes*, 2014, 49: 393–9 (doi: 10.1007/s11262-014-1102-8).

59 Li X., Zhang Z., Yu A. Global and local persistence of influenza A(H5N1) virus. *Emerg Infect Dis J*, 2014, 20: 1287–95 (doi: 10.3201/eid2008. 130910)

60 Zhao F.R., Zhou D.H., Zhang Y.G., Shao J.J., Lin T., Li Y.F., et al. Detection prevalence of H5N1 Avian influenza virus among stray cats in eastern China. *J Med Virol*, 2015, 87: 1436–40 (doi: 10.1002/jmv.24216)

61 Yu Z., Gao X.,Wang T., Li Y., Li Y., Xu Y., et al. Fatal H5N6 Avian influenza virus infection in a domestic cat and wild birds in China. *Sci Rep*, 2015, 5: 10704 (doi: 10.1038/srep10704).

62 Crispe E., Finlaison D., Hurt A., Kirkland P. Infection of dogs with equine influenza virus: evidence for transmission from horses during the Australian outbreak. *Aust Vet J*, 2011, 89: 27–8 (doi: 10.1111/j.1751-0813.2011.00734.x)

63 Bunpapong N., Nonthabenjawan N., Chaiwong S., Tangwangvivat R., Boonyapisitsopa S., Jairak W., et al. Genetic characterization of canine influenza A virus (H3N2) in Thailand. *Virus Genes*, 2014, 48: 56–63 (doi: 10.1007/s11262-013-0978-z)

64 Wang H., Jia K., Qi W., Zhang M., Sun L., Liang H., et al. Genetic characterization of avian-origin H3N2 canine influenza viruses isolated from Guangdong during 2006–2012. *Virus Genes*, 2013, 46: 558–62 (doi: 10.1007/s11262-013-0893-3)

65 Voorhees I.E.H., Glaser A.L., Toohey-Kurth K., Newbury S., Dalziel B.D., Dubovi E.J., et al. Spread of canine influenza A(H3N2) Virus, United States. *Emerg Infect Dis*, 2017, 23: 1950–7 (doi: 10.3201/eid2312.170246)

66 Pulit-Penaloza J.A., Simpson N., Yang H., Creager H.M., Jones J., Carney P., et al. Assessment of molecular, antigenic, and pathological features of canine influenza A(H3N2) viruses that emerged in the United States. *J Infect Dis*, 2017, 216: S499–507 (doi: 10.1093/infdis/jiw620)

67 Voorhees I.E.H., Dalziel B.D., Glaser A., Dubovi E.J., Murcia P.R., Newbury S., et al. Multiple incursions and recurrent epidemic fade-out of H3N2 canine influenza A virus in the United States. *J Virol*, 2018, 92: e00323–18 (doi: 10.1128/JVI.00323-18)

68 Weese J.S. Emergence and containment of canine influenza virus A(H3N2), Ontario, Canada, 2017–2018. *Emerg Infect Dis*, 2019, 25: 1810–6 (doi: 10.3201/eid2510.190196)

69 Ward A. Canine influenza reported in several dogs in Orillia. *Barrie*, Retrieved 2018-03-06.

70 Anthes E. Dog Flu Is Back, Too. *New York Times. Archived from the original on 17 December 2022*. Retrieved 17 December 2022.

71 Songserm T., Amonsin A., Jamon R., Sae-Heng N., Pariyothorn N., Payungporn S., Theamboonlers A., Chutinimitkul S., Thanawongnuwech R., Poovorawan Y. Fatal avian influenza A H5N1 in a dog, *Emerging Infect. Dis*, 2006, 12(11): 1744–7 (doi:10.3201/eid1211.060542)

72 Moreno A., Bonfante F., Bortolami A., Cassaniti I., Caruana A., Cottini V., Cereda D., Farioli M., Fusaro A., Lavazza A., Lecchini P., Lelli D., Maroni Ponti A., Nassuato C., Pastori A., Rovida F., Ruocco L., Sordilli M., Baldanti F., Terregino C. Asymptomatic infection with clade 2.3.4.4b highly pathogenic avian influenza A(H5N1) in carnivore pets, Italy, April 2023. *Euro Surveill. 2023 Aug*, 28(35) (doi: 10.2807/1560-7917.ES.2023.28.35.2300441)

73 He W., Li G., Zhu H., Shi W., Wang R., Zhang C., et al. Emergence and adaptation of H3N2 canine influenza virus from avian influenza virus: an overlooked role of dogs in interspecies transmission. *Transbound Emerg Dis*, 2019, 66: 842–51 (doi: 10.1111/tbed.13093)

74 Lee C., Song D., Kang B., Kang D., Yoo J., Jung K., et al. A serological survey of avian origin canine H3N2 influenza virus in dogs in Korea. *Vet Microbiol*, 2009, 137: 359–62 (doi: 10.1016/j.vetmic.2009.01.019)

75 Su S., Li H.T, Zhao F.R, Chen J.D, Xie J.X, Chen Z.M, et al. Avian-origin H3N2 canine influenza virus circulating in farmed dogs in Guangdong, China. *Infect Genet Evol*, 2013, 14: 444–9 (doi: 10.1016/j.meegid.2012.11.018)

76 Yang G., Li S., Blackmon S., Ye J., Bradley K.C., Cooley J., et al. Mutation tryptophan to leucine at position 222 of haemagglutinin could facilitate H3N2 influenza A virus infection in dogs. *J Gen Virol*, 2013, 94: 2599–608 (doi: 10.1099/vir.0.054692-0)

77 Lee I.W., Kim Y.I., Lim G.J., Kwon H.I., Si Y.J., Park S.J., et al. Comparison of the virulence and transmissibility of canine H3N2 influenza viruses and characterization of their canine adaptation factors. *Emerg Microbes Infect*, 2018, 7: 17 (doi: 10.1038/s41426-017-0013-x)

78 Moon H., Hong M., Kim J.K., Seon B., Na W., Park S.J., et al. H3N2 canine influenza virus with the matrix gene from the pandemic A/H1N1 virus: infection dynamics in dogs and ferrets. *Epidemiol. Infect*, 2015, 143: 772–80 (doi: 10.1017/S0950268814001617)

79 Jeoung H.Y., Lim S.I., Shin B.H., Lim J.A., Song J.Y., Song D.S., et al. A novel canine influenza H3N2 virus isolated from cats in an animal shelter. *Vet Microbiol*, 2013, 165: 281–6 (doi: 10.1016/j.vetmic.2013.03.021)

80 Kim H., Song D., Moon H., Yeom M., Park S., Hong M., et al. Interand intraspecies transmission of canine influenza virus. (H3N2) in dogs, cats, and ferrets. *Influenza Other Respir Viruses*, 2013, 7: 265–70 (doi: 10.1111/j.1750-2659.2012.00379.x)

81 Lin D., Sun S., Du L., Ma J., Fan L., Pu J., et al. Natural and experimental infection of dogs with pandemic H1N1/2009 influenza virus. *J Gen Virol*, 2012, 93: 119–23 (doi: 10.1099/vir.0.037358-0)

82 Ito T.J., Couceiro N.S.S., Kelm S., Baum L.G., Krauss S., Castrucci M.R., et al. Molecular basis for the generation in pigs of Influenza A viruses with Pandemic potential. *J Virol*, 1998, 72: 7367–73 (doi: 10.1128/JVI.72.9.7367-7373.1998)

83 Lyoo K.S, Kim J.K, Kang B., Moon H., Kim J., Song M., et al. Comparative analysis of virulence of a novel, avian-origin H3N2 canine influenza virus in various host species. *Virus Res*, 2015, 195: 135–40 (doi: 10.1016/j.virusres.2014.08.020)

84 Jang H., Jackson Y.K., Daniels J.B., Ali A., Kang K.I., Elaish M., et al. Seroprevalence of three influenza A viruses. (H1N1, H3N2, and H3N8) in pet dogs presented to a veterinary hospital in Ohio. *J Vet Sci*, 2017, 18: 291–8 (doi: 10.4142/jvs.2017.18.S1.291)

85 Ramírez-Martínez L.A., Contreras-Luna M., De la Luz J., Manjarrez M.E., Rosete D.P., Rivera-Benitez J.F., et al. Evidence of transmission and risk factors for influenza A virus in household dogs and their owners. *Influenza Other Respir Viruses*, 2013, 7: 1292–6 (doi: 10.1111/irv.12162)

86 Yin X., Zhao F.R., Zhou D.H., Wei P., Chang H.Y. Serological report of pandemic and seasonal human influenza virus infection in dogs in southern China. *Arch Virol*, 2014, 159: 2877–82 (doi: 10.1007/s00705-014-2119-y)

87 Ali A., Daniels J.B., Zhang Y., Rodriguez-Palacios A., Hayes-Ozello K., Mathes L., Lee C.W. Pandemic and seasonal human influenza virus infections in domestic cats: prevalence, association with respiratory disease, and seasonality patterns. *J Clin Microbiol*, 2011, 49: 4101–5 (doi: 10.1128/JCM. 05415-11)

88 Wille M., Holmes E.C. The Ecology and Evolution of Influenza Viruses. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2020, 10(7): a038489 (doi: 10.1101/cshperspect.a038489)

89 Ma W., Kahn R.E., Richt J.A. The pig as a mixing vessel for influenza viruses: human and veterinary implications. *J Mol Genet Med*, 2008, 3: 158–66.

90 Ning Z.Y., Wu X.T., Cheng Y.F., Qi W.B., An Y.F., Wang H., et al. Tissue distribution of sialic acid-linked influenza virus receptors in beagle dogs. *J Vet Sci*, 2012, 13: 219–22 (doi: 10.4142/jvs.2012.13.3.219)

91 Wang H., Wu X., Cheng Y., An Y., Ning Z. Tissue distribution of human and avian type sialic acid influenza virus receptors in domestic cat. *Acta Vet Hung*, 2013, 61: 537–46 (doi: 10.1556/AVet.2013.030)

92 Zhao H., Zhou J., Jiang S., Zheng B.J. Receptor binding and transmission studies of H5N1 influenza virus in mammals. *Emerg Microbes Infect*, 2013, 2: e85 (doi: 10.1038/emi.2013.89)

93 Su S., Chen J., Jia K., Khan S.U., He S., Fu X., et al. Evidence for subclinical influenza A(H1N1)pdm09 virus infection among dogs in Guangdong Province, China. *J Clin Microbiol*, 2014, 52: 1762–5 (doi: 10.1128/JCM.03522-13)

94 Hong M., Na W., Yeom M., Park N., Moon H., Kang B.K., et al. Complete genome sequences of H3N2 canine influenza virus with the matrix gene from the Pandemic A/H1N1 virus. *Genome Announc*, 2014, 2: e01010-14 (doi: 10.1128/genomeA.01010-14)

95 Dundon W.G., De Benedictis P., Viale E., Capua I. Serologic evidence of pandemic (H1N1) 2009 infection in dogs, Italy. *Emerg Infect Dis*, 2010, 16: 2019–21 (doi: 10.3201/eid1612.100514)

96 Chen Y., Trovao N.S., Wang G., Zhao W., He P., Zhou H., et al. Emergence and evolution of novel reassortant influenza A viruses in canines in Southern China. *MBio*, 2018, 9: e00909–18 (doi: 10.1128/mBio.00909-18)

97 Zhu H., Hughes J., Murcia P.R. Origins and evolutionary dynamics of H3N2 canine influenza virus. *J Virol*, 2015, 89: 5406–18 (doi: 10.1128/JVI. 03395-14)

98 Lee C.T., Slavinski S., Schiff C., Merlino M., Daskalakis D., Liu D., et al. Outbreak of influenza A(H7N2) among cats in an animal shelter with cat-tohuman transmission-New York City, 2016. *Clin Infect Dis*, 2017, 65: 1927–9 (doi: 10.1093/cid/cix668)

99 Rodriguez L., Nogales A., Reilly E.C., Topham D.J., Murcia P.R., Parrish C.R., et al. A live-attenuated influenza vaccine for H3N2 canine influenza virus. *Virology*, 2017, 504: 96–106 (doi: 10.1016/j.virol.2017.01.020)

М.Г. ШАМЕНОВА[1], Г.В. ЛУКМАНОВА[1]*, Н.Г. КЛИВЛЕЕВА[1], Т.И. ГЛЕБОВА[1], Н.Т. САКТАГАНОВ[1], А.М. БАЙМУХАМЕТОВА[1], Е.Н. ВЕТРОВА[2]
[1]Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы, Алматы, Қазақстан
[2]Академик Н.Ф. Гамалея атындағы эпидемиология және микробиология ұлттық ғылыми-зерттеу орталығы, Мәскеу, Ресей
*e-mail: biochem_vir@mail.ru

ТҰМАУ ВИРУСЫНЫҢ ИТТЕРГЕ ТҮРАРАЛЫҚ БЕРІЛУІ ЖӘНЕ БЕЙІМДЕЛУІ

Түйін

Тұмау вирустары бүкіл әлемде кең таралған қоздырғыштар болып табылады және вирустар иелерінің кең тараған, соның ішінде барлық жылы қанды жануарлар бар. А тұмауы вирустары жоғары мутация жылдамдығына және сегменттелген геномдық құрылымға негізделген жылдам мутациялық және комбинативті өзгергіштікке байланысты жаңа иелеріне тез бейімделу қабілетіне ие. А тұмауы вирустары жоғары мутация жиілігіне және сегменттелген геном құрылымына негізделген жылдам мутациялық және комбинативті өзгергіштікке байланысты тез бейімделу қабілетіне ие. Тұраралық тосқауылды бұзатын және жаңа зооноздық қоздырғыштар болып табылатын үнемі дамып келе жатқан жаңа штамдар Денсаулық сақтау үшін ең маңызды мәселелердің бірі болып табылады. Тұмау вирустарының негізгі резервуары және жаңа жоғары патогенді штаммдардың пайда болуының негізгі көзі ретінде құс тұмауы вирустарына ерекше назар аударылады. Алайда соңғы жылдары Солтүстік Америка мен Оңтүстік Азияда H3N8 және H3N2 тұмауы вирусының қосалқы түрлерінен туындаған бірнеше індеттен кейін ит тұмауына назар аударыла бастады. Осылайша, үй жануарларындағы тұмау эпидемиялары жаңа зооноздық қоздырғыштардың пайда болу қаупін тудыруы мүмкін және олардың тез таралуы осы жануарлардың көптігі мен адамдармен тығыз байланысына байланысты болуы мүмкін, дегенмен қазіргі уақытта адамдар үшін қауіптер жақсы зерттелмеген. Бұл мақалада иттердегі А тұмау вирустарының эпидемиологиясы туралы мәліметтер келтірілген, тұмаудың тұраралық берілу қабілеті, осы түрлердің иесіне бейімделуі және геномдық реассортация арқылы А тұмауының жаңа түрлерінің пайда болуы туралы дәлелдер қарастырылған. Сипатталған фактілер ит тұмауы вирустарын жүйелі бақылау және терең түрде зерттеу қажеттілігін негіздейді, бұл дегеніміз пандемияға дайындықты қамтамасыз етеді, сонымен қатар "Бірыңғай денсаулық" тұжырымдамасы аясында үй жануарлары мен адамдардың өзара әрекеттесуінің рөлін және жаңа зоонозды вирустардың пайда болу қаупін анықтайды [1].

Кілтті сөздер: тұмау, зооноз, ит, вирустың тұраралық таралуы, вирустың бейімделуі.

МРНТИ: 34.25.29

М.Г. ШАМЕНОВА[1], Г.В. ЛУКМАНОВА[1]*, Н.Г. КЛИВЛЕЕВА[1], Т.И. ГЛЕБОВА[1], Н.Т. САКТАГАНОВ[1], А.М. БАЙМУХАМЕТОВА[1], Е.Н. ВЕТРОВА[2]
[1]Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии, Алматы, Казахстан
[2]Национальный исследовательский центр эпидемиологии
и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи, Москва, Россия
* e-mail: biochem_vir@mail.ru

МЕЖВИДОВОЙ ПЕРЕХОД И АДАПТАЦИЯ ВИРУСА ГРИППА К СОБАКАМ

doi: 10.53729/MV-AS.2024.01.02

Аннотация

Вирусы гриппа являются широко распространенными во всем мире патогенами, имеющими обширный круг хозяев, включая практически всех теплокровных животных. Вирусы гриппа А обладают способностью быстро адаптироваться к новым хозяевам, благодаря быстрой мутационной и комбинативной изменчивости, основанной на высокой скорости мутаций и сегментированном строении генома. Постоянно появляющиеся новые штаммы, преодолевающие межвидовой барьер и представляющие собой новые зоонозные патогены, являются одной из самых серьезных проблем для общественного здравоохранения. Традиционно особое внимание уделяется вирусам гриппа птиц как основному резервуару вирусов гриппа и главному источнику образования новых высокопатогенных штаммов. Но в последние годы в фокус внимания исследователей попал грипп собак после нескольких вспышек в Северной Америке и Южной Азии, вызванные подтипами вируса гриппа H3N8 и H3N2. Таким образом, эпидемии гриппа у домашних питомцев могут представлять собой угрозу появления новых зоонозных патогенов и быстрого их распространения в силу высокой численности и близких контактов этих животных с людьми, хотя в настоящее время риски для людей недостаточно изучены. В данной статье приведены данные об эпидемиологии вирусов гриппа А у собак, рассмотрены доказательства способности гриппа к внутривидовой передаче, адаптации этих вирусов к хозяину и формирование новых линий гриппа А посредством геномной реассортации уже внутри организма собак. Описанные факты обосновывают необходимость систематического мониторинга и углубленного изучения вирусов гриппа собак для обеспечения готовности к неизбежным вспышкам и пандемиям, а также выявления роли взаимодействия домашних питомцев и человека в свете концепции «Единое здоровье» [1] и угрозы появления новых зоонозных вирусов.

Ключевые слова: грипп, зооноз, собака, межвидовая передача вируса, адаптация вируса.

Вирус гриппа является одним из наиболее распространенных патогенов людей и животных. Вирусы гриппа типа А (ВГА) являются наиболее важными с клинической точки зрения, систематически вызывая эпидемии разной степени тяжести среди людей и животных. Перелетные околоводные птицы и летучие мыши являются основными естественными резервуарами, от них вирус может переноситься на другие виды животных-хозяев, такие как морские млекопитающие, копытные, хищные, птицы других экологических групп, а также домашние животные, такие как утки, куры, лошади, свиньи, кошки, собаки и т.д. [2-10]. ВГА обычно видоспецифичны, но время от времени приобретают способность к межвидовой трансмиссии [11-13]. Благодаря сегментированному РНК-геному ВГА обладает высокой частотой мутаций и способностью к реассортации, что в сочетании с высокой скоростью репликации позволяет вирусу быстро адаптироваться и приспосабливаться к другим хозяевам, что, в свою очередь, создает риск появления нового высокопатогенного штамма, способного размножаться в организме человека. Особую угрозу для здоровья человека представляют домашние животные, так, большинство исторически зафиксированных человеческих пандемий имеют происхождение от птиц и свиней [14,15]. В настоящее время социальное поведение владельцев собак имеет тенденцию воспринимать этих животных в качестве

членов семьи [16-18], кроме того, они создают непрерывную контактную линию от диких животных к домашним питомцам, в связи с чем, изучение эпидемиологии ВГА у собак и путей их передачи представляется актуальной задачей.

Вирус гриппа А у собак

В отличие от большинства домашних питомцев, среди которых передача гриппа неэффективна в силу содержания в небольших количествах в жилых домах и низкой частоты контактов с другими представителями того же вида, домашние собаки имеют широкий круг контактов среди своих сородичей, поскольку требуют ежедневного выгула, посещают школы дрессировки, либо содержатся в плотных популяциях, таких как питомники или приюты для животных. В условиях улицы неизбежны контакты между домашними собаками и одичавшими, а также с синантропными животными, включая птиц, а в сельской местности - с сельскохозяйственными и дикими животными, включая общепризнанных носителей ВГА и источников штаммов-реассортантов, возрастает вероятность попадания инфекционных агентов в популяцию собак. Это, в свою очередь, может привести к напряжению эпизоотического потенциала, а тесные контакты собак с людьми также создают риск обмена вирусами между собаками и человеком.

В настоящее время у собак обнаружены главным образом пять подтипов ВГА. Это варианты лошадиного и птичьего ВГА H3N8 [19-21] и H3N2 [22-24], вирусы птичьего гриппа H5N1 и H7N2, а также вирус H1N1pdm [25, 26], в настоящее время циркулирующий среди людей как сезонный. Имеются сообщения об обнаружении среди собак с признаками респираторной инфекции других подтипов, в частности H5N6, H5N2, H3N1, H9N2 и H10N8 [27-31]. В основном это вирусы гриппа птичьего происхождения или реассортанты, включающие гены птичьих, свиных и человеческих ВГА.

Эффективная межвидовая трансмиссия ВГА зависит от молекулярных особенностей как клеток хозяина, так и вириона, а распространение вируса в популяции нового хозяина зависит от адаптации [13, 32]. Среди детерминант специфичности ВГА приоритет имеет строение рецепторов на поверхности клеток хозяина, восприимчивых к вирусным поверхностным гликопротеидам, особенно к гемагглютинину (НА).

Грипп собак лошадиного происхождения

Вирус гриппа подтипа A/H3N8 лошадиного происхождения впервые зарегистрирован у собак в 2004 году, когда этот вирус вызвал тяжелое респираторное заболевание у собак на ипподроме во Флориде, где проводились собачьи бега. Инфекция легко передавалась от инфицированных другим собакам при прямом контакте [34], однако имеются серологические доказательства наличия вируса гриппа собак (ВГС) H3N8 в 1999 г. [11, 23, 33, 34]. Анализ генома показал, что собаки заразились от лошадей, а затем H3N8 был адаптирован к новому хозяину путем точечных мутаций [35]. Персистенция инфекции в течение нескольких лет и ее географическое распространение свидетельствуют об эффективной горизонтальной передаче вируса гриппа среди собак [11, 36-38]. Три региона в США могут считаться эндемичными для ВГС: Нью-Йорк, южная Флорида и северный Колорадо/южный Вайоминг [39]. Нет доказательств того, что вирус может передаваться людям, кошкам или другим видам животных [40]. Кроме случаев в США инфекция ВГС H3N8 регистрировалась в других частях мира, таких как Канада, Великобритания, Австралия, Китай и Нигерия, но лишь спорадически, и после 2016 г. не было зарегистрировано случаев заражения [41], поэтому риск появления ВГС H3N8 можно признать низким [42-46]. ВГС H3N8, по-видимому, циркулирует в крупных городских приютах для животных, где высока плотность популяции восприимчивых животных [47-51].

Вирус гриппа собак H3N8 появился в результате заражения собак гриппом от инфицированных лошадей в ходе контакта между животными при совместном содержании [11]. Филогенетический анализ сиквенсов ВГС H3N8 выявил, что все, обнаруженные у собак изоляты, образуют одну монофилетическую группу, отличающуюся от вируса гриппа лошадей, что может говорить о единственном случае

межвидового перехода ВГА от лошадей к собакам [11] с последующим горизонтальным распространением инфекции в популяции собак. Сопоставление молекулярной структуры генов ВГА H3N8 лошадей и собак выявило ключевые участки, которые скорее всего детерминируют специфичность связывания вириона с клетками-хозяевами [23, 52, 53].

Межвидовой переход ВГА от лошадей к собакам обеспечивается мутацией HA Trp222Leu, изменяющей участок связывания с рецепторами [54-56]. В то же время данные о различиях в фенотипах ВГС и лошадей H3N8 по таким характеристикам, как инфекционность и интенсивность репликации, отсутствуют, и это дает возможность предположить, что межвидовой переход и адаптация ВГА к собакам вероятно могут быть детерминированы тонкими изменениями в биологии вируса [52, 57]. Современные данные по генетике изолятов ВГС H3N8 выявили значительный антигенный дрейф вируса уже в организме собак, в результате чего ВГС на сегодняшний день разделился на несколько линий [58].

Грипп собак птичьего происхождения

Большинство описанных в литературе ВГС птичьего происхождения обладает антигенной формулой A/H3N2, но наряду с этим есть факты заражения собак другими птичьими ВГА в Китае: H9N2 [27, 31], H5N1 [59, 60], H5N6 [61], H5N2 [28].

Подтип ВГА H3N2 у собак впервые обнаружили в 2006 году в Китае и Южной Корее, к настоящему времени он быстро распространился и стал энзоотическим в Юго-Восточной Азии [22-24, 62–64]. В 2015 году ВГС H3N2 вызвал эпидемическую вспышку тяжелого респираторного заболевания более 1000 собак в США [65-67]. Распространение ВГС в Северной Америке могло произойти в результате импорта собак из Азии [68, 69]. В конце 2022 года ВГС H3N2 вместе с бактериальными респираторными патогенами вызвал всплеск заболеваемости собак в результате заполнения приютов и гостиниц для передержки животных после ослабления мер общественного здравоохранения, связанных с пандемией COVID-19 [70]. Несмотря на местные меры контроля, наблюдается устойчивая горизонтальная передача инфекции в популяции собак в США и Канаде [65, 68].

Птичий ВГА H5N1 известен с 1996 года [59]. Доказано, что собаки могут заразиться им при прямом контакте с больными птицами, особенно при употреблении их в пищу в сыром виде [71, 72]. Особую озабоченность вызывает широкий спектр проявления инфекции: от бессимптомного течения до тяжелого, вплоть до летального исхода, не ограничивающегося поражением только органов дыхания. При тяжелом течении проявлялось также поражение печени и желудочно-кишечного тракта, а во многих случаях - системная инфекция.

Сравнение молекулярного строения генов ВГА H3N2 у собак и птиц выявило, что они очень схожи, что может свидетельствовать о передаче вируса от птиц собакам без какого-либо значимого изменения и реассортации, то есть собаки восприимчивы к птичьим штаммам ВГА H3N2 непосредственно [22, 24, 73]. Инфицирование собак от птиц обычно происходит в местах компактного содержания собак и прямого контакта с птицами [73-75]. У большинства изолятов A/H3N2, выделенных от собак, обнаружено по меньшей мере две мутации HA (Ser159Asn и Trp222Leu), которые, вероятно, влияют на способность вируса гриппа A/H3N2 успешно передаваться от птиц собакам [66, 76]. Также возможным фактором адаптации ВГС H3N2 к собакам может являться постепенное накопление мутаций во всех восьми генных сегментах [73, 77]. Примечательно, что скорость эволюции сегмента нейраминидазы была выше, чем у других сегментов [79]. Факт эволюции и адаптации ВГА внутри организма собак подтверждается тем, что, по данным корейских исследователей, изоляты ВГС H3N2 2012-2013 гг. имели более выраженные клинические проявления и реплицировались в более высоких титрах, чем изоляты 2009 года.

Эксперименты показали, что некоторые реассортанты ВГС H3N2 в условиях совместного проживания собак имеют способность эффективно передаваться внутри

популяции, а сменяющиеся поколения вирусов, реплицирующиеся в организмах собак, не могут не повышать уровень адаптации вируса к собакам [78, 57].

Замечена способность ВГС H3N2 заражать кошек естественным путем без предварительной адаптации [10, 79, 80]. Данный факт может указывать на расширение круга потенциальных хозяев данного вируса и роль кошек в распространении инфекции, а также на то, что адаптационные свойства ВГА H3N2 птичьего происхождения применимы не только к псовым, но и кошачьим, и, возможно, другим представителям отряда хищных млекопитающих.

Грипп собак человеческого происхождения

ВГА H1N1pdm09 был зарегистрирован у собак в редких случаях естественной инфекции, симптомы были незначительны, и передача вируса от собаки собаке практически отсутствовала. Таким образом, несмотря на способность вируса реплицироваться в организме собак в случае экспериментального заражения, сейчас можно говорить, что подтип ВГА H1N1 для собак скорее нехарактерен [81].

ВГА птиц формируют связь с восприимчивыми клетками, в мембрану которых встроены сложные гликаны, имеющие α-2,3 связь с остатками сиаловой кислоты, ВГА млекопитающих связывается с рецепторами, имеющими α-2,6 связь [82]. Доказано наличие у собак клеток эпителия с рецепторами с α-2,3 связью, и имеются данные о наличии у них рецепторов с α-2,6 связью, и, хотя пока достоверно не зарегистрированы случаи реассортации вирусов различного происхождения в организме собак, вероятность этого высока [24, 26, 83].

Имеется ряд данных серологического анализа из разных стран, подтверждающих заражение собак сезонными штаммами ВГА человека A(H1N1)pdm09 и A/H3N2. Инфицирование собак происходило, вероятно, напрямую от их владельцев [84-87]. Данное предположение подтверждается следующими фактами: во-первых, контактные лица чаще всего были недавно перенесшими гриппоподобные заболевания, и в некоторых случаях это было подтверждено ПЦР. Во-вторых, серопозитивность собак к гриппу практически полностью соответствовала распространенности гриппа в человеческой популяции как в территориальном отношении, так и в сезонном. Молекулярно-генетическое сравнение изолятов вируса, полученных от собак и людей, показало высокую степень их сходства, что дает возможность выдвинуть гипотезу о возможности инфицирования собак человеческими вирусами без предварительной адаптации. Однако данный вопрос требует более полного изучения.

Реассортация вирусов гриппа А у собак

Главным резервуаром для реассортации ВГА принято считать организм свиньи [88, 89]. Обусловлено это наличием в эпителии дыхательной системы свиньи как рецепторов α-2,3, так и α-2,6, следовательно свинья одинаково легко заражается ВГА свиными, птичьими и человеческим подтипам ВГА, которые могут уже внутри клетки собираться в вирионы с различными комбинациями генов различного происхождения. Поскольку в дыхательных путях собак обнаружены оба рецептора [90 - 92], они также могут инфицироваться ВГА птиц и млекопитающих, и это ставит организм собак в ряд с другими возможными резервуарами генерации штаммов с новыми комбинациями генов, сохраняя риск генетического шифта и появления вирусов с высоким эпидемическим потенциалом.

Одним из примеров реассортации генов ВГА у собак может служить обнаружение в 2012 году в Южной Корее нового штамма подтипа A/H3N1. Полногеномное секвенирование штамма показало, что он содержит ген НА ВГС H3N2, а другие семь сегментов генов вируса человеческого происхождения A(H1N1)pdm09 [9]. Известны также другие примеры реассортации у собак ВГС H3N2 и человеческого штамма A(H1N1)pdm09 в Южной Азии [78, 93, 94]. Одновременное обнаружение в крови собак антител к ВГС H3N2 и к вирусу гриппа человека A(H1N1)pdm09 дополнительно

подтверждает возможность ко-инфекции ВГС H3N2 и A(H1N1)pdm09 и, соответственно, вероятность рекомбинации сегментов генома ВГА в организме собак [24, 94, 95].

В 2007 году в Китае была зарегистрирована множественная геномная реассортация между ВГА H1N1 свиного происхождения и энзоотическими линиями ВГС A/H3N2, совместно циркулирующими у собак [96]. Обнаружен штамм ВГС H3N2, в котором ген NS входит в монофилетическую группу с вирусами гриппа птиц A/H5N1, что свидетельствует о вероятной рекомбинации между собачьим A/H3N2 и птичьим A/H5N1 вариантами [91, 97]. Описанные в литературе примеры многократной рекомбинации ВГС, и особенно вирусов подтипа H3N2, с приспособленными к птицам и млекопитающим ВГА, убедительно показывают, что геном птичьих, человеческих и собачьих вирусов действительно совместим и, соответственно, собак следует рассматривать как сосуды для рекомбинации генов с образованием новых реассортантных ВГА.

Несмотря на продолжающуюся циркуляцию двух подтипов ВГС (H3N8 и H3N2), случаи межвидового заражения собак другими подтипами ВГА не привели к распространению инфекции и постепенно сошли на нет. На сегодняшний день не зарегистрировано случаев межвидового перехода гриппа от собаки человеку [98]. Тем не менее, инфицированные люди могут быть источником инфекции для животных, а потенциальная ко-инфекция собак от разных источников создает условия для реассортации и, как следствие, потенциал для преодоления вирусом межвидового барьера между питомцами и людьми. Новые вирусы-реассортанты могут в дальнейшем широко распространяться среди собак и потенциально представлять угрозу для здоровья людей.

Исходя из накопленных к настоящему времени сведений о межвидовой трансмиссии, адаптации и реассортации ВГА у собак, молекулярных механизмах, обосновывающих и сопровождающих эти процессы, представляется актуальным вести систематический мониторинг за гриппом собак в рамках концепции «Один мир, одно здоровье». Серологический надзор за ВГА в популяциях собак может определять направления для изучения появляющихся зоонозных вирусов гриппа, представляющих риск для здоровья человека. Также полученная информация о вирусах гриппа, циркулирующих в популяциях собак, может послужить в ходе выбора вирусов для создания эффективных вакцин [99], что, в свою очередь, будет способствовать профилактике и борьбе с будущими эпидемиями, поскольку все известные наиболее опасные вспышки респираторных вирусных инфекций среди людей имеют зоонозный характер.

Финансирование

Работа выполнена в рамках гранта Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан №AP19677712 «Виром собак (*Canis Familiaris*) как потенциальный источник зоонозных инфекций».

Литература:

1 WHO. One Health. Available: https://www.euro.who.int/ru/health-topics/health-emergencies/pages/action-plan/strategic-pillar-1/one-health (Accessed: 2022-02-02)

2 Herfst S, Imai M, Kawaoka Y, Fouchier A. Avian influenza virus transmission to mammals. In: influenza pathogenesis and control – volume 1. Current topics in microbiology and Immunology. *Cham (Switzerland)*: Springer, 2014: 137-55.

3 Krog J., Hansen M., Holm E., Hjulsager C., Chriel M., Pedersen K, Andersen L., Abildstrom M., Jensen T. and Larsen L. Influenza A(H10N7) virus in dead harbor seals, Denmark. *Emerg Infect Dis*, 2015, 21(4): 684-687 (doi:10.3201/eid2104.141484)

4 Klivleyeva N., Ongarbayeva N., Baimukhametova A., Saktaganov N., Lukmanova G., Glebova T., Sayatov M., Berezin V., Nusupbaeva G. and Aikimbayev A. Detection of influenza virus and pathogens of acute respiratory viral infections in population of Kazakhstan during 2018-2019 epidemic season. *Russian Journal of Infection and Immunity*, 2021, 11(1): 137-147. (doi.: 10.15789/2220-7619-DOI-1348)

5 Waddell G.H., Teigland M.B., Sigel M.M. A new influenza virus associated with equine respiratory disease. *J Am Vet Med Assoc*, 1963, 143: 587–590.

6 Guo Y, Wang M, Kawaoka Y, Gorman O, Ito T, Saito T, Webster RG. Characterization of a new avian-like influenza A virus from horses in China. *Virology*, 1992, 188: 245–255. (doi: 10.1016 /0042-6822(92)90754-D)

7 Saktaganov N., Klivleyeva N., Ongarbayeva N., Glebova T., Lukmanova G. and Baimukhametova A. Study on antigenic relationships and biological properties of swine influenza A/H1N1 virus strains isolated in Northern Kazakhstan in 2018. Sel'skokhozyaistvennaya Biologiya [Agricultural Biology], 2020, 55(2): 355-363 Available: http://agrobiology.ru/2-2020saktaganov-eng.html (doi: 10.15389/agrobiology.2020.2.355eng)

8 Harder, T. and Vahlenkamp, T. Influenza virus infections in dogs and cats. *Vet Immunol Immunopathol*, 2010, 134: 54-60.

9 Song D., Moon H., An D., Jeoung H., Kim H., Yeom M., Hong M., Nam J., Park S., Park B., Oh J., Song M., Webster R., Kim J. and Kang B. A novel reassortant canine H3N1 influenza virus between pandemic H1N1 and canine H3N2 influenza viruses in Korea. *Gen Virol*, 2012, 93: 551–554 (doi:10.1099/vir.0.037739-0)

10 Song D., An D., Moon H., Yeom M., Jeong H., Jeong W., Park S., Kim H., Han S., Oh J., Park B., Kim J., Poo H., Webster R., Jung K. and Kang B. Interspecies transmission of the canine influenza H3N2 virus to domestic cats in South Korea, 2010. *Gen Virol*, 2011, 92(Pt 10): 2350-2355 (doi:10.1099/vir.0.033522-0)

11 Crawford P.C., Dubovi E.J., Castleman W.L., Stephenson I., Gibbs E.P., Chen L., Smith C., Hill R.C., Ferro P., Pompey J., Bright R.A., Medina M.J., Johnson C.M., Olsen C.W., Cox N.J., Klimov A.I., Katz J.M., Donis R.O. Transmission of equine influenza virus to dogs. *Science*, 2005, 310: 482–485 (doi: 10.1126/science.1117950)

12 Wright P.F., Webster R.G. *Orthomyxoviruses*. In: Fields / B.N. and Knipe, D.M. (eds.), Lippincott W. & W, Philadelphia, 2001.

13 Joseph U., Su Y. C., Vijaykrishna D., & Smith G. J. The ecology and adaptive evolution of influenza A interspecies transmission. *Influenza Other Respir Viruses*, 2017, 11: 74–84 (doi: 10.1111/irv.12412)

14 Peiris J. S., de Jong M. D., Guan Y. Avian influenza virus (H5N1): a threat to human health. *Clin Microbiol Rev*, 2007, 20: 243–67 (doi: 10.1128/CMR.00037-06)

15 Yang Z.F., Mok C.K., Peiris J.S., Zhong N.S. Human infection with a novel Avian influenza A(H5N6) virus. *N Engl J Med*, 2015, 373: 487–9 (doi: 10.1056/NEJMc1502983)

16 Charles N. Post-human families? Dog-human relations in the domestic sphere. *Sociol Res Online*, 2016, 21: 1–12 (doi: 10.5153/sro.3975)

17 Irvine L, Cilia L. More-than-human families: pets, people, and practices in multispecies households. *Sociol Comp*, 2017, 11 (doi: 10.1111/soc4.12455)

18 AVMA. 2017–2018 Pet Ownership & Demographics Sourcebook. Schaumburg, IL., *American Veterinary Medical Association*, 2018.

19 Said A.W., Usui T., Shinya K., Ono E., Ito T., Hikasa Y., Matsuu A., Takeuchi T., Sugiyama A., Nishii N., Yamaguchi T. A sero-survey of subtype H3 influenza A virus infection in dogs and cats in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, 2011, 73: 541–544 (doi: 10.1292/jvms.10-0428)

20 Coppinger R., Coppinger L. *Dogs: A Startling New Understanding of Canine Origin, Behavior & Evolution*. Scribner, New York, 2001.

21 Wasik B.R., Voorhees I., Parrish C.R. Canine and Feline Influenza. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 2021, 11(1): a038562 (doi: 10.1101/cshperspect.a038562)

22 Li S., Shi Z., Jiao P., Zhang G., Zhong Z., Tian W., Long L. P., et al. Avian-origin H3N2 canine influenza A viruses in Southern China. *Infect Genet Evol*, 2010, 10: 1286–8 (doi: 10.1016/j.meegid.2010.08.010)

23 Payungporn S., Crawford P.C., Kouo T.S., Chen L.M., Pompey J, CastlemanWL, et al. Influenza A virus (H3N8) in dogs with respiratory disease, Florida. *Emerg Infect Dis*, 2008, 14: 902–8 (doi: 10.3201/eid1406.071270)

24 Song D., Kang B., Lee C., Jung K., Ha G., Kang D, et al. Transmission of avian influenza virus (H3N2) to dogs. *Emerg Infect Dis*, 2008, 14: 741–6 (doi: 10.3201/eid1405.071471)

25 Wang G., Borges L.G., Stadlbauer D., Ramos I., González M.C., He J., Ding Y., Wei Z., Ouyang K., Huang W., Simon V., Fernandez-Sesma A., Krammer F., Nelson M. I., Chen Y., García-

Sastre A. Characterization of swine-origin H1N1 canine influenza viruses. *Emerging Microbes & Infections*, 2019, 8(1): 1017-1026 (doi: 10.1080/22221751.2019.1637284)

26 Borland S., Gracieux P., Jones M., Mallet F., Yugueros-Marcos J. Influenza A Virus Infection in Cats and Dogs: A Literature Review in the Light of the "One Health" Concept. *Frontiers in Public Health*, 2020, 8 (doi: 10.3389/fpubh.2020.00083)

27 Sun X., Xu X., Liu Q., Liang D., Li C., He Q., et al. Evidence of avian-like H9N2 influenza A virus among dogs in Guangxi, China. *Infect Genet Evol*, 2013, 20: 471–5 (doi: 10.1016/j.meegid.2013.10.012)

28 Song Q.Q., Zhang F.X., Liu J.J., Ling Z.S., Zhu Y.L., Jiang S.J., et al. Dog to dog transmission of a Novel influenza virus (H5N2) isolated from a canine. *Vet Microbiol*, 2013, 161: 331–3 (doi: 10.1016/j.vetmic.2012.07.040)

29 Lee I.H., Le T.B., Kim H.S., Seo S.H. Isolation of a novel H3N2 influenza virus containing a gene of H9N2 avian influenza in a dog in South Korea in 2015. *Virus Genes*, 2016, 52(1): 142-5 (doi: 10.1007/s11262-015-1272-z)

30 Su S., Qi W., Zhou P., Xiao C., Yan Z., Cui J., Jia K., Zhang G., Gray G.C., Liao M., Li S. First evidence of H10N8 avian influenza virus infections among feral dogs in live poultry markets in Guangdong province, China. *Clin Infect Dis*, 2014, 59(5): 748-50.

31 Zhang K., Zhang Z., Yu Z., Li L., Cheng K., Wang T., et al. Domestic cats and dogs are susceptible to H9N2 avian influenza virus. *Virus Res*, 2013, 175: 52–7 (doi: 10.1016/j.virusres.2013.04.004)

32 Long J.S., Mistry B., Haslam S.M., Barclay W.S. Host and viral determinants of influenza A virus species specificity. *Nat Rev Microbiol*, 2019, 17: 67–81 (doi: 10.1038/s41579-018-0115-z)

33 Anderson T.C., Bromfield C.R., Crawford P.C., Dodds W.J., Gibbs E.P., Hernandez J.A. Serological evidence of H3N8 canine influenza-like virus circulation in USA dogs prior to 2004. *Vet J*, 2012, 191: 312–6 (doi: 10.1016/j.tvjl.2011.11.010)

34 Xie X., Ma K., Liu Y. Influenza A virus infection in dogs: Epizootiology, evolution and prevention - A review. *Acta Vet Hung*, 2016, Mar, 64(1): 125-39 (doi: 10.1556/004.2016.014).

35 Buonavoglia C., Martella V. Canine respiratory viruses. *Vet. Res*, 2007, 38(2): 355–73 (doi:10.1051/vetres:2006058)

36 Rosenthal M. CIV may have started circulating earlier than originally thought. *Veterinary Forum. Veterinary Learning Systems*, 2007, 24 (7): 12.

37 Klivleyeva N.G., Glebova T.I., Shamenova M.G., Saktaganov N.T. Influenza A viruses circulating in dogs: A review of the scientific literature. *Open Veterinary Journal*, 2022, 12(5): 676–687 (doi: 10.5455/OVJ.2022.v12.i5.12)

38 Tremayne J. Canine flu confirmed in 22 states, *DVM*, 2006, 1: 66–67.

39 Yin S. Managing canine influenza virus. *Veterinary Forum. Veterinary Learning Systems*, 2007, 24 (9): 40–41.

40 Crawford C., Dubovi E.J., Donis R.O., Castleman W.L., Gibbs E.P.J., Hill R.C., Katz J.M., Ferro P., Anderson T.C. Canine Influenza Virus Infection. *Proceedings of the North American Veterinary Conference. Retrieved, 2006*, 2007-04-21.

41 Kruth S.A., Carman S., Weese J.S. Seroprevalence of antibodies to canine influenza virus in dogs in Ontario. *Can Vet J*, 2008, 49: 800–802.

42 Kirkland P.D., Finlaison D.S., Crispe E., Hurt A.C. Influenza virus transmission from horses to dogs, Australia. *Emerg Infect Dis*, 2010, 16: 699–702 (doi: 10.3201/eid1604.091489)

43 Daly J.M., Blunden A.S., MacRae S., Miller J., Bowman S.J., Kolodziejek J., et al. Transmission of equine influenza virus to english foxhounds. *Emerg Infect Dis*, 2008, 14: 461–4 (doi: 10.3201/eid1403.070643)

44 Zhou P., Huang S., Zeng W., Zhang X.,Wang L., Fu X., et al. Seroepidemiological evidence of subtype H3N8 influenza virus infection among pet dogs in China. *PLoS ONE*, 2016, 11 (doi: 10.1371/journal.pone.0159106)

45 Oluwayelu D.O., Bankole O., Ajagbe O., Adebiyi A.I., Abiola J.O., Otuh P., et al. Serological survey for emerging canine H3N8 and H3N2 influenza viruses in pet and village dogs in Nigeria. *Afr J Med Med Sci*, 2014, 43: 111–5.

46 Schulz B., Klinkenberg C., Fux R., Anderson T., de Benedictis P., Hartmann K. Prevalence of canine influenza virus A (H3N8) in dogs in Germany. *Vet J*, 2014, 202: 184–5 (doi: 10.1016/j.tvjl.2014.07.008)

47 Hayward J.J., Dubovi E.J., Scarlett J.M., Janeczko S., Holmes E.C., Parrish C.R. Microevolution of canine influenza virus in shelters and its molecular epidemiology in the United States. *J Virol*, 2010, 84: 12636–45 (doi: 10.1128/JVI.01350-10)

48 Barrell E.A., Pecoraro H.L., Torres-Henderson C., Morley P.S., Lunn K.F., Landolt G.A. Seroprevalence and risk factors for canine H3N8 influenza virus exposure in household dogs in Colorado. *J Vet Inter Med*, 2010, 24: 1524–7 (doi: 10.1111/j.1939-1676.2010.0616.x)

49 Pecoraro H.L., Bennett S., Huyvaert K.P., Spindel M.E., Landolt G.A. Epidemiology and ecology of H3N8 canine influenza viruses in US shelter dogs. *J Vet Inter Med*, 2014, 28: 311–8 (doi: 10.1111/jvim.12301)

50 Holt D.E., Mover M.R., Brown D.C. Serologic prevalence of antibodies against canine influenza virus (H3N8) in dogs in a metropolitan animal shelter. *J Am Vet Med Assoc*, 2010, 237: 71–3 (doi: 10.2460/javma.237.1.71)

51 Dalziel B.D., Huang K., Geoghegan J.L., Arinaminpathy N., Dubovi E.J., Grenfell B.T., et al. Contact heterogeneity, rather than transmission efficiency, limits the emergence and spread of canine influenza virus. *PLoS Pathog*., 2014, 10: e1004455 (doi: 10.1371/journal.ppat.1004455)

52 Rivailler P., Perry I.A., Jang Y., Davis C.T., Chen L.M., Dubovi E.J., et al. Evolution of canine and equine influenza. (H3N8) viruses co-circulating between 2005 and 2008. *Virology*, 2010, 408: 71–9 (doi: 10.1016/j.virol.2010.08.022)

53 Feng K.H., Gonzalez G., Deng L., Yu H., Tse V.L., Huang L., et al. Equine and Canine Influenza H3N8 viruses show minimal biological differences despite phylogenetic divergence. *J Virol*, 2015, 89: 6860 (doi: 10.1128/JVI.00521-15)

54 Collins P.J., Vachieri S.G., Haire L.F., Ogrodowicz R.W., Martin S.R., Walker P.A., et al. Recent evolution of equine influenza and the origin of canine influenza. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111: 11175–80 (doi: 10.1073/pnas.1406606111)

55 Wen F., Blackmon S., Olivier A.K., Li L., Guan M., Sun H., et al. MutationW222L at the receptor binding site of hemagglutinin could facilitate viral adaption from Equine influenza A(H3N8) virus to dogs. *J Virol*, 2018, 92: e01115-18 (doi: 10.1128/JVI.01115-18)

56 He W., Li G., Wang R., Shi W., Li K., Wang S., et al. Host-range shift of H3N8 canine influenza virus: a phylodynamic analysis of its origin and adaptation from equine to canine host. *Vet Res*, 2019, 50: 87 (doi: 10.1186/s13567-019-0707-2)

57 Gonzalez G., Marshall J.F., Morrell J., Robb D., McCauley J.W., Perez D.R., et al. Infection and pathogenesis of canine, equine, and human influenza viruses in canine tracheas. *J Virol*, 2014, 88: 9208–19 (doi: 10.1128/JVI.00887-14)

58 Pecoraro H.L., Bennett S., Spindel M.E., Landolt G.A. Evolution of the hemagglutinin gene of H3N8 canine influenza virus in dogs. *Virus Genes*, 2014, 49: 393–9 (doi: 10.1007/s11262-014-1102-8).

59 Li X., Zhang Z., Yu A. Global and local persistence of influenza A(H5N1) virus. *Emerg Infect Dis J*, 2014, 20: 1287–95 (doi: 10.3201/eid2008. 130910)

60 Zhao F.R., Zhou D.H., Zhang Y.G., Shao J.J., Lin T., Li Y.F., et al. Detection prevalence of H5N1 Avian influenza virus among stray cats in eastern China. *J Med Virol*, 2015, 87: 1436–40 (doi: 10.1002/jmv.24216)

61 Yu Z., Gao X.,Wang T., Li Y., Li Y., Xu Y., et al. Fatal H5N6 Avian influenza virus infection in a domestic cat and wild birds in China. *Sci Rep*, 2015, 5: 10704 (doi: 10.1038/srep10704)

62 Crispe E., Finlaison D., Hurt A., Kirkland P. Infection of dogs with equine influenza virus: evidence for transmission from horses during the Australian outbreak. *Aust Vet J*, 2011, 89: 27–8 (doi: 10.1111/j.1751-0813.2011.00734.x)

63 Bunpapong N., Nonthabenjawan N., Chaiwong S., Tangwangvivat R., Boonyapisitsopa S., Jairak W., et al. Genetic characterization of canine influenza A virus (H3N2) in Thailand. *Virus Genes*, 2014, 48: 56–63 (doi: 10.1007/s11262-013-0978-z)

64 Wang H., Jia K., Qi W., Zhang M., Sun L., Liang H., et al. Genetic characterization of avian-origin H3N2 canine influenza viruses isolated from Guangdong during 2006–2012. *Virus Genes*, 2013, 46: 558–62 (doi: 10.1007/s11262-013-0893-3)

65 Voorhees I.E.H., Glaser A.L., Toohey-Kurth K., Newbury S., Dalziel B.D., Dubovi E.J., et al. Spread of canine influenza A(H3N2) Virus, United States. *Emerg Infect Dis*, 2017, 23: 1950–7 (doi: 10.3201/eid2312.170246)

66 Pulit-Penaloza J.A., Simpson N., Yang H., Creager H.M., Jones J., Carney P., et al. Assessment of molecular, antigenic, and pathological features of canine influenza A(H3N2) viruses that emerged in the United States. *J Infect Dis*, 2017, 216: S499–507 (doi: 10.1093/infdis/jiw620)

67 Voorhees I.E.H., Dalziel B.D., Glaser A., Dubovi E.J., Murcia P.R., Newbury S., et al. Multiple incursions and recurrent epidemic fade-out of H3N2 canine influenza A virus in the United States. *J Virol*, 2018, 92: e00323–18 (doi: 10.1128/JVI.00323-18)

68 Weese J.S. Emergence and containment of canine influenza virus A(H3N2), Ontario, Canada, 2017–2018. *Emerg Infect Dis*, 2019, 25: 1810–6 (doi: 10.3201/eid2510.190196)

69 Ward A. Canine influenza reported in several dogs in Orillia. *Barrie*, Retrieved 2018-03-06.

70 Anthes E. Dog Flu Is Back, Too. *New York Times. Archived from the original on 17 December 2022*. Retrieved 17 December 2022.

71 Songserm T., Amonsin A., Jamon R., Sae-Heng N., Pariyothorn N., Payungporn S., Theamboonlers A., Chutinimitkul S., Thanawongnuwech R., Poovorawan Y. Fatal avian influenza A H5N1 in a dog, *Emerging Infect. Dis*, 2006, 12(11): 1744–7 (doi:10.3201/eid1211.060542)

72 Moreno A., Bonfante F., Bortolami A., Cassaniti I., Caruana A., Cottini V., Cereda D., Farioli M., Fusaro A., Lavazza A., Lecchini P., Lelli D., Maroni Ponti A., Nassuato C., Pastori A., Rovida F., Ruocco L., Sordilli M., Baldanti F., Terregino C. Asymptomatic infection with clade 2.3.4.4b highly pathogenic avian influenza A(H5N1) in carnivore pets, Italy, April 2023. *Euro Surveill. 2023 Aug*, 28(35) (doi: 10.2807/1560-7917.ES.2023.28.35.2300441)

73 He W., Li G., Zhu H., Shi W., Wang R., Zhang C., et al. Emergence and adaptation of H3N2 canine influenza virus from avian influenza virus: an overlooked role of dogs in interspecies transmission. *Transbound Emerg Dis*, 2019, 66: 842–51 (doi: 10.1111/tbed.13093)

74 Lee C., Song D., Kang B., Kang D., Yoo J., Jung K., et al. A serological survey of avian origin canine H3N2 influenza virus in dogs in Korea. *Vet Microbiol*, 2009, 137: 359–62 (doi: 10.1016/j.vetmic.2009.01.019)

75 Su S., Li H.T, Zhao F.R, Chen J.D, Xie J.X, Chen Z.M, et al. Avian-origin H3N2 canine influenza virus circulating in farmed dogs in Guangdong, China. *Infect Genet Evol*, 2013, 14: 444–9 (doi: 10.1016/j.meegid.2012.11.018)

76 Yang G., Li S., Blackmon S., Ye J., Bradley K.C., Cooley J., et al. Mutation tryptophan to leucine at position 222 of haemagglutinin could facilitate H3N2 influenza A virus infection in dogs. *J Gen Virol*, 2013, 94: 2599–608 (doi: 10.1099/vir.0.054692-0)

77 Lee I.W., Kim Y.I., Lim G.J., Kwon H.I., Si Y.J., Park S.J., et al. Comparison of the virulence and transmissibility of canine H3N2 influenza viruses and characterization of their canine adaptation factors. *Emerg Microbes Infect*, 2018, 7: 17 (doi: 10.1038/s41426-017-0013-x)

78 Moon H., Hong M., Kim J.K., Seon B., Na W., Park S.J., et al. H3N2 canine influenza virus with the matrix gene from the pandemic A/H1N1 virus: infection dynamics in dogs and ferrets. *Epidemiol. Infect*, 2015, 143: 772–80 (doi: 10.1017/S0950268814001617)

79 Jeoung H.Y., Lim S.I., Shin B.H., Lim J.A., Song J.Y., Song D.S., et al. A novel canine influenza H3N2 virus isolated from cats in an animal shelter. *Vet Microbiol*, 2013, 165: 281–6 (doi: 10.1016/j.vetmic.2013.03.021)

80 Kim H., Song D., Moon H., Yeom M., Park S., Hong M., et al. Interand intraspecies transmission of canine influenza virus. (H3N2) in dogs, cats, and ferrets. *Influenza Other Respir Viruses*, 2013, 7: 265–70 (doi: 10.1111/j.1750-2659.2012.00379.x)

81 Lin D., Sun S., Du L., Ma J., Fan L., Pu J., et al. Natural and experimental infection of dogs with pandemic H1N1/2009 influenza virus. *J Gen Virol*, 2012, 93: 119–23 (doi: 10.1099/vir.0.037358-0)

82 Ito T.J., Couceiro N.S.S., Kelm S., Baum L.G., Krauss S., Castrucci M.R., et al. Molecular basis for the generation in pigs of Influenza A viruses with Pandemic potential. *J Virol*, 1998, 72: 7367–73 (doi: 10.1128/JVI.72.9.7367-7373.1998)

83 Lyoo K.S, Kim J.K, Kang B., Moon H., Kim J., Song M., et al. Comparative analysis of virulence of a novel, avian-origin H3N2 canine influenza virus in various host species. *Virus Res*, 2015, 195: 135–40 (doi: 10.1016/j.virusres.2014.08.020)

84 Jang H., Jackson Y.K., Daniels J.B., Ali A., Kang K.I., Elaish M., et al. Seroprevalence of three influenza A viruses. (H1N1, H3N2, and H3N8) in pet dogs presented to a veterinary hospital in Ohio. *J Vet Sci*, 2017, 18: 291–8 (doi: 10.4142/jvs.2017.18.S1.291)

85 Ramírez-Martínez L.A., Contreras-Luna M., De la Luz J., Manjarrez M.E., Rosete D.P., Rivera-Benitez J.F., et al. Evidence of transmission and risk factors for influenza A virus in household dogs and their owners. *Influenza Other Respir Viruses*, 2013, 7: 1292–6 (doi: 10.1111/irv.12162)

86 Yin X., Zhao F.R., Zhou D.H., Wei P., Chang H.Y. Serological report of pandemic and seasonal human influenza virus infection in dogs in southern China. *Arch Virol*, 2014, 159: 2877–82 (doi: 10.1007/s00705-014-2119-y)

87 Ali A., Daniels J.B., Zhang Y., Rodriguez-Palacios A., Hayes-Ozello K., Mathes L., Lee C.W. Pandemic and seasonal human influenza virus infections in domestic cats: prevalence, association with respiratory disease, and seasonality patterns. *J Clin Microbiol*, 2011, 49: 4101–5 (doi: 10.1128/JCM. 05415-11)

88 Wille M., Holmes E.C. The Ecology and Evolution of Influenza Viruses. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2020, 10(7): a038489 (doi: 10.1101/cshperspect.a038489)

89 Ma W., Kahn R.E., Richt J.A. The pig as a mixing vessel for influenza viruses: human and veterinary implications. *J Mol Genet Med*, 2008, 3: 158–66.

90 Ning Z.Y., Wu X.T., Cheng Y.F., Qi W.B., An Y.F., Wang H., et al. Tissue distribution of sialic acid-linked influenza virus receptors in beagle dogs. *J Vet Sci*, 2012, 13: 219–22 (doi: 10.4142/jvs.2012.13.3.219)

91 Wang H., Wu X., Cheng Y., An Y., Ning Z. Tissue distribution of human and avian type sialic acid influenza virus receptors in domestic cat. *Acta Vet Hung*, 2013, 61: 537–46 (doi: 10.1556/AVet.2013.030)

92 Zhao H., Zhou J., Jiang S., Zheng B.J. Receptor binding and transmission studies of H5N1 influenza virus in mammals. *Emerg Microbes Infect*, 2013, 2: e85 (doi: 10.1038/emi.2013.89)

93 Su S., Chen J., Jia K., Khan S.U., He S., Fu X., et al. Evidence for subclinical influenza A(H1N1)pdm09 virus infection among dogs in Guangdong Province, China. *J Clin Microbiol*, 2014, 52: 1762–5 (doi: 10.1128/JCM.03522-13).

94 Hong M., Na W., Yeom M., Park N., Moon H., Kang B.K., et al. Complete genome sequences of H3N2 canine influenza virus with the matrix gene from the Pandemic A/H1N1 virus. *Genome Announc*, 2014, 2: e01010-14 (doi: 10.1128/genomeA.01010-14)

95 Dundon W.G., De Benedictis P., Viale E., Capua I. Serologic evidence of pandemic (H1N1) 2009 infection in dogs, Italy. *Emerg Infect Dis*, 2010, 16: 2019–21 (doi: 10.3201/eid1612.100514)

96 Chen Y., Trovao N.S., Wang G., Zhao W., He P., Zhou H., et al. Emergence and evolution of novel reassortant influenza A viruses in canines in Southern China. *MBio*, 2018, 9: e00909–18 (doi: 10.1128/mBio.00909-18)

97 Zhu H., Hughes J., Murcia P.R. Origins and evolutionary dynamics of H3N2 canine influenza virus. *J Virol*, 2015, 89: 5406–18 (doi: 10.1128/JVI. 03395-14)

98 Lee C.T., Slavinski S., Schiff C., Merlino M., Daskalakis D., Liu D., et al. Outbreak of influenza A(H7N2) among cats in an animal shelter with cat-tohuman transmission-New York City, 2016. *Clin Infect Dis*, 2017, 65: 1927–9 (doi: 10.1093/cid/cix668)

99 Rodriguez L., Nogales A., Reilly E.C., Topham D.J., Murcia P.R., Parrish C.R., et al. A live-attenuated influenza vaccine for H3N2 canine influenza virus. *Virology*, 2017, 504: 96–106 (doi: 10.1016/j.virol.2017.01.020)

IRSTI: 34.27.29

Z.Zh. TURLYBAYEVA[1]*, B.B. BAYMAKHANOVA[1], A.K. SADANOV[1],
O.N. LAKHK[1], S.A. ORAZYMBET[1], I.R. KULMAGAMBETOV[1],
A.D. MASSIRBAYEVA[1], Sh.M. MIRALIMOVA[2]
[1]Research and Production Center of Microbiology and Virology, Almaty, Kazakhstan
[2]Institute of Microbiology of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, Tashkent, Uzbekistan
*e-mail: tzj2009@yandex.kz

VAGINAL CANDIDIASIS AND CLINICAL EXPRESSION OF INFECTION

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.03

Abstract

Vaginal candidiasis is one of the actual problem in clinical medicine. It's very important for society because it's widespread. In recent years, the frequency of detection of candidiasis has increased by two times, the number of chronic and often recurrent forms of fungal lesions of the vagina has increased. The combined composition of the microflora of a woman's vagina includes a small amount of opportunistic microflora. Numerous factors of changes in the vaginal microflora can lead to various types of fungal infection, in particular, to vaginal candidiasis. The review demonstrates scientific data on the etiology and pathogenesis of vaginal candidiasis.

Keywords: vaginal candidiasis, *Candida* genus fungi, lactobacilli, adhesion, invasion.

The cause of vaginal candidiasis is the transformation of the saprophytic form of yeast-like fungi of the vulva and vagina into a virulent one, autoinfection from extragenital foci of candidiasis (mainly intestines). Synonyms of the word vaginal candidiasis are urogenital candidiasis, candidiasis colpitis (vaginitis), "thrush". Vaginal candidiasis ("thrush") is, as a rule, an external manifestation of a deficiency of local immunity, which often decreases against the background of hidden sexually transmitted diseases (chlamydia, ureaplasma, etc.). It is necessary to use antifungal drugs combined with a complex of drugs that optimize immunity for vaginal candidiasis treatment effectiveness[1].

The growth of mycosis diseases increases due to the breadth of irrational use of antibiotics, cytostatic drugs, glucocorticoids, organ transplantation and other therapeutic procedure [2].

Fungi of the genus *Candida*, which are represented in small quantities in the normal microflora of the vagina, inhibit the growth of lactobacilli (lactic acid bacteria) under certain circumstances, actively multiply, causing clinical manifestations of vaginal candidiasis, and create conditions for the pathogen colonization into vagina.

Currently, more than 300 species of fungi of the genus *Candida* are known, of which more than 27 species are isolated from human mucous membranes: *C. albicans* – in 80%, *C. glabrata* – in 15-30%, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* - in 4-7% of cases. The ability of saprophytic fungi to colonize human tissues is manifested only in patients with massive defects of the immune system. [3]. *Candida albicans* has been the most common fungal pathogen isolated during episodes of candidiasis for a long time. However, recent literature reports reveal the increasingly important role of other non-*C.albicans* species such as *Candida glabrata* (*C. glabrata*), *Candida parapsilosis* (*C. parapsilosis*), *Candida krusei* (*C. krusei*), *Candida tropicalis* (*C. tropicalis*) and more recently *Candida auris* (*C. auris*).

C. albicans is a polymorphic fungus that, depending on the environment in which it is located, can change its morphology from a yeast form (blastoconidia) to pseudohyphs and hyphae. It's been established that one of the most important differences between *C. albicans* and other species is the ability to form true mycelium *in vivo* under favorable conditions. Two serotypes of *C. albicans* have been identified, namely type A and type B, depending on its antigenic structure. Numerous factors contribute to a marked increase in invasive fungal

infections, including hyperglycemia – high blood sugar. The hyperglycemic medium, rich in carbohydrates, serves as a source of energy necessary for the production of biofilms and matrices that protect the cells of the fungus from external influences. *C. albicans* can produce a cytolytic enzyme known as candidalisin, and hyphae are responsible for its secretion [4]. This enzyme plays a vital role in the development of infections of the vaginal mucosa [5]. The direct virulence factor is *C. albicans* is the secretion of the hydrolytic enzymes aspartylproteinase and phospholipase, as well as hemolysin, which enhance its pathogenic effects such as binding to host tissue and rupture of the cell membrane. Because of their activity, invasion of the surface of the mucous membrane is facilitated. In addition, they are responsible for preventing the host's immune response [6 - 8]. *C. albicans* has at least ten representatives of the aspartylproteinase gene family, while phospholipase is registered in four families [9]. Finally, one of the significant factors influencing the virulence of *C. albicans* is tigomotropism (contact perception), which is regulated by the intake of extracellular calcium and significantly contributes to the spread into the host tissue and the biofilm development[4].

Fungal infections are dangerous due to their complications, since they can penetrate into the internal organs of the genitourinary system, causing various diseases in this zone including infertility. Vaginal candidiasis is one of the most common diseases of women and accounts for 40% to 50% of all cases of infectious pathology of genital region. Vaginal candidiasis is the most common reason for their treatment of the antenatal clinic. [10,11]. One of the most important factors is dimorphism, which is the ability of *C. albicans* to change its shape from yeast to mold, followed by the formation of true hyphae under favorable conditions. The latter sign significantly increases its invasiveness and proteolytic activity; however, in yeast form, it shows a tendency to spread more [12].

With a normal composition of the vaginal microflora, the average number of aerobic and anaerobic microorganisms in the vaginal discharge is normally 10^5-10^8 mg/ml, and their ratio is 10:1. Peroxyproducing lactobacilli predominate in the vaginal microbiocenosis of women of reproductive age (95-98%). By colonizing the vaginal mucosa, lactobacilli participate in the formation of an ecological barrier and thereby ensure the resistance of the vaginal biotope. The main mechanism providing colonization resistance of the vaginal biotope is their ability to acid formation. Normally, the pH of the vaginal environment is 3.8-4.5. In addition, lactobacilli are realizing their protective properties in different ways: due to antagonistic activity, adhesive properties, the ability to produce lysozyme, hydrogen peroxide. Local antifungal and antimicrobial factors synthesized by the vaginal mucosa: transferrin, lactoferrin, lysozyme, ceruloplasmin, acute phase proteins, etc. The lack of some of them, in particular transferrin, predisposes to the development of candidiasis. [13].

According to world statistics, 75% of women had one episode of this disease, and in more than 50% of cases, they had relapses. The medical and social danger of candidiasis vulvovaginitis lies in the fact that it is the cause of the development of infectious pathology of the female genital organs, causes complications of pregnancy, infection of the fetus and newborn, reduces the quality of life of a woman. Over the past 20 years, the incidence of candidiasis among full-term newborns has increased for eight times, from 1.9% to 15.6%, and it really increases the threat to the future generation health [14]. Vaginal candidiasis in pregnant women occurs on average in 30-40% of cases, and before childbirth – up to 44.4%. It should be noted that candidiasis of the genitourinary organs is 2-3 times more common during pregnancy than in non-pregnant women. It has been established correlation between the gestation period and the incidence of vaginal candidiasis. Such a high incidence of vaginal candidiasis during pregnancy is due to a number of factors: changes in hormonal balance; accumulation of glycogen in the epithelial cells of the vagina; the immunosuppressive effect of high progesterone levels and the presence of an immunosuppression factor associated with globulins in the blood serum. During pregnancy vaginal candidiasis undergoes by an asymptomatic state and frequent recidivism. Due to the increase of risk factors and the spreading of candida infection, the appearing of new data on pathogenesis as a background of immunodeficiency conditions, the

issues of prevention and treatment of candidiasis is a very difficult problem. This problem is particularly important during gestation due to the high risk of fetal damage. Pregnant and maternity women with vaginal candidiasis can be a source of both intrauterine and postnatal infection of newborns [15].

In the development of candidiasis infection, the following stages are distinguished: attachment (adhesion) of fungi to the surface of the mucous membrane with its colonization. Then their invasion into the epithelium, overcoming the epithelial barrier of the mucous membrane, invasion into connective tissue, overcoming tissue and cellular protective mechanisms, penetration into blood vessels, hematogenous dissemination with damage to various organs and systems [3]. More simply, at the first stage, the fungi adhere to the mucous membrane of the vagina and colonize it. This stage is most active if there are certain conditions – temperature + 37°C and pH 6.0. An inflammatory reaction occurs. This indicates the beginning of the development of candidiasis. Sometimes, after overcoming the vaginal epithelium, the pathogen enters the connective tissue, and then into the vessels, affecting organs and tissues [16].

Investigation of the dynamics of invasive growth of *Candida albicans* in host tissues, using experimental models of candida vaginitis in mice with leukopenia and stomatitis in newborn animals that developed a minimal inflammatory reaction, the rate of invasive growth of *C. albicans* in the multilayer epithelium of the mucous membrane was determined. It was found that pseudomycelium penetrates the epithelium at an average rate of 2 microns per hour, penetrating the entire epithelial membrane within 24-48 hours. These data were extrapolated to the clinical state of mice. Based on measurements of the thickness of the mucosal epithelium (performed using autopsy and biopsy material), the estimated periods of total penetration of the epithelium were calculated; such penetration leads to vascular invasion, which makes possible disseminated lesion. These periods ranged from 22 to 59 hours for various mucous membranes. Usually fungi found on the surface of the epithelium in the form of saprophytes. The results of researches demonstrate the penetration of fungi into the host tissue and deep (and in some cases disseminated) fungal damage within a few days [17]. Strains isolated from healthy adults and children have the least adhesive activity; fungi of adult patients have the greatest, and *C. albicans* has the highest [3]. Such rapid penetration into the host tissues and the resistance of the infection to therapy causes a long course of the disease and a very high prevalence. Adhesins are glycoproteins that allow yeast to attach to epithelial and endothelial cells [18]. Invasins are specialized proteins by which *C. albicans* stimulates host cells to endocytosis by binding to host cell ligands [19]. The target ligands are E-cadherin on epithelial cells and N-cadherin on endothelial cells [20]. Numerous genes are involved in adhesion to epithelial cells, and a large area of the glycoprotein cell surface encodes eight genes belonging to the family of agglutinin-like sequences of C. albicans [21]. It was established that biofilm formation is the most important virulence factor [22] Yeast cells begin to develop filamentous hyphae at the stage of proliferation of C. albicans cells in filaments. This is the most important stage at which cells can change their morphology, contributing to the formation of biofilm on the surface of the mucous membrane of the host organism [23, 6]. The process of biofilm formation is controlled by six genes (EFG1, BCR1, BRG1, NDT80, TEC1, and ROB1), which belong to the regulation network transcription [24,25].

Depending on the state of vaginal microcenosis, there are 3 forms of *Candida* infection of the vagina:

1. Asymptomatic candidiasis, in which there are no clinical manifestations of the disease, yeast-like fungi are detected in a low titer (less than 10^4 CFU/ ml), and lactobacilli in moderately large quantities absolutely dominate in the composition of microbial associates of vaginal microcenosis.

2. True candidiasis, in which fungi act as a causative agent, that comes to a clinically expressed picture of vaginal candidiasis. At the same time, Candida fungi (more than 10^4 CFU/ml) are present in the vaginal microcenosis in a high titer along with a high titer of

lactobacilli (more than 10^6 CFU/ml) in the absence of diagnostically significant titers of other opportunistic microorganisms.

3. A combination of vaginal candidiasis and bacterial vaginosis, in which yeast-like fungi participate in polymicrobial associations as pathogens of the disease. In these cases, yeast-like fungi (more often in high titer) are found against the background of a large number (more than 10^9 CFU / ml) of obligate anaerobic bacteria and Gardnerella with a sharp decrease in the concentration or absence of lactobacilli.

The clinical picture of vaginal candidiasis usually characterized by the following symptoms:

• copious or moderate curded discharge from the genital tract;
• itching, burning, irritation in the area of the external genitals;
• increased itching during sleep or after water treatments and sexual intercourse;
• an unpleasant odor that increases after sexual intercourse. [25].

The reasons that lead to the activation and growth of fungi include all those conditions and factors under the influence of which the vital activity of normal microflora is suppressed:

- taking medicines, which are suppressing the immune system (antibiotics, cytostatics, corticosteroids);
- the presence of chronic diseases, which also contributes to the weakening of the body's defenses (HIV infection, chronic hepatitis, tonsillitis, caries, cirrhosis of the liver, chronic kidney disease, etc.);
- lack of vitamins;
- hormonal disorders (diabetes mellitus, ovarian dysfunction, thyroid pathology, premenopause and menopause, overweight);
- pregnancy;
- hormonal contraceptives;
- intestinal dysbiosis;
- hypothermia, overheating, frequent time zone changes, stressful situations – these factors are additional and can aggravate or give rise to manifestations of vaginal candidiasis under "favorable" conditions.
- In addition, locally active factors predispose to the development of the disease:
- promiscuous sexual life;
- wearing wet underwear (after bathing, training);
- neglect or, on the contrary, excessive passion for personal hygiene;
- intimate hygiene products (deodorizing pads, tampons);
- the use of local contraception;
- wearing synthetic and/or tight underwear.

Vaginal candidiasis, as a rule, develops in women of childbearing age; however, the possibility of the disease in postmenopausal women, adolescent girls and even children. [26].

Maintaining the normal composition of the vaginal microflora is the key to a high quality of life and normal reproductive function of a woman. In this regard, vaginal infections, taking into account the prevalence and impact on the woman's body, fetal development and child health, are an important medical and social problem.

Funding

This research was funded by the Science Committee of Ministry of Scienceand Higher Education of the Repablic of Kazakhstan (Grant BR21882248 Development and organization of original domestic medicines production according to GMP standards).

References:

1 Sosnina A.S. Vaginalnyj kandidoz (molochnica) - simptomy i lechenie. *Probolezni*, 2020 (https://probolezny.ru/vaginalnyy-kandidoz/)

2 Mahnovec E.N. Sovremennye predstavleniya o vulvovaginalnom kandidoze i ego terapiya GBOU VPO «Novosibirskij gosudarstvennyj medicinskij universitet» *Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya*, 2013, 1: 9-15.

3 Silin K.A. Rasprostranenie i adgezivnaya aktivnost gribov kandida. *Elektronnyj nauchnyj zhurnal* APRIORI. Seriya: Estestvennye i tehnicheskie nauki, 2015,4: 1-6.

4 Talapko J, Juzbasic M, Matijevic T, Pustijanac E, Bekic S, Kotris I, Skrlec I. *Candida albicans*-The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection. *J Fungi (Basel),* 2021, 7:79 (doi.10.3390/jof7020079)

5 Konig A, Hube B, Kasper L. The Dual Function of the Fungal Toxin Candidalysin during *Candida albicans*-Macrophage Interaction and Virulence. *Toxins (Basel),* 2020, 12 (doi.10.3390/toxins12080469)

6 Talapko J, Skrlec I. The Principles, Mechanisms, and Benefits of Unconventional Agents in the Treatment of Biofilm Infection. Pharmaceuticals (Basel), 2020, 13: 299 (doi.10.3390/ph13100299)

7 Qiu S, Wu T, Wang P, Li J, Li Q, Du J. The Association between VEGFR Gene Polymorphisms and Stroke: A *Meta-Analysis. PLoS One*, 2016 ; 11 (doi: 10.1371/journal.pone.0151371)

8 El-Houssaini HH, Elnabawy OM, Nasser HA, Elkhatib WF. Influence of subinhibitory antifungal concentrations on extracellular hydrolases and biofilm production by *Candida albicans* recovered from Egyptian patients. *BMC Infect Dis*, 2019, 19:54 (doi: 10.1186/s12879-019-3685-0)

9 Schaller M, Borelli C, Korting HC, Hube B. Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. *Mycoses*, 2005, 48:365–377 (doi: 10.1111/j.1439-0507.2005.01165.x)

10 Chaim V., e.a. Late miscarriage and intraamniotic candidiasis in a woman with a retained intrauterine contraceptive device. *Arch Gynecol Obstet*, 1993, 253(3): 157-60.3 (doi: 10.1016/0002-9378(88)90505-4)

11McCaig LF, McNeil MM. Trends in prescribing for vulvovaginal candidiasis in the United States. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2005, 14(2): 113-20 (doi: 10.1002/pds.960)

12 Mukaremera L., Lee K.K., Mora-Montes H.M., Gow NAR. *Candida albicans* Yeast, Pseudohyphal and Hyphal Morphogenesis Differentially Affects Immune Recognition. *Front Immunol*, 2017: 629 (doi: 10.3389/fimmu.2017.00629)

13 Hamaganova I.V., Berkengejm M.L. Kandidoznyj vulvovaginit. *Informacionnyj portal*. M., 2015 (http://gynecolog.net/2015/06/kandidoznyjj-vulvovaginit/)

14 Gejro O.A. *Kliniko-laboratornaya harakteristika genitalnogo kandidoza u beremennyh zhenshin. Kand.dis.* SPb,2007 (https://www.dissercat.com/content/kliniko-laboratornaya-kharakteristika-genitalnogo-kandidoza-u-beremennykh-zhenshchin)

15 Tyutyunnik V.L., Ordzhonikidze N.V. Vaginalnyj kandidoz i beremennost. RMZh, 2001:833. https://www.rmj.ru/articles/akusherstvo/Vaginalynyy_kandidoz_i_beremennosty/ #ixzz 8J0 yMo8R1

16 Malysheva A.M. Vaginalnyj kandidoz u zhenshin reproduktivnogo vozrasta. *V sb. Sinergiya nauk*, 2018: 19. 1052-1055 (http://synergy-journal.ru/archive/article1693)

17 Bykov V.L. Dinamika invazivnogo rosta *Candida albicans* v tkanyah hozyaina. *Vestn dermatol i venerol*, 1990: 25-28.

18 Willaert R.G. Adhesins of Yeasts: Protein Structure and Interactions. *J Fungi (Basel)*, 2018: 4 (doi: 10.3390/jof4040119)

19 Pellon A., Begum N., Sadeghi Nasab S.D., Harzandi A., Shoaie S., Moyes D.L. Role of Cellular Metabolism during Candida-Host Interactions. *Pathogens*, 2022: 11 (doi: 10.3390/pathogens11020184)

20 Loh C.Y., Chai J.Y., Tang T.F., Wong W.F., Sethi G., Shanmugam M.K., Chong P.P., Looi C.Y. The E-Cadherin and N-Cadherin Switch in Epithelial-to-Mesenchymal Transition: Signaling, Therapeutic Implications, and Challenges. *Cells*, 2019: 8 (doi: 10.3390/cells8101118)

21 Hoyer L.L., Green C.B., Oh S.H., Zhao X. Discovering the secrets of the *Candida albicans* agglutinin-like sequence (ALS) gene family-a sticky pursuit. *Med Mycol*, 2008: 15-21 (doi: 10.1080/13693780701435317)

22 Pereira R., Dos Santos Fontenelle R.O., de Brito EHS, de Morais S.M. Biofilm of Candida albicans: formation, regulation and resistance. *J Appl Microbiol*, 2021: 11–22 (doi: 10.1111/jam.14949).

23 Tseng Y.K., Chen Y.C., Hou C.J., Deng F.S., Liang S.H., Hoo S.Y., Hsu C.C., Ke C.L., Lin C.H. Evaluation of Biofilm Formation in Candida tropicalis Using a Silicone-Based Platform with Synthetic Urine Medium. Microorganisms, 2020: 8 (doi: 10.3390/microorganisms8050660)

24 Mancera E., Nocedal I., Hammel S., Gulati M., Mitchell K.F., Andes D.R., Nobile C.J., Butler G., Johnson A.D. Evolution of the complex transcription network controlling biofilm formation in Candida species. Elife, 2021: 10 (doi: 10.7554/eLife.64682)

25 Prilepskaya V.N., Bajramova G.R. Sovremennye predstavleniya o vaginalnom kandidoze. RMZh. 1998: 5. (https://www.rmj.ru/articles/ginekologiya/sovremennye_predstavleniya_ o_vaginalynom _kandidoze/#ixzz8mw6ubmng)

26 Sozinova A.V, Vaginalnyj kandidoz *Elektronnyj portal Nizhegorodskaya oblastnaya farmaciya*, Novgorod, 2015 (https://gosapteka.ru/ency/vaginalnyy_kandidoz/)

З.Ж. ТУРЛЫБАЕВА[1*], Б.Б. БАЙМАХАНОВА[1], А.К. САДАНОВ[1],
О.Н. ЛАХК[1], С.Э. ОРАЗЫМБЕТ[1], И.Р. КУЛМАГАМБЕТОВ[1],
А.Д. МАСИРБАЕВА[1], Ш.М. МИРАЛИМОВА[2]
[1]Микробиология және вирусология ғылыми- өндірістік орталығы, Алматы, Қазақстан
[2]Өзбекстан Республикасы Ғылым академиясының Микробиология институты, Ташкент, Өзбекстан
[*]e-mail: tzj2009@yandex.kz

ҚЫНАПТЫҚ КАНДИДОЗ ЖӘНЕ ИНФЕКЦИЯНЫҢ КЛИНИКАЛЫҚ КӨРІНІСТЕРІ

Түйін

Қынаптық кандидоз клиникалық медицинадағы өзекті мәселелердің бірі болып табылады. Оның әлеумет үшін маңыздылығы – оның өте кең таралғандығында. Соңғы жылдары қынаптық кандидоз ауруларының жиілігі 2 есе артып, қынаптың зеңмен зақымдалуының созылмалы және жиі қайталанатын формалары көбейіп келеді. Әйел қынабында мекендейтін микрофлора құрамына аз мөлшерде шартты-патогенді микрофлораның кіретіндігі мәлім. Қынап микрофлорасының өзгеруіне әсер ететін көптеген факторлар оның зеңмен, соның ішінде қынаптық кандидозбен зақымдануына әкеліп соғады. Берілген шолуда қынаптық кандидоздың туу себептері мен патологиясы туралы ғылыми ақпараттар келтірілген.

Кілтті сөздер: қынаптық кандидоз, *Candida* туысының зеңдері, лактобактериялар, адгезия, инвазиялау (енгізу).

МРНТИ: 34.27.29

З.Ж. ТУРЛЫБАЕВА[1*], Б.Б. БАЙМАХАНОВА[1], А.К. САДАНОВ[1],
О.Н. ЛАХК[1], С.Э. ОРАЗЫМБЕТ[1], И.Р. КУЛМАГАМБЕТОВ[1],
А.Д. МАСИРБАЕВА[1], Ш.М. МИРАЛИМОВА[2]
[1]Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии, Алматы, Казахстан
[2]Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент, Узбекистан
[*]e-mail: tzj2009@yandex.kz

ВАГИНАЛЬНЫЙ КАНДИДОЗ И КЛИНИЧЕСКИЕ ПРОЯВЛЕНИЯ ИНФЕКЦИИ

doi:10.53729/MV- AS.2024.01.03

Аннотация

Вагинальный кандидоз является одной из наиболее актуальных проблем клинической медицины. Его высокая социальная значимость обусловлена широкой распространенностью. За последние годы частота выявления кандидоза возросла в 2 раза, увеличилось количество хронических и часто рецидивирующих форм грибкового поражения влагалища. Комбинированный состав микрофлоры влагалища женщины включает в небольшом количестве условно-патогенную микрофлору. Многочисленные факторы изменения микрофлоры влагалища

способны привести к различным видам грибковой инфекции, в частности, к вагинальному кандидозу. В обзоре приводятся научные данные по этиологии и патогенезу вагинального кандидоза.

Ключевые слова: вагинальный кандидоз, грибы рода *Candida,* лактобактерии, адгезия, инвазирование.

Причиной возникновения вагинального кандидоза является трансформация сапрофирующей формы дрожжеподобных грибов вульвы и вагины в вирулентную, аутоинфицирование из экстрагенитальных очагов кандидоза (преимущественно кишечника). Синонимами слова вагинальный кандидоз являются урогенитальный кандидоз, кандидозный кольпит (вагинит), «молочница». Вагинальный кандидоз ("молочница") это, как правило, внешнее проявление дефицита местного иммунитета, проседающего зачастую на фоне скрытых заболеваний, передающихся половым путем (хламидии, уреаплазмы и др.). Для результативности лечения вагинального кандидоза необходимо применение противогрибковых лекарственных средств в сочетании с комплексом препаратов, оптимизирующих иммунитет [1].

Рост заболеваний микозами возрастает в связи с широтой нерационального применения антибиотиков, цитостатических препаратов, глюкокортикоидов, с трансплантацией органов и другими лечебными мероприятиями [2].

Грибы рода *Candida*, которые в небольшом количестве представлены в нормальной микрофлоре влагалища, при определенных обстоятельствах подавляют рост лактобактерий (молочнокислых бактерий), активно размножаются, вызывая характерные клинические проявления вагинального кандидоза, и создают условия для заселения влагалища болезнетворными организмами.

В настоящее время известно более 300 видов грибов рода *Candida*, из них со слизистых оболочек человека выделяют более 27 видов: *C. albicans* – в 80%, *C. glabrata* – в 15-30%, *C. tropicalis, C. krusei, C. parapsilosis* - в 4-7% случаев. Способность сапрофитных грибов колонизировать человеческие ткани проявляется только у больных с глобальными дефектами иммунной системы [3]. *Candida albicans* долгое время был наиболее распространенным грибковым патогеном, выделяемым при эпизодах кандидоза. Тем не менее, недавние литературные сообщения раскрывают все более важную роль других видов, не относящихся к *C.albicans*, таких как *Candida glabrata* (*C. glabrata*), *Candida parapsilosis* (*C. parapsilosis*), *Candida krusei* (*C. krusei*), *Candida tropicalis* (*C. tropicalis*) и совсем недавно *Candida auris* (*C. auris*).

C. albicans — это полиморфный гриб, который в зависимости от среды, в которой он находится, может изменять свою морфологию от дрожжевой формы (бластоконидии) до псевдогифов и гиф. Установлено, что одним из наиболее важных отличий *C. albicans* от других видов является способность образовывать истинный мицелий *in vivo* при благоприятных условиях. Идентифицированы два серотипа *C. albicans*, а именно тип А и тип В, в зависимости от его антигенной структуры. Многочисленные факторы способствуют заметному увеличению инвазивных грибковых инфекций, включая гипергликемию – высокое содержание сахара в крови. Гипергликемическая среда, богатая углеводами, служит источником энергии, необходимой для производства биопленок и матриц, которые защищают клетки гриба от внешних воздействий. *C. albicans* может продуцировать цитолитический фермент, известный как кандидализин, и гифы отвечают за его секрецию [4]. Этот фермент играет жизненно важную роль в развитии инфекций слизистой оболочки влагалища[5]. Непосредственным фактором вирулентности *C. albicans* является секреция гидролитических ферментов аспартилпротеиназы и фосфолипазы, а также гемолизина, которые усиливают патогенные эффекты, такие как связывание с тканью хозяина и разрыв клеточной мембраны. В результате их активности облегчается инвазия на поверхность слизистой оболочки. Кроме того, они ответственны за предотвращение иммунного ответа хозяина [6 - 8]. У *C. albicans* присутствуют, по

меньшей мере, десять представителей семейства генов аспартилпротеиназы, в то время как фосфолипаза зарегистрирована в четырех семействах [9]. Наконец, одним из существенных факторов, влияющих на вирулентность *C. albicans,* является тигомотропизм (контактное восприятие), который регулируется поступлением внеклеточного кальция и в значительной степени способствует распространению в ткани хозяина и развитию биопленки [4].

Грибковые инфекции опасны своими осложнениями, поскольку могут проникать во внутренние органы мочеполовой системы, вызывая различные заболевания этой сферы вплоть до бесплодия. Вагинальный кандидоз относится к числу наиболее распространенных заболеваний женщин и составляет от 40% до 50% в структуре инфекционной патологии нижнего отдела гениталий, являясь самой частой причиной их обращения к врачам женской консультации [10, 11]. Одним из наиболее важных факторов является диморфизм, который представляет собой способность *C. albicans* изменять свою форму с дрожжевой на плесневую с последующим образованием настоящих гифов при благоприятных условиях. Последний признак значительно увеличивает его инвазивность и протеолитическую активность; однако в дрожжевой форме он демонстрирует склонность к большему распространению [12].

При нормальном составе микрофлоры влагалища среднее количество аэробных и анаэробных микроорганизмов во влагалищном отделяемом в норме составляет 10^5–10^8 КОЕ/мл, а их соотношение — 10:1. В микробиоценозе влагалища женщин репродуктивного возраста преобладают пероксипродуцирующие лактобациллы (95-98%). Колонизируя слизистую влагалища, лактобактерии участвуют в формировании экологического барьера и обеспечивают тем самым резистентность вагинального биотопа. Основным механизмом, обеспечивающим колонизационную резистентность вагинального биотопа, является их способность к кислотообразованию. В норме pH среды влагалища составляет 3,8–4,5. Кроме того, защитные свойства лактобацилл реализуются по-разному: за счет антагонистической активности, адгезивных свойств, способности продуцировать лизоцим, перекись водорода. Местные противогрибковые и противомикробные факторы, синтезируемые слизистой влагалища: трансферрин, лактоферрин, лизоцим, церулоплазмин, белки острой фазы и др. Недостаток некоторых из них, в частности трансферрина, предрасполагает к развитию кандидоза [13].

По данным мировой статистики 75% женщин имели один эпизод этого заболевания, а в более 50% случаев у них наблюдались рецидивы. Медико-социальная опасность кандидозного вульвовагинита заключается в том, что он является причиной развития инфекционной патологии женских половых органов, вызывает осложнения протекания беременности, инфицирование плода и новорожденного, снижает качество жизни женщины. За последние 20 лет частота кандидоза среди доношенных новорожденных возросла в 8 раз, с 1,9 % до 15,6%, реально увеличивая угрозу здоровью будущего поколения [14]. Вагинальный кандидоз у беременных встречается в среднем в 30-40% случаев, а перед родами – до 44,4%. Необходимо отметить, что кандидоз мочеполовых органов в 2-3 раза чаще встречается при беременности, чем у небеременных женщин. Установлена прямая связь между сроком гестации и частотой возникновения вагинального кандиоза Столь высокая частота возникновения кандидоза влагалища в период гестации обусловлена рядом факторов: изменения гормонального баланса; накопление гликогена в эпителиальных клетках влагалища; иммуносупрессорным действием высокого уровня прогестерона и присутствием в сыворотке крови фактора иммуносупрессиии, связаного с глобулинами. Для вагинального кандидоза во время беременности характерны бессимптомное течение и частые рецидивы. В связи с увеличением числа факторов риска и широким распространением кандидозной инфекции, появлением новых данных о патогенезе на фоне иммунодефицитных состояний, вопросы профилактики и лечения кандидоза в настоящее время представляют весьма сложную проблему. Особое значение эта проблема приобретает в период гестации из-за высокого

риска поражения плода. Беременные и родильницы с вагинальным кандидозом могут быть источником как внутриутробного, так и постнатального инфицирования новорожденных [15].

В развитии кандидозной инфекции различают следующие этапы: прикрепление (адгезия) грибов к поверхности слизистой оболочки с ее колонизацией, внедрение (инвазию) их в эпителий, преодоление эпителтального барьера слизистой оболочки, инвазия в соединительную ткань, преодоление тканевых и клеточных защитных механизмов, проникновение в сосуды, гематогенная диссеминация с поражением различных органов и систем [3]. Проще говоря, на первом этапе грибы адгезируются к слизистой оболочке влагалища и колонизируют ее. Наиболее активно этот этап протекает, если есть определенные условия – температура +37°С и pH 6,0. Затем следует этап инвазирования грибов в эпителий влагалища. Возникает воспалительная реакция. Эта фаза говорит о начале развития кандидоза. Иногда, после преодоления эпителия влагалища, возбудитель попадает в соединительную ткань, а затем - в сосуды, поражая патогенным путем различные органы и ткани [16].

Исследуя динамику инвазивного роста *Candida albicans* в тканях хозяина, используя экспериментальные модели кандидозного вагинита у мышей с лейкопенией и стоматита у новорожденных животных, у которых развилась минимальная воспалительная реакция, была определена скорость инвазивного роста *C. albicans* в многослойном эпителии слизистой оболочки. Было обнаружено, что псевдомицелий проникает в эпителий со средней скоростью 2 микрона в час, проникая во всю эпителиальную оболочку в течение 24–48 часов. Эти данные были экстраполированы на клиническое состояние. На основе измерений толщины эпителия слизистой оболочки (выполненных с использованием аутопсии и биопсийного материала) были рассчитаны предполагаемые периоды общего проникновения эпителия; такое проникновение приводит к сосудистой инвазии, что делает возможным диссеминированное поражение. Эти периоды варьировали от 22 до 59 часов для различных слизистых оболочек. Результаты демонстрируют проникновение грибов, обычно обнаруживаемых на поверхности эпителия в виде сапрофитов, в ткани хозяина и вызывают глубокое (а в некоторых случаях и диссеминированное) грибковое поражение в течение нескольких дней [17]. Наименьшей адгезивной активностью обладают штаммы, выделенные от здоровых взрослых и детей; наибольшей - грибы взрослых больных, причем наиболее высокой – *C. albicans* [3]. Столь стремительное проникновение в ткани хозяина и устойчивость инфекции к терапии обусловливает длительное течение заболевания и очень высокую распространенность. Адгезины - это гликопротеины, которые позволяют дрожжам прикрепляться к эпителиальным и эндотелиальным клеткам [18]. Инвазины представляют собой специализированные белки, с помощью которых *C. albicans* стимулирует клетки-хозяева к эндоцитозу путем связывания с лигандами клетки-хозяина [19]. Лигандами-мишенями являются Е-кадгерин на эпителиальных клетках и N-кадгерин на эндотелиальных клетках [20]. Многочисленные гены участвуют в адгезии к эпителиальным клеткам, а большая площадь клеточной поверхности гликопротеина кодирует восемь генов, принадлежащих к семейству агглютининоподобных последовательностей *C. albicans* [21]. Образование биопленок признано важнейшим фактором вирулентности [22]. На стадии пролиферации клеток *C. albicans* образуются нити, в которых дрожжевые клетки начинают развивать нитевидные гифы. Это наиболее важный этап, на котором клетки могут изменять свою морфологию, способствуя, в свою очередь, образованию биопленки на поверхности слизистой оболочки организма-хозяина [23, 6]. Процесс формирования биопленки контролируется шестью генами (EFG1, BCR1, BRG1, NDT80, TEC1, и ROB1), которые принадлежат к сети регуляции транскрипции [24,25].

В зависимости от состояния вагинального микроценоза выделяют 3 формы *Candida* – инфекции влагалища:

1. Бессимптомное кандидоносительство, при котором отсутствуют клинические проявления заболевания, дрожжеподобные грибы выявляются в низком титре (менее 10^4 КОЕ/мл), а в составе микробных ассоциантов вагинального микроценоза абсолютно доминируют лактобациллы в умеренно большом количестве.

2. Истинный кандидоз, при котором грибы выступают в роли моновозбудителя, вызывая клинически выраженную картину вагинального кандидоза. При этом в вагинальном микроценозе в высоком титре присутствуют грибы *Candida* (более 10^4 КОЕ/мл) наряду с высоким титром лактобацилл (более 10^6 КОЕ/мл) при отсутствии диагностически значимых титров других условно–патогенных микроорганизмов.

3. Сочетание вагинального кандидоза и бактериального вагиноза, при котором дрожжеподобные грибы участвуют в полимикробных ассоциациях, как возбудители заболевания. В этих случаях дрожжеподобные грибы (чаще в высоком титре) обнаруживают на фоне большого количества (более 10^9 КОЕ/мл) облигатных анаэробных бактерий и гарднерелл при резком снижении концентрации или отсутствии лактобацилл.

Клиническая картина вагинального кандидоза обычно характеризуется следующими симптомами:

• обильными или умеренными творожистыми выделениями из половых путей;
• зудом, жжением, раздражением в области наружных половых органов;
• усилением зуда во время сна или после водных процедур и полового акта;
• неприятным запахом, усиливающимся после половых контактов [25].

К причинам, которые приводят к активизации и росту грибков, относятся все те состояния и факторы, под действием которых подавляется жизнедеятельность нормальной микрофлоры:

- прием лекарственных средств, на фоне которых угнетается иммунитет (антибиотики, цитостатики, кортикостероиды);
- наличие хронических заболеваний, что также способствует ослаблению защитных сил организма (ВИЧ-инфекция, хронический гепатит, тонзиллит, кариес, цирроз печени, хроническая патология почек и прочее);
- недостаток витаминов;
- гормональные нарушения (сахарный диабет, расстройство работы яичников, патология щитовидной железы, пременопауза и менопауза, избыточный вес);
- беременность;
- гормональные контрацептивы;
- дисбактериоз кишечника;
- переохлаждение, перегревание, частая смена часового пояса, стрессовые ситуации – эти факторы являются дополнительными и могут усугублять или давать старт проявлениям вагинального кандидоза при «благоприятных» условиях.
- Кроме того, предрасполагают к развитию заболевания и местно-действующие факторы:
- беспорядочная половая жизнь;
- ношение влажного белья (после купания, тренировок);
- пренебрежение или, напротив, чрезмерное увлечение личной гигиеной;
- средства интимной гигиены (дезодорирующие прокладки, тампоны);
- использование местной контрацепции;
- ношение синтетического и/или тесного нижнего белья.

Вагинальный кандидоз, как правило, развивается у женщин детородного возраста, однако не исключается возможность возникновения заболевания у женщин в постменопаузе, у девочек-подростков и даже детей [26].

Поддержание нормального состава микрофлоры влагалища является залогом высокого качества жизни и нормальной репродуктивной функции женщины. В связи с этим вагинальные инфекции, с учетом распространенности и влияния на организм женщины, развитие плода и здоровье ребенка, являются важной медико-социальной проблемой.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Комитета Науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (грант BR21882248 «Разработка и организация производства оригинальных отечественных лекарственных средств по стандартам GMP»).

Литература:

1 Соснина А.С. Вагинальный кандидоз (молочница) - симптомы и лечение. *Проболезни*, 2020 (https://probolezny.ru/vaginalnyy-kandidoz/)

2 Махновец Е.Н. Современные представления о вульвовагинальном кандидозе и его терапия ГБОУ ВПО «Новосибирский государственный медицинский университет». *Клиническая дерматология и венерология,* 2013, 1: 9-15.

3 Силин К.А. Распространение и адгезивная активность грибов кандида. *Электронный научный журнал APRIORI.* Серия: Естественные и технические науки, 2015,4: 1-6.

4 Talapko J, Juzbašić M, Matijević T, Pustijanac E, Bekić S, Kotris I, Škrlec I. *Candida albicans*-The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection. *J Fungi (Basel),* 2021, 7:79 (doi.10.3390/jof7020079)

5 König A, Hube B, Kasper L. The Dual Function of the Fungal Toxin Candidalysin during *Candida albicans*-Macrophage Interaction and Virulence. *Toxins (Basel),* 2020, 12 (doi.10.3390/toxins12080469)

6 Talapko J, Škrlec I. The Principles, Mechanisms, and Benefits of Unconventional Agents in the Treatment of Biofilm Infection. *Pharmaceuticals (Basel),* 2020, 13: 299 (doi.10.3390/ph13100299)

7 Qiu S, Wu T, Wang P, Li J, Li Q, Du J. The Association between VEGFR Gene Polymorphisms and Stroke: *A Meta-Analysis. PLoS One*, 2016 ; 11 (doi: 10.1371/journal.pone.0151371)

8 El-Houssaini HH, Elnabawy OM, Nasser HA, Elkhatib WF. Influence of subinhibitory antifungal concentrations on extracellular hydrolases and biofilm production by *Candida albicans* recovered from Egyptian patients. *BMC Infect Dis,* 2019, 19:54 (doi: 10.1186/s12879-019-3685-0)

9 Schaller M, Borelli C, Korting HC, Hube B. Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. *Mycoses*, 2005, 48:365–377 (doi: 10.1111/j.1439-0507.2005.01165.x)

10 Chaim V., e.a. Late miscarriage and intraamniotic candidiasis in a woman with a retained intrauterine contraceptive device. *Arch Gynecol Obstet*, 1993, 253(3): 157-60.3 (doi: 10.1016/0002-9378(88)90505-4)

11McCaig LF, McNeil MM. Trends in prescribing for vulvovaginal candidiasis in the United States. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2005, 14(2): 113-20 (doi: 10.1002/pds.960)

12 Mukaremera L., Lee K.K., Mora-Montes H.M., Gow NAR. *Candida albicans* Yeast, Pseudohyphal and Hyphal Morphogenesis Differentially Affects Immune Recognition. *Front Immunol*, 2017: 629 (doi: 10.3389/fimmu.2017.00629)

13 Хамаганова И.В., Беркенгейм М.Л. Кандидозный вульвовагинит. *Информационный портал*. М., 2015 (http://gynecolog.net/2015/06/kandidoznyjj-vulvovaginit/)

14 Гейро О.А. *Клинико-лабораторная характеристика генитального кандидоза у беременных женщин. Канд.дис.* СПб,2007 (https://www.dissercat.com/content/kliniko-laboratornaya-kharakteristika-genitalnogo-kandidoza-u-beremennykh-zhenshchin)

15 Тютюнник В.Л., Орджоникидзе Н.В. Вагинальный кандидоз и беременность. РМЖ, 2001:833. (https://www.rmj.ru/articles/akusherstvo/Vaginalynyy_kandidoz_i_beremennosty/ #ixzz 8J0 yMo8R1)

16 Малышева А.М. Вагинальный кандидоз у женщин репродуктивного возраста. *В сб. Синергия наук*, 2018: 19. 1052-1055 (http://synergy-journal.ru/archive/article1693)

17 Быков В.Л. Динамика инвазивного роста *Candida albicans* в тканях хозяина. *Вестн дерматол и венерол*, 1990: 25-28.

18 Willaert R.G. Adhesins of Yeasts: Protein Structure and Interactions. *J Fungi (Basel)*, 2018: 4 (doi: 10.3390/jof4040119)

19 Pellon A., Begum N., Sadeghi Nasab S.D., Harzandi A., Shoaie S., Moyes D.L. Role of Cellular Metabolism during Candida-Host Interactions. *Pathogens*, 2022: 11 (doi: 10.3390/pathogens11020184).

20 Loh C.Y., Chai J.Y., Tang T.F., Wong W.F., Sethi G., Shanmugam M.K., Chong P.P., Looi C.Y. The E-Cadherin and N-Cadherin Switch in Epithelial-to-Mesenchymal Transition: Signaling, Therapeutic Implications, and Challenges. *Cells*, 2019: 8 (doi: 10.3390/cells8101118)

21 Hoyer L.L., Green C.B., Oh S.H., Zhao X. Discovering the secrets of the *Candida albicans* agglutinin-like sequence (ALS) gene family-a sticky pursuit. *Med Mycol*, 2008: 15- 21 (doi: 10.1080/13693780701435317)

22 Pereira R., Dos Santos Fontenelle R.O., de Brito EHS, de Morais S.M. Biofilm of Candida albicans: formation, regulation and resistance. *J Appl Microbiol*, 2021: 11–22 (doi: 10.1111/jam.14949)

23 Tseng Y.K., Chen Y.C., Hou C.J., Deng F.S., Liang S.H., Hoo S.Y., Hsu C.C., Ke C.L., Lin C.H. Evaluation of Biofilm Formation in Candida tropicalis Using a Silicone-Based Platform with Synthetic Urine Medium. Microorganisms, 2020: 8 (doi: 10.3390/microorganisms8050660)

24 Mancera E., Nocedal I., Hammel S., Gulati M., Mitchell K.F., Andes D.R., Nobile C.J., Butler G., Johnson A.D. Evolution of the complex transcription network controlling biofilm formation in Candida species. Elife, 2021: 10 (doi: 10.7554/eLife.64682)

25 Прилепская В.Н., Байрамова Г.Р. Современные представления о вагинальном кандидозе. РМЖ. 1998: 5. (https://www.rmj.ru/articles/ginekologiya/sovremennye_predstavleniya_ o_vaginalynom _kandidoze/#ixzz8mw6ubmng)

26 Созинова А.В, Вагинальный кандидоз *Электронный портал Нижегородская областная фармация*, Новгород, 2015 (https://gosapteka.ru/ency/vaginalnyy_kandidoz/)

IRSTI: 34.27.29

T.V. MELNIKOVA[1], A.M. BAGYBAEVA[1*], N. Ch. HANIF[2], G.Sh. MUSSINA[3], G.A. JAMALOVA[1]
[1]Scientific and Diagnostic Center «Animal Expert Group», Almaty, Kazakhstan
[2]Boerinher Ingelheim, Lahore, Pakistan
[3]Scientific and Production Center «UniVet», Almaty,Kazakhstan
*e-mail: a.bagybaeva@aeg-lab.kz

BIOLOGICAL AND ECOLOGICAL CHARACTERISTICS OF THE SALMONELLOSIS CAUSATIVE AGENT IN COMMERCIAL CHICKENS

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.04

Abstract

In the process of a systematic research review, the biological, evolutionary, and ecological features of *Salmonella*, contributing to its colonization in poultry, were studied. The disease in farm chickens is caused by specific (*Salmonella pullorum*, *Salmonella gallinarum*) and nonspecific (*Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium*) salmonella. *Salmonella* infection, as well as multidrug resistance in *Salmonella* isolates, represents a global problem for the poultry industry and public health. *Salmonella* bacteria are one of the causes of acute and chronic poultry infectious diseases. Being a reservoir of *Salmonella*, the infected chicken can transmit this pathogen through the food chain to humans. The aim of the work is to update the data on genotypic and phenotypic characterization of bacteria of Salmonella genus. The scientific importance of the study consists in a detailed analysis of the current bioecological characteristics of the pathogen of salmonellosis of farm chickens, practical - in the possibility of improving, on the basis of the obtained relevant information, ways to prevent their spread in poultry farms and their transmission through chicken products to humans. The greatest damage to chickens is caused by three serovars of *Salmonella*: *Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium* and *Salmonella Gallinarup pullorum.* In chickens, the *Gallinarum* (SG) serovar is divided into *Gallinarum* (bvG) and *Pullorum* (bvP) biovars. They affect adult birds (with typhoid fever causing acute or chronic septicemic disease) and young ones (with pullorosis causing weakness, loss of appetite, diarrhea, exhaustion, and growth retardation). The transmission routes of the *Gallinarum* serovar in birds are horizontal (through contact with the environment, infected birds, and poultry houses) and vertical (through fertilized eggs). The percentage of flocks affected by pullorosis and typhoid fever is high, and the mortality rate of chickens of predominantly 2-3 weeks of age, for example with pullorosis, can reach 100% in a herd. Salmonellosis in humans is caused by the *Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium* serotypes with poultry and its products as the primary reservoirs. Prevention programs lead to a decrease in *Salmonella* incidence in poultry herds and, depending on the standards adopted by the state, the prevalence of various *Salmonella serovars* among chickens ranges from 6 to 30%. Salmonellosis control and prevention at poultry facilities in Kazakhstan are carried out on the basis of current legislative, regulatory veterinary, and sanitary documents.

Keywords: *Salmonella*, salmonellosis, poultry, pullorosis, typhoid fever.

The study of evolutionary, biological and ecological characterization of the causative agent of salmonellosis of farm chickens is relevant. Since annually, according to WHO data, food-borne diseases affect an average of 550 million people and 33 million years of healthy livelihood are lost. At the same time, *Salmonella enterica* ranks fourth in the world list of diarrheal diseases [1]. The key reservoir of various serotypes of nontyphoidal *Salmonella* are farm chickens, and their products (eggs, meat) dominate the transmission of infection to humans.

The aim of the work is to update the data on genotypic and phenotypic characterization of bacteria of the genus *Salmonella*, providing colonization of farm chickens in conditions of industrial poultry farming.

Scientific novelty is characterized by the reflection in the article of modern complex (evolutionary, physiological, genetic, biochemical and ecological) ideas about the mechanisms of

persistence of bacteria of the genus *Salmonella* in the environment, about their ability to penetrate and colonize the cell and methods of detection of *Salmonella* serotypes.

The scientific significance of the study lies in a detailed analysis of the current bioecological characteristics of the causative agent of salmonellosis of farm chickens, practical - in the improvement of ways to prevent their spread in poultry farms and their transmission through chicken products to humans.

Materials and methods of research

The work was based on theoretical research. From March to September 2023 on electronic platforms (Web of Science, Scopus, Science of Kazakhstan, National Center for State Scientific and Technical Expertise, National Center of Expertise and Certification, Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan, Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan, Scientific Electronic Library, etc.) was searched and analyzed. Scientific, legislative and regulatory literature devoted to the disclosure of biological and environmental characteristics of the causative agent of salmonellosis of farm chickens, prophylactic and others.

Results of theoretical research and discussion

Specific and non-specific *Salmonella*

The *Salmonella* genus, as a colonizer of the gastrointestinal tract of farm animals and birds [2], is a zoonotic bacterium from the *Enterobacteriaceae* family [3] with the ability to spread along the food chain [4] through feed to animals (birds, pigs, sheep, cattle) and further to humans [5], as well as due to re-occurrence [6].

Salmonella infection along with multidrug resistance of *Salmonella* isolates is a global challenge for public health and animal farming, since food contamination can occur at various stages of the food chain (production → processing → distribution → sale → consumption) [7, 8], as well as through person-to-person interaction [5]. Chicken infection with salmonellosis leads to huge economic losses, and the presence of *Salmonella* in chicken products hinders international trade. Therefore, in order to prevent *Salmonella* infection in poultry, additional costs for epidemiological surveillance, prevention and control are required [8-10].

The disease in chickens is caused by specific (*Salmonella pullorum, Salmonella gallinarum*) and non-specific (*Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium*) *Salmonella* [11] (Table 1).

Table 1 – Specific and Non-specific *Salmonella* in Chickens [11-18]

№	Indicator	Pullorosis	Fowl typhoid	Fowl paratyphoid
1	2	3	4	5
1	Definition	Specific infection. Acute systemic septic disease of chicks and young birds	Specific infection. Severe septic disease, affects birds of all ages, especially adults	Nonspecific fowl paratyphoid infection causing human food poisoning with *Salmonella*
2	Causative Agent	Non-motile *Salmonella pullorum*	Non-motile *Salmonella gallinarum*	Motile *Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium*
3	Transmission	Oral; through the navel/yolk; vertical. The recovered chicken becomes a carrier and transmits bacteria to one third of its eggs	Horizontally: through the fecal-oral route, egg consumption. Vertical	Horizontal: directly from infected birds that remain carriers; from contaminated environment or infected rodents. Vertical

Table 1 continued

1	2	3	4	5
4	Clinical Data	From poor appetite and growth (in young birds) to rapid death (depression, ruffled feathers, pale and/or wrinkled crests, difficulty breathing, diarrhea)	Depression. Ruffled feathers. Lack of appetite. Diarrhea. Inactivity 90% mortality	Depression. Poor growth. Weakness. Diarrhea. Dehydration. Wing droopiness. Constant vocalization. Swollen joints. Purple comb and earlobes.
5	Major Lesions	Edema and hyperemia of organs (liver, kidneys, spleen, heart) with white foci in affected tissues; pericarditis or peritonitis, etc.	Enlarged bronze liver with small necrosis foci; anemia and enteritis; creamy or caseous changes in the yolk sac contents; ovarian deformity, etc.	Enlarged liver with necrosis, non-absorbable yolk sac and enteritis with necrotic lesions, etc.

As it can be seen in Table 1, the *Gallinarum* (SG) serovar in chickens is divided into *Gallinarum* (bvG) and *Pullorum* (bvP) biovars, which are monophyletic and affect adult birds (with typhoid fever (FT); causes acute or chronic septicemic disease) and young ones (pullorosis; causes weakness, loss of appetite, diarrhea, exhaustion, and growth retardation) respectively. The transmission routes of the *Gallinarum* serovar in birds are horizontal (through contact with infected birds, the environment and poultry houses) and vertical (through fertilized eggs), while morbidity and mortality are high and can reach 100% of chickens (for example with pullorosis), mainly 2-3- one week old [15, 19-22]. The *Salmonella* infection rate in farm chickens varies from 1% (in developed countries) to 10% (in developing countries due to challenging epidemiological conditions) [23]. At the same time the *Salmonella* prevalence on average is 7% on farms, 19.2% in commercial broiler farms, 10.3% in hatcheries, 62.9% in slaughterhouses, 46.3% in retail butcher shops, 54.7% in retail chicken meat, and in one out of 20,000 eggs [24-27].

According to the data of domestic scientists, the circulation of *Salmonella* rare type was isolated from samples obtained from the environment. The authors suggested that the range of distribution of rare *Salmonella* species is influenced by ecology [28]. Serovars of *Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium*, including those with resistance to ampicillin and tetracycline, were also isolated in Kazakhstan from different food products [29-32].

Salmonellosis in humans is caused by the *Salmonella enteritidis* and *Salmonella typhimurium* serotypes, with, as it can be seen in Table 1, poultry and its products serving as the primary reservoir [33, 34].

Thus, some serovars (*S.enteritidis, S.typhimurium*) can affect not only farm birds, but also humans [35], others (*S. pullorum and S. gallinarum*) — only chicks and chickens, causing pullorosis and typhoid fever [36, 37].

In the adult population, clinical symptoms of salmonellosis are mainly associated with gastroenteritis, diarrhea, abdominal pain, fever, headache, nausea and /or vomiting, which usually disappear within 2-7 days. In children and elderly patients, the disease can progress to a severe and life-threatening condition accompanied by systemic bacteremia [38]. In the world, salmonellosis infection affects approximately 550 million people annually [1] and the number of registered cases is usually up to 115 million. Mortality reaches up to 370 thousand cases [39]. Subclinical infections are common in animals, in which bacteria can easily spread between herds with no clinical signs, and animals can become periodic or permanent carriers [40]. The clinical picture of the disease is influenced by serotype, infectious dose, virulence factors, and host immunity [41].

General biological characterization of bacteria of the genus *Salmonella*

Bacteria of the genus *Salmonella:*

1 belong to the *Enterobacteriaceae* family and include two species — *Salmonella enterica* and *Salmonella bongori* [42].

2 are non-spore-forming gram-negative bacilli with a length of 1-2.5 μm and a width of 0.3-1.0 μm, with optimal growth at 37 °C and pH 4-9 [21, 22. 43. 44].

3 have facultative anaerobic properties [45].

4 are motile, with the exception of the *Salmonella enterica Serovar Gallinarum* poultry pathogen (bvG; bvP), due to the presence of peritrichial flagella on the entire cell surface [43, 44].

5 Biochemically they are characterized by:

1) the presence of the enzyme catalase (catalase positive) [46-48];

2) the absence of the enzyme oxidase (oxidase-negative) [46-48];

3) the formation of hydrogen sulfide (with possible exceptions of domestic birds' pathogens) [46-48];

4) lack of lactose fermentation [49];

5) decarboxylation of lysine, ornithine [49];

6) absence of urea hydrolysis [49];

7) lack of indole formation [49];

8) fermentation of mannitol with the formation of gas [49], with the exception of *S. gallinarum*, which ferments mannitol without gas formation;

9) lack of sucrose fermentation [49].

6 are thermolabile and die at 70°C, but they can survive up to two or more years under harsh environmental conditions and in the dust layer [50].

7 possess a diverse set of genetic mechanisms that encode the ability to colonize, attach, penetrate, and multiply inside host cells. These mechanisms include fimbriae, capsule, flagella, and toxins, as well as virulence genes organized in their genetic determinants, such as pathogenicity islands (SPI), virulence plasmids, acid resistance proteins, etc. [51, 52].

Salmonella virulence genes

- contribute to survival, host infection and colonization [53];
- are expressed after a collision with a hostile environment of the host's gastrointestinal tract [54];
- are critical elements of systemic infections [55].

Salmonella molecular pathogenicity mechanisms involve grouped genes called pathogenicity islands (SPI), which [55-58]:

- are associated with virulence mechanisms such as host colonization, capsules, toxins, invasiveness, biofilm, fimbriae, flagella, serotype conversion and secretion systems;
- ensure the passage of a successful infection cycle;
- can be transmitted between bacteria by horizontal gene transfer.

Thus, genetic virulence factors are encoded by clusters and transferred together through pathogenicity islands (SPI; SPI-1 and SPI-2 play an important role in bacterial invasion and intracellular survival, activating secretion systems [15, 19, 59]), plasmids (increase bacterial arsenal due to the transfer of genes associated with resistance to antimicrobial drugs and virulence [56, 60]; are crucial in increasing the ability of individual serovars to multiply in tissues outside the intestinal tract [61]) and profages (carry genes involved in virulence and the type-3 secretion system (T3SS) [62-64]). 24 SPI have been described in *Salmonella*, which differ in the number and composition of different serovars [56, 62, 65]. Therefore, the pathogenicity of *Salmonella* is related to the number and type of virulence genes [66].

Origin and classification of bacteria of the genus *Salmonella*

The *Salmonella* nomenclature is complex and still developing [67, 68]. It is based on both serotype names and subspecies [69].

The *Salmonella* genus, named after Daniel E. Salmon (first isolated from pig intestines in 1884) [69-71], consists of two species of *Salmonella enterica (S. enterica)* with six subspecies (I) *enterica*, (II) *salamae*, (IIIa) *arizonae*, (IIIb) *diarizonae*, (IV) *houtenae*, (V) *indica*) and *Salmonella bongori* (*S. bongori*) [72-75]. This, *Salmonella enterica* of the *enterica* subspecies of the *Enteritidis* serotype is reduced to the *Salmonella enteritidis* serotype [75]. About 99% of salmonella strains causing infections in warm-blooded animals and humans belong to *S. enterica* subspecies *enterica* (I) [76], which includes six subspecies [77] and 2659 serovars [39]. The remaining five subspecies of *S. enterica* and *S. bongori* are found mainly in the field, as well as in cold-blooded animals [75].

Salmonella is classified by:

1) biotype (biochemical variation between two bacteria of the same serotype) and phage type (variation in sensitivity of two bacteria of the same serotype to a lytic bacteriophage) [78, 79];

2) three different types of antigens [75, 80, 81]:

2.1) O-antigens (somatic thermostable) of the lipopolysaccharide layer (LPS), consisting of repeating glycan units containing a combination of 2 to 8 sugar residues. *Salmonella* has 47 known O-antigen structures and 21 different O-glycans [82] (a certain *Salmonella* serotype expresses more than one O-antigen on its surface [83]);

2.2) H-antigens (flagellar thermolabile proteins encoding with two different genes, so the bacterium expresses only one protein at a time: phase I antigens are involved in the activation of host immune responses, phase II antigens are nonspecific antigens, which may be common to many serotypes [84]);

2.3) K-antigens (capsule, thermosensitive polysaccharides), the least common (virulence antigens (Vi), a special subtype of K-antigen, were found only in three pathogenic serotypes: *Paratyphi C, Dublin* and *Typhi* [67].

Antigens are used to isolate and identify *Salmonella* serotypes [85].

The *Salmonella* detection process consists of the following key procedures:

1) *Salmonella* species are isolated with the ISO 6579 [86] method;

2) the disk diffusion method (the Kirby-Bauer method) is used to determine the sensitivity to antibiotics [87-91];

3) serotype determination by the White-Kauffman-Le Minor (WKL) phenotypic method, based on a combination of O and H antigens expressed on the surface, when the serotype is detected on the basis of bacterial agglutination with specific antiserum (more than 150) to identify the antigenic formula of the strain, i.e. variants O- (46 identified) and H- (114) antigens were identified [92]. This typing scheme in production does not always reliably reflect the evolutionary relationships between different strains of *S. enterica subsp. enterica* due to [93, 94]:

- the fact that most serotypes are polyphyletic and descend from many independent ancestors;
- genotypically and phenotypically different subtypes developed from the same serovars;
- weak or nonspecific agglutination;

4) molecular genetic methods [95]. In this case, serotyping is carried out on the basis of:

- loci of O- and H-antigens using PCR methods [96] and NGS (next generation sequencing) [97];
- surrogate genomic markers — virulence genes [98];
- multilocus sequences (MLST) [95, 99-101], but this approach does not have sufficient discriminative ability to differentiate closely related strains [101, 102], therefore it is insufficient for many epidemiological studies.

High-throughput sequencing (HTS) technologies have made it possible to analyze complete genomes quickly and easily [103]. Whole genome sequencing (WGS) is used for phylogenetic and phylogenomic analysis [104]; research of genes determining serotype or subtype [105]; identification of the source and epidemiological surveillance [106].

Thus, the identification of *Salmonella serovars*, due to their ability, on the one hand, to cause diseases in a wide range of hosts [107], on the other, to acquire multidrug resistance and cause a more severe outcome of the disease [108], is of key importance for epidemiological surveillance, disease assessment, and prevention of economic losses in commercial poultry farming [36, 37].

Ecology of bacteria of the genus *Salmonella*

The *Salmonella* genus is widespread in the environment, due to its high survival rate in harsh conditions for up to two years or more [50], lives in a wide temperature range (2–54°C) and pH (3.8–9.5) with the optimal conditions of 37°C and 6.5–7.5, respectively [48, 109], has a wide range of hosts (cold-blooded and warm-blooded animals) [74, 110]. The water activity (WA) of less than 0.94 suppresses *Salmonella* growth [111], but at certain temperatures such water activity has a protective effect [112, 113].

Salmonella adapts to various ecological niches (manure, soil) [114, 115]. The high physiological plasticity of *Salmonella* allows them to use agricultural soils as an alternative habitat [116], and the crop cultivation on such lands leads to infection through aboveground or underground parts of plants [117], which can provide, in the future, infection path from animals to humans [116].

Salmonella, as pathogens of food origin, are mainly found in poultry and animals (pigs, cattle), eggs and dairy products [118], as well as in fresh fruits and vegetables [119]. *Salmonella* survives for a long time in foods with a low moisture content [120]: from 6 weeks at 21°C to 24 weeks at 5°C in peanut butter [121, 122], up to 8 months in paprika powder [123] and in halva at a cooling temperature [124], up to 9 months in chocolate [125], up to 10 months in dry dairy products [126], and up to 12 months - in macaroni products [127].

Salmonella enters the farm animals and birds' production system through infected feed, water, litter, tools, shoes, and personnel [2]. Potential sources of *Salmonella*: litter, compost, pets (dogs, cats, reptiles, birds), domestic and wild animals and birds, and reptiles [128-133]. Wild birds are reservoirs for *Salmonella*, because *Salmonella* living in their intestines may not cause obvious clinical symptoms. An additional threat comes from migratory birds and areas where they temporarily stop on their way, initiating foci of the pathogen spread [134].

The main pathways for pathogens spread are associated with slaughter and trade in raw foods and animals [135], via consumption of *Salmonella*-infected foods (meat, eggs, milk), poor hand washing, and contact with infected pets [129]. When the intestinal tract is infected, cellular reactions include the influx of heterophiles (analogues of mammalian neutrophils) and macrophages (capable of killing *Salmonella*) to the intestinal lumen surface to protect the host from bacterial infections [136-139]. In case the immune system does not destroy *Salmonella*, colonization of the intestine occurs, with *Salmonella* sequentially spreading to the internal organs (liver, spleen, vaginal epithelium, and ovaries of laying hens [137, 140-147]), penetrating and colonizing other cells as well [148]. *Salmonella* contaminating eggshells can penetrate into a bird's egg (for example, *S. pullorum* is transmitted from an infected breeder to the chick through the egg, which can lead to an excessive number of dead chicks in the shell and death shortly after hatching; *S. gallinarum* is excreted in the feces of infected birds and can persist in the feces for at least one month with further presence in carcasses) [149].

Limited contact between chicks and adult birds in industrial poultry slows down colonization of the intestinal tract by beneficial microbes [150], although healthy intestinal functioning is crucial for commercial chickens considering their rapid growth rate [151] and immune system maturation [152].

The salmonellosis infection rate in chickens is still high and poses problems of food safety on an ongoing basis [153]. For food safety improvement the EU invests about €3 billion euros annually in various strategies for poultry farming prevention and control of *Salmonella* (vaccination, antimicrobials, feed additives, monitoring, and competitive exclusion). The US investment in the field is approximately $11.6 billion. [154-156]. Prevention programs lead to a decrease in *Salmonella* incidence in flocks of farm chickens and depending on the state

standards, the prevalence of different *Salmonella* serovars among chickens ranges from 6 to 30% [157, 158].

Conclusion

The research showed that salmonellosis caused by the causative agent of the *Salmonella* genus is a group of acute infectious polyetiological diseases (manifested after 6-72 hours). It is transmitted through the fecal-oral mechanism; its clinical manifestations are characterized by polymorphism: from *Salmonella* carrier (not recognized in 60-80% of cases) to severe septic form and death [159, 160].

Funding

The work was funded by Scientific and Production Center UniVet LLP (Contract No. 01 dated 06.03.2023) under the research program based on Animal Expert Group Scientific and Diagnostic Center LLP (state registration number 0123РКД0014 dated 27.03.2023 NCSTE RK).

References:

1 Salmonella (non-typhoidal). URL: https://www.who.int/ (data obrashcheniya: 04.03.2024)

2 Wales A.D., Allen V.M., Davies R.H. Chemical treatment of animal feed and water for the control of salmonella. *Foodborne Pathog*. Dis. 2010: 7:3–15. (doi: 10.1089/fpd.2009.0373)

3 Li H., Wang H., D'Aoust J., Maurer J. Salmonella species. In: Doyle M.P., Buchanan R.L., editors. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. *ASM Press*, 2013: pp. 143–167.

4 Omneya S. Magdy, Ihab M. Moussa, Hussein A. Hussein, Mahmoud D. El-Hariri, Ahmed Ghareeb, Hassan A. Hemeg, Khalid S. Al-Maary, Aymen S. Mubarak, Waleed K. Alwarhi, Jakeen K. Eljakee, Saleh A. Kabli, Genetic diversity of Salmonella enterica recovered from chickens farms and its potential transmission to human. *Journal of Infection and Public Health*. V. 13, Issue 4, 2020: 571-576. (https://doi.org/10.1016/j.jiph.2019.09.007)

5 Alikhan, N.F., Moreno, L.Z., Castellanos, L.R., Chattaway, M.A., McLauchlin, J., Lodge, M., O'Grady, J., Zamudio, R., Doughty, E., Petrovska, L. et al. Dynamics of Salmonella enterica and antimicrobial resistance in the Brazilian poultry industry and global impacts on public health. *PLoS Genet*. 2022, 18:e1010174. (https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1010174)

6 Silva C., Calva E., Maloy S. (2014). One health and food-borne disease: *salmonella* transmission between humans, animals, and plants. *Microbiol Spectr 2*. 2014, 2(1). (doi: 10.1128/9781555818432.ch9)

7 Shen Y., Xu L., Li Y., "Biosensors for rapid detection of Salmonella in food: a review" *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. V. 20, no. 1, 2021: 149–197. (doi: 10.1111/1541-4337.12662)

8 Das T. et al. Antimicrobial resistance profiling and burden of resistance genes in zoonotic Salmonella isolated from broiler chicken. *Veterinary Med. Sci*. 2022, 8: 237–244. (doi: 10.1002/vms3.648)

9 Crump J.A., Luby S.P., Mintz E.D. The global burden of typhoid fever. *Bulletin of the World Health Organization*. 2004, 82(5):346–353. (URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15298225/)

10 Nabil N.M., Tawakol M.M., Samir A. et al. Synergistic influence of probiotic and florfenicol on embryonic viability, performance, and multidrug-resistant Salmonella Enteritidis in broiler chickens. *Sci Rep 13*, 9644 (2023). (https://doi.org/10.1038/s41598-023-36238-6)

11 Kaur J. Prevention and Control of Salmonella infection in poultry. 10.09.2019. (URL: https://thepoultrypunch.com/2019/09/prevention-and-control-of-salmonella-infection-in-poultry/) (data obrashcheniya: 30.08.2023).

12 Batist D.F.A., Freitas Neto O.C., Barrow P. A., de Oliveira M. T., Almeida A. M., Ferraudo A. S., & Berchieri Jr., A. Identification and characterization of regions of difference between the Salmonella Gallinarum biovar Gallinarum and the *Salmonella* Gallinarum biovar Pullorum genomes. *Infection, Genetics and Evolution.* V. 30, 2015:74–81. (doi: 10.1016/j.meegid.2014.12.007.)

13 Shivaprasad H.L., Barrow P., 2008. Pullorum disease and fowl typhoid. In: Saif Y.M., Fadly A.M., Glisson J.B., McDougald L.R., Nolan L.K., Swayne D.E. (Eds.), Disease of Poultry. Wiley-Blackwell, Iowa, pp. 619–674. (URL: https://hal.science/hal-00670244/document)

14 Cobb S.P., McVicar C.M., Davies R.H., Ainsworth H. Fowl typhoid in caged layer birds. *Vet Rec*. V. 157, 2005:268. (doi: 10.1136/vr.157.9.268)

15 Shivaprasad H.L., Barrow P. Pullorum disease and Fowl typhoid. In Swayne D.E., Glisson J.R., McDougald L.R., Nolan L.K., Suarez D.L. eds Diseases of Poultry Ames, Iowa: John Wiley & Sons, Inc. 2013: 678–693. (URL: https://hal.science/hal-00670244/document)

16 Matos M., Sommer F., Liebhart D., Bilic I., Hess M. et al. An outbreak of Pullorum disease in a young layer parent flock in Austria presented with central nervous system signs. *Avian Dis*. V. 65, 2021:159–164. (doi: 10.1637/aviandiseases-D-20-00091)

17 WOAH Chapter 3.3.11: Fowl typhoid and Pullorum disease. In Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals World Organisation for Animal Health (WOAH), 2018: pp 914–930. (URL: https://www.woah.org/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.03.11_FOWL_TYPHOID.pdf)

18 Shivaprasad H.L., Methner U., Barrow P.A. Salmonella infections in the domestic fowl. In Barrow P.A., Methner U. eds Salmonella in Domestic Animals Wallingford, UK: CAB International, 2013.

19 Chappell L., Kaiser P., Barrow P., Jones M.A., Johnston C., Wigley P. The Immunobiology of Avian Systemic Salmonellosis. *Vet. Immunol. Immunopathol*. V. 128, 2009:53–59. (doi: 10.1016/j.vetimm.2008.10.295)

20 Barrow P.A., Freitas Neto O.C. Pullorum Disease and Fowl Typhoid—New Thoughts on Old Diseases: A Review. *Avian Pathol*. V. 40, 2011:1–13. (doi: 10.1080/03079457.2010.542575)

21 Calnek B.W., Barnes H.J., Beard C.W., Mcdougald L.D., Saif Y.M. Diseases of poultry. 10th edition, 1997.

22 Brugere J.P., Shivaprasad JP.V., Venne D., Bouzouaia M. Manual of poultry diseases. AFAS, 2015.

23 Rychlik I., Elsheimer-Matulova M., Kyrova K. Gene Expression in the Chicken Caecum in Response to Infections with Non-Typhoid Salmonella. *Vet. Res*. V. 45, 2014:119. (https://doi.org/10.1186/s13567-014-0119-2)

24 Ren X., Li M., Xu C., Cui K., Feng Z., Fu Y., Zhang J., Liao M. Prevalence and molecular characterization of Salmonella enterica isolates throughout an integrated broiler supply chain in China. *Epidemiol. Infect*. V. 144, 2016:2989–2999. (doi: 10.1017/S0950268816001515)

25 Sohail M.N., Rathnamma D., Priya S.C., Isloor S., Naryanaswamy H.D., Ruban S.W., Veeregowda B.M. Salmonella from farm to table: Isolation, characterization, and antimicrobial resistance of Salmonella from commercial broiler supply chain and its environment. *Biomed Res. Int.* 2021:3987111. (doi: 10.1155/2021/3987111)

26 Park S., Choi S., Kim H., Kim Y., Kim B., Beuchat L.R., Ryu J.H. Fate of Mesophilic Aerobic Bacteria and Salmonella Enterica on the Surface of Eggs as Affected by Chicken Feces, Storage Temperature, and Relative Humidity. *Food Microbiol*. V. 48, 2015:200–205. (doi: 10.1016/j.fm.2015.01.003)

27 Trampel D.W., Holder T.G., Gast R.K. Integrated Farm Management to Prevent Salmonella Enteritidis Contamination of Eggs. *J. Appl. Poult. Res*. V. 23, 2014:353–365. (doi: 10.3382/japr.2014-00944)

28 Tabaeva AA, Kotova AL. Redkie serotipy salmonell, tsirkuliruiushchie v Kazakhstane [Rare serotypes of salmonella circulating in Kazakhstan]. Klin Lab Diagn. 2003 Feb;(2):51-2. Russian. PMID: 12688220

29 Rychshanova, R., Ruzauskas, M., Chuzhebayeva, G., Mockeliunas, R., Mamiyev, N., Virgailis, M., Shevchenko, P., Siugzdiniene, R., Anskiene, L., & Mendybayeva, A. (2021). Differences in antimicrobial resistance of Salmonella spp. isolated from humans, animals and food products in Kazakhstan. Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society, 72(3), 3091–3100. https://doi.org/10.12681/jhvms.28498

30 Mendybaeva A.M. Ryshchanova R.M. Antibiotikorezistentnost' shtammov Salmonella spp., izolirovannyh ot zhivotnyh i ptic na territorii severnogo Kazahstana S.Sejfullinatyndағy Қazaқagrotekhnikalyқ universitetinің Ғylymzharshysy pənaralyқ). Vestnik nauki Kazahskogo agrotekhnicheskogo universiteta im. S.Sejfullina (mezhdisciplinarnyj). -2022 -No1 (112). –S. 324-334

31 Anara M. Mendybayeva, Gulnur K. Aliyeva, Gulzhagan D. Chuzhebayeva, Alexandra A. Tegza, Raushan M. Rychshanova, Antibiotic resistance of enterobacterial pathogens isolated on the territory of the Northern Kazakhstan, Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, Volume 87, 2022, 101854, ISSN 0147-9571, https://doi.org/10.1016/j.cimid.2022.101854

32 Departament sanitarno-epidemiologicheskogo kontrolya goroda Almaty. URL: https://www.gov.kz/memleket/entities/departament-kkbtu-almaty (data obrashcheniya: 03.03.2024)

33 Saleh S., Van Puyvelde S., Staes A., Timmerman E., Barbé B., Jacobs J., Gevaert K., Deborggraeve S. Salmonella Typhi, Paratyphi A, Enteritidis and Typhimurium Core Proteomes Reveal Differentially Expressed Proteins Linked to the Cell Surface and Pathogenicity. *PLoS Negl. Trop. Dis.* V. 13, 2019: e0007416. (doi: 10.1371/journal.pntd.0007416)

34 Alghoribi M.F., Doumith M., Alrodayyan M., Al Zayer M., Köster W.L., Muhanna A., Aljohani S.M., Balkhy H.H., Desin T.S. S. Enteritidis and S. Typhimurium Harboring SPI-1 and SPI-2 Are the Predominant Serotypes Associated With Human Salmonellosis in Saudi Arabia. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* V. 9, 2019:187. (doi: 10.3389/fcimb.2019.00187)

35 Alam S.B., Mahmud M., Akter R., Hasan M., Sobur A., Nazir K.N.H., Noreddin, A., Rahman T., El Zowalaty M.E., Rahman M. Molecular Detection of Multidrug Resistant Salmonella Species Isolated from Broiler Farm in Bangladesh. *Pathogens.* V. 9, 2020: 201. (https://doi.org/10.3390/pathogens9030201)

36 Guo R., Li Z., Zhou X., Huang C., Hu Y., Geng S., Chen X., Li Q., Pan Z., Jiao X. Induction of arthritis in chickens by infection with novel virulent Salmonella Pullorum strains. *Vet. Microbiol*. 2019, 228, 165–172. (doi: 10.1016/j.vetmic.2018.11.032)

37 Soria M.C., Soria M.A., Bueno D.J. Comparison of 2 culture methods and PCR assays for Salmonella detection in poultry feces. *Poult. Sci*. 2012, 91, 616–626. (doi: 10.3382/ps.2011-01831)

38 WHO (World Health Organization). Salmonella (Non-Typhoidal), 2018. (URL: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/Salmonella-(non-typhoidal)) (accessed on 01.09.2023)

39 Qin X., Yang M., Cai H., Liu Y., Gorris L., Aslam M.Z., Jia K., Sun T., Wang X., Dong Q. Antibiotic Resistance of Salmonella Typhimurium Monophasic Variant 1,4, [5],12:i:– in China: A Systematic Review and Meta–Analysis. *Antibiotics*. 2022, 11, 532. (https://doi.org/10.3390/antibiotics11040532)

40 EFSA (European Food Safety Authority); ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2007. *EFSA J.* 2009, 223, 1–310. (https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2090)

41 Castro-Vargas R. E., Herrera-Sánchez M. P., Rodríguez-Hernández R., and Rondón-Barragán I. S., «Antibiotic resistance in Salmonella spp. isolated from poultry: a global overview». *Veterinary world*. vol. 13, no. 10, pp. 2070–2084, 2020. (doi: 10.14202/vetworld.2020.2070-2084)

42 Ferrari R.G., Rosario D.K.A., Cunha–Neto A., Mano S.B., Figueiredo E.E.S., Conte–Junior C.A. Worldwide Epidemiology of *Salmonella* Serovars in Animal–Based Foods: A Meta–analysis. *Appl. Environ. Microb*. 2019, 85, e00591-19. (doi: 10.1128/AEM.00591-19)

43 Lopes P. D., Freitas Neto O. C., Batista D. F. A., et al. Experimental infection of chickens by a flagellated motile strain of *Salmonella enterica* serovar Gallinarum biovar Gallinarum. *Veterinary Journal*. 2016, 214, 40–46. (doi: 10.1016/j.tvjl.2016.05.006)

44 Schofield F. W. Salmonella infections of domestic animals: their relationship to Salmonellosis (food infection in man) Canadian Journal of Comparative Medicine and Veterinary Science. 1945, 9, 62–68. (URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1660949/)

45 Graziani C., Losasso C., Luzzi I., Ricci A., Scavia G., Pasquali P. Salmonella. *In Foodborne Diseases*, 3rd ed.; Elsevier Inc.: Amsterdam, The Netherlands, 2017; pp. 133–169. (doi: 10.3390/ani13233666)

46 Coburn B., Grassl G.A., Finlay B.B. Salmonella, the host and disease: a brief review. *Immunol. Cell Biol*. 2007; 85:112–118. (doi: 10.1038/sj.icb.7100007)

47 Li H., Wang H., D'Aoust J.Y., Maurer J. In: Food Microbiology Fundamentals and Frontiers. 4th ed. Doyle M.P., Buchanan R.L., editors. ASM Press, 2013.

48 D'Aoust J., Maurer J. Salmonella species. In: Doyle M., Beuchat L., editors. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. 3rd. Washington, DC, USA: ASM Press, 2007.

49 GOST 31468-2012. Myaso pticzy`, subprodukty` i polufabrikaty` iz myasa pticzy`. Metod vy`yavleniya sal`monell. (URL: https://files.stroyinf.ru/Data/525/52573.pdf)

50 Davies R.H., Wray C. Persistence of *Salmonella enteritidis* in poultry units and poultry food. *Br. Poult. Sci.* 1996, 37, 589–596. (doi: 10.1080/00071669608417889)

51 Velhner M., Milanov D., Kozoderovic G. Salmonella spp. in poultry: A constant challenge and new insights. *J. Hell. Vet. Med. Soc*. 2018, 69, 899–910. (doi: 10.17582/journal.aavs/2021/9.6.823.834)

52 Lapierre L., Cornejo J., Zavala S., Galarce N., Sánchez F., Benavides M.B., Guzmán M., Sáenz L. Phenotypic and genotypic characterization of virulence factors and susceptibility to antibiotics in

Salmonella infantis strains isolated from chicken meat: First findings in Chile. *Animals*. 2020, 10, 1049. (doi: 10.3390/ani10061049)

53 Erhardt M., Dersch P., "Regulatory principles governing Salmonella and Yersinia virulence" *Frontiers in microbiology*. vol. 6, p. 949, 2015. (https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00949)

54 Ruiz M. J., Ramallo G., Colello R. et al., "Diferentes métodos para aislamiento y detección de Salmonella spp. en canales porcinas" *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. 20, no. 2, pp. 117–123, 2018. (URL: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0123-34752018000200117&lng=en&nrm=iso&tlng=es)

55 Thung T. Y., Radu S., Mahyudin N. A. et al., "Prevalence, virulence genes and antimicrobial resistance profiles of Salmonella serovars from retail beef in Selangor, Malaysia". *Frontiers in Microbiology*. vol. 8, p. 2697, 2017. (https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02697)

56 Cheng R. A., C. R. Eade, M. Wiedmann, "Embracing diversity: Differences in virulence mechanisms, disease severity, and host adaptations contribute to the success of nontyphoidal salmonellaas a foodborne pathogen". *Frontiers in microbiology*. vol. 10, p. 1368, 2019. (https://doi.org/10.1155/2023/1875253)

57 Kombade S., Kaur N., "Pathogenicity Island in *Salmonella*," in Salmonella spp.-A Global Challenge". En Salmonella spp. A Global Challenge, IntechOpen, London, UK, 2021. (doi: 10.5772/intechopen.96443)

58 Al-Khafaji N. S., Al-Bayati A. M., Al-Dahmoshi H. O., "Virulence factors of Salmonella typhi" in Salmonella spp. -A global challenge". *Intech.* 2021. (URL: https://www.intechopen.com/chapters/75674.)

59 Shah D.H., Lee M.J., Park J.H., Lee J.H., Eo S.K., Kwon J.T., Chae J.S. Identification of Salmonella Gallinarum Virulence Genes in a Chicken Infection Model Using PCR-Based Signature-Tagged Mutagenesis. *Microbiology*. 2005, 151, 3957–3968. (doi: 10.1099/mic.0.28126-0)

60 Rychlik I., Gregorova D., Hradecka H. Distribution and Function of Plasmids in Salmonella Enterica. *Vet. Microbiol*. 2006, 112, 1–10. (doi: 10.1016/j.vetmic.2005.10.030)

61 Guiney D. G., Fang F. C., Krause M., Libby S., "Plasmid-mediated virulence genes in non-typhoid Salmonella serovars". *FEMS microbiology letters*. vol. 124, no. 1, pp. 1–9, 1994. (https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1994.tb07253.x)

62 Sabbagh S.C., Forest C.G., Lepage C., Leclerc J.M., Daigle F. So Similar, yet so Different: Uncovering Distinctive Features in the Genomes of Salmonella Enterica Serovars Typhimurium and Typhi. *FEMS Microbiol. Lett*. 2010, 305, 1–13. (doi: 10.1111/j.1574-6968.2010.01904.x.)

63 Figueroa-Bossi N., Uzzau S., Maloriol D., Bossi L. Variable Assortment of Prophages Provides a Transferable Repertoire of Pathogenic Determinants in Salmonella. *Mol. Microbiol*. 2001, 39, 260–271. (doi: 10.1046/j.1365-2958.2001.02234.x.)

64 Ehrbar K., Hardt W.D. Bacteriophage-Encoded Type III Effectors in Salmonella Enterica Subspecies 1 Serovar Typhimurium. *Infect. Genet. Evol*. 2005, 5, 1–9. (doi: 10.1016/j.meegid.2004.07.004.)

65 Marcus S.L., Brumell J.H., Pfeifer C.G., Finlay B.B. Salmonella Pathogenicity Islands: Big Virulence in Small Packages. *Microbes Infect*. 2000, 2, 145–156. (doi: 10.1016/s1286-4579(00)00273-2.)

66 Chaudhary J. H., Nayak J. B., Brahmbhatt M. N., Makwana P. P., "Virulence genes detection of Salmonella serovars isolated from pork and slaughterhouse environment in Ahmedabad, Gujarat", *Veterinary World*. vol. 8, no. 1, pp. 121–124, 2015. (doi: 10.14202/vetworld.2015.121-124.)

67 Eng S.K., Pusparajah P., Ab Mutalib N.S., Ser H.L., Chan K.G., Lee L.H. Salmonella: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Science*. 2015, 8(3), 284–293. (doi:10.1080/21553769.2015.1051243.)

68 Dunkley K. D., Callaway T. R., Chalova V. I., McReynolds J. L., Hume M. E., Dunkley C. S., Ricke S. C. Foodborne Salmonella ecology in the avian gastrointestinal tract. *Anaerobe*. 2009, 15(1-2), 26–35. (doi:10.1016/j.anaerobe.2008.05.007.)

69 Salmon D., Smith T. *Report on swine plague, US Bureau of Animal Industries.* 2nd Annual Report 184, U.S. Government Printing Office, Washington, DC, USA, 1885.

70 Smith T., *"The hog-cholera group of bacteria,"* US Department of Agriculture Bureau of Animal Industry Bulletin, vol. 6, pp. 6–40, 1894.

71 White P.B. HMSO; London, UK: *Further Studies on the Salmonella Group*. Great Britain Medical Research Special Report, 1926.

72 Brenner F. W., McWhorter-Murlin A. C. *Identification and serotyping of Salmonella*. Centers for Disease Control and Prevention Atlanta, Ga, 1998.

73 Popoff M. Y., Bockemühl J, Brenner F W. Supplement 1998 (no. 42) to the Kauffmann-White scheme. *Res Microbiol.* 2000; 151:63–65. (doi: 10.1016/s0923-2508(00)00126-1)

74 Popoff M. Y., Le Minor L. *Antigenic formulas of the Salmonella serovars, 7th revision.* World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella 1997 Pasteur Institute Paris, France.

75 Brenner F.W., Villar R.G., Angulo F.J., Tauxe R., Swaminathan B. Salmonella Nomenclature. *J Clin Microbiol. 2000* Jul 1;38(7):2465–7. pmid:10878026. (doi: 10.1128/JCM.38.7.2465-2467.2000.)

76 Pławińska–Czarnak J., Wódz K., Kizerwetter–Świda M., Bogdan J., Kwieciński P., Nowak T., Strzałkowska Z., Anusz K. Multi–Drug Resistance to Salmonella spp. When Isolated from Raw Meat Products. *Antibiotics.* 2022, 11, 876. (doi: 10.3390/antibiotics11070876)

77 Hurley D., McCusker M.P., Fanning S., Martins M. *Salmonella*—Host interactions—Modulation of the host innate immune system. *Front. Immunol*. 2014, 5, 481. (doi: 10.3389/fimmu.2014.00481)

78 Ward L.R., de Sa J.D., Rowe B. A phage-typing scheme for Salmonella Enteritidis. *Epidemiol Infect.* 1987;99: 291–4. (doi: 10.1017/s0950268800067765.)

79 Varnam A.H., Evans M.G. *Salmonella, foodborne pathogens, an illustrated text*. Wolfe Publishing Ltd, 1993.

80 Grimont P., Weill F-X. *Antigenic Formulae of the Salmonella serovars*. (9th ed.) Paris: WHO Collaborating Centre for Reference and Research on *Salmonella*. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella.

81 Nataro J., Bopp C., Fields P., Kaper J., Strockbine N. *Escherichia, Shigella, and Salmonella in Manual of Clinical Microbiology* J. Versalovic K. Carroll G. Funke J. Jorgensen M. Landry, D. Warnock, Eds., pp. 603–626, ASM Press, Washington, DC., USA, 10th edition, 2011.

82 Liu B., Knirel Y.A., Feng L., Perepelov A.V., Senchenkova S.N., Reeves P.R., Wang L. Structural diversity in Salmonella O antigens and its genetic basis. *FEMS Microbiol Rev*. 2014, 38, 56–89. (doi: 10.1111/1574-6976.12034.)

83 Hu L., Kopecko D.J. 2003. Typhoid *Salmonella*. In: Millotis M.D., Bier J.W., editor. International handbook of foodborne pathogens. *New York: Marcel Dekker Inc*. p. 151–165. (URL: https://eddymercado.files.wordpress.com/2012/11/manual-internacional-de-contaminacic3b3n-patogc3a9nica-de-alimentos.pdf)

84 McQuiston J.R., Fields P.I., Tauxe R.V., Logsdon J.M. Jr. Do Salmonella carry spare tyres? *Trends in Microbiology*. 2008, 16,142–148. (https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.01.009)

85 Popoff M.Y., Bockemu¨hl J., Gheesling L.L. Supplement 2001 (No. 45) to the Kauffmann-White scheme. *Res Microbiol*. 2003,154, 173–4. (doi: 10.1016/S0923-2508(03)00025-1.)

86 ISO 6579-1:2017. *Микробиология пищевой цепи. Горизонтальный метод выявления, подсчета и определение серотипа бактерий рода Salmonella.* Часть 1. Обнаружение бактерий рода Salmonella spp. (URL: https://www.gostinfo.ru/catalog/Details/?id=6317094)

87 Jan Hudzicki. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. Published 8 December 2009. *Biology*. Protocol for using the Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test in the microbiology lab. (URL: https://asm.org/getattachment/2594ce26-bd44-47f6-8287-0657aa9185ad/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Protocol-pdf.pdf)

88 Bauer A. W., W. M. Kirby, J. C. Sherris, M. Turck. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol*. 1966, 36, 493-496. (URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5325707/)

89 Barry A. L., F. Garcia, L. D. Thrupp. An improved single disc method for testing the antibiotic susceptibility of rapidly-growing pathogens. *Amer. J. Clin. Pathol*. 1970, 53, 149-158. (doi: 10.1093/ajcp/53.2.149.)

90 Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved standard-9th ed. CLSI document M2-A9. 26:1. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2006. (URL: https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=1168527)

91 Jorgensen J. H., J. D. Turnidge. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods, p. 1152–1172. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry, M. A. Pfaller (ed.). *Manual of clinical microbiology*. 9th ed. ASM Press, Washington, 2007.

92 Grimont P. A. D., Weill F. X. Antigenic Formulae of the Salmonella Serovars. 9th Edn, Geneva: *World Health Organization*, 2007. (URL: https://www.pasteur.fr/sites/default/files/veng_0.pdf)

93 Alikhan N.F., Zhou Z., Sergeant M.J., Achtman M. A. Genomic Overview of the Population Structure of Salmonella. *PLoS Genet*. 2018, 14, e1007261. (doi: 10.1371/journal.pgen.1007261.)

94 Chattopadhyay S., Paul S., Kisiela D.I., Linardopoulou E.V., Sokurenko E.V. Convergent Molecular Evolution of Genomic Cores in Salmonella enterica and Escherichia coli. *J. Bacteriol*. 2012, 194, 5002–5011. (doi: 10.1128/JB.00552-12.)

95 Wattiau P., Boland C., Bertra S. Methodologies for Salmonella enterica subsp. enterica subtyping: gold standards and alternatives. *Appl. Environ. Microbiol*. 2011, 77, 7877–7885. (doi: 10.1128/AEM.05527-11.)

96 Herrera-Leon S., Ramiro R., Arroyo M., Diez R., Usera M. A., Echeita M. A. Blind comparison of traditional serotyping with three multiplex PCRs for the identification of Salmonella serotypes. *Res. Microbiol*. 2007, 158, 122–127. (doi: 10.1016/j.resmic.2006.09.009.)

97 McQuiston J. R., Waters R. J., Dinsmore B. A., Mikoleit M. L., Fields P. I. Molecular determination of H antigens of Salmonella by use of a microsphere-based liquid array. *J. Clin. Microbiol*. 2011, 49, 565–573. (doi: 10.1128/JCM.01323-10)

98 Peterson G., Gerdes B., Berges J., Nagaraja T. G., Frye J. G., Boyle D. S., et al. Development of microarray and multiplex polymerase chain reaction assays for identification of serovars and virulence genes in Salmonella enterica of human or animal origin. *J. Vet. Diagn. Invest*. 2010, 22, 559–569. (doi: 10.1177/104063871002200410.)

99 Achtman M., Wain J., Weill F.X., Nair S., Zhou Z., Sangal V., Krauland M.G., Hale J.L., Harbottle H., Uesbeck A. Multilocus Sequence Typing as a Replacement for Serotyping in Salmonella enterica. PLoS Pathog. 2012, 8, e1002776. (doi: 10.1371/journal.ppat.1002776.)

100 Mather A.E., Reid S.W.J., Maskell D.J., Parkhill J., Fookes M.C., Harris S.R., Brown D.J., Coia J.E., Mulvey M.R., Gilmour M.W., et al. Distinguishable Epidemics of Multidrug-Resistant Salmonella Typhimurium DT104 in Different Hosts. *Science*. 2013, 341, 1514–1517. (doi: 10.1126/science.1240578.)

101 Scaltriti E., Sassera D., Comandatore F., Morganti M., Mandalari C., Gaiarsa S., Bandi C., Zehender G., Bolzoni L., Casadei G., et al. Differential Single Nucleotide Polymorphism-Based Analysis of an Outbreak Caused by Salmonella enterica Serovar Manhattan Reveals Epidemiological Details Missed by Standard Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *J. Clin. Microbiol*. 2015, 53, 1227–1238. (doi: 10.1128/JCM.02930-14.)

102 Taylor A.J., Lappi V., Wolfgang W.J., Lapierre P., Palumbo M.J., Medus C., Boxrud D. Characterization of Foodborne Outbreaks of Salmonella enterica Serovar Enteritidis with Whole-Genome Sequencing Single Nucleotide Polymorphism-Based Analysis for Surveillance and Outbreak Detection. J. *Clin. Microbiol.* 2015, 53, 3334–3340. (doi: 10.1128/JCM.01280-15.)

103 Imanian B., Donaghy J., Jackson T., Gummalla S., Ganesan B., Baker R.C., Henderson M., Butler E.K., Hong Y., Ring B., et al. The Power, Potential, Benefits, and Challenges of Implementing High-Throughput Sequencing in Food Safety Systems. *NPJ Sci. Food.* 2022, 6, 35. (doi: 10.1038/s41538-022-00150-6.)

104 Yachison C.A., Yoshida C., Robertson J., Nash J.H.E., Kruczkiewicz P., Taboada E.N., Walker M., Reimer A., Christianson S., Nichani A., et al. The Validation and Implications of Using Whole Genome Sequencing as a Replacement for Traditional Serotyping for a National Salmonella Reference Laboratory. *Front. Microbiol.* 2017, 8, 1044. (doi: 10.3389/fmicb.2017.01044.)

105 Banerji S., Simon S., Tille A., Fruth A., Flieger A. Genome-Based Salmonella Serotyping as the New Gold Standard. *Sci. Rep*. 2020, 10, 4333. (doi: 10.1038/s41598-020-61254-1.)

106 EFSA Panel on Biological Hazards (EFSA BIOHAZ Panel) Koutsoumanis K., Allende A., Alvarez-Ordóñez A., Bolton D., Bover-Cid S., Chemaly M., Davies R., De Cesare A., Hilbert F., et al. Whole Genome Sequencing and Metagenomics for Outbreak Investigation, Source Attribution and Risk Assessment of Food-Borne Microorganisms. *EFSA J*. 2019, 17, e05898. (doi: 10.2903/j.efsa.2019.5898.)

107 Zhao X., Hu M., Zhang Q., Zhao C., Zhang Y., Li L., Qi J., Luo Y., Zhou D., Liu Y. Characterization of integrons and antimicrobial resistance in Salmonella from broilers in Shandong, China. *Poult. Sci.* 2020, 99, 7046–7054. (doi: 10.1016/j.psj.2020.09.071)

108 Krueger A.L., Greene S.A., Barzilay E.J., Henao O., Vugia D., Hanna S., et al. Clinical outcomes of nalidixic acid, ceftriaxone, multidrug-resistant nontyphoidal salmonella infections compared

with pansusceptible infections in FoodNet sites, 2006-2008. *Foodborne Pathog Dis*. 2014, 11, 335–41. (doi: 10.1089/fpd.2013.1642.)

109 Adley C. C., Ryan M. P. The nature and extent of foodborne disease. In: Barros-Velázquez J., editor. Antimicrobial Food Packaging. *Academic Press.* 2016:1–10. (doi: 10.1016/B978-0-12-800723-5.00001-2)

110 Mead P., Slutsker L., Dietz V., et al. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis. 1999*, vol. 5, 607-25. (doi: 10.3201/eid0505.990502.)

111 Hew C. M., Hajmeer M. N., Farver T. B., Glover J. M., Cliver D. O. Survival of Salmonella and Escherichia coli O157:H7 in chorizos. *Journal of Food Protection*. 2005, 68(10):2039–2046. (doi: 10.4315/0362-028x-68.10.2039.)

112 Aljarallah K. M., Adams M. R. Mechanisms of heat inactivation in *Salmonella* serotype Typhimurium as affected by low water activity at different temperatures. *Journal of Applied Microbiology*. 2007, 102(1):153–160. (doi: 10.1111/j.1365-2672.2006.03054.x.)

113 Gibson B. The effect of high sugar concentrations on the heat resistance of vegetative micro-organisms. *Journal of Applied Bacteriology*. 1973, 36(3):365–376. (doi: 10.1111/j.1365-2672.1973.tb04118.x.)

114 Semenov A.M., Kuprianov A.A., van Bruggen, A.H.C. Transfer of enteric pathogens to successive habitats as part of microbial cycles. *Microb Ecol*. 2010, 60: 239– 249. (doi: 10.1007/s00248-010-9663-0.)

115 Fornefeld E., Schierstaedt J., Jechalke S., Grosch R., Schikora A., Smalla K. Persistence of Salmonella Typhimurium LT2 in soil enhanced after growth in lettuce medium. *Front Microbiol*. 2017, 8: 757. (doi: 10.3389/fmicb.2017.00757)

116 Schierstaedt J., Jechalke S., Nesme J., Neuhaus K., Sørensen S. J., Grosch R., Schikora A. Salmonella persistence in soil depends on reciprocal interactions with indigenous microorganisms. *Environmental Microbiology*, 2020 (doi:10.1111/1462-2920.14972.)

117 Koukkidis G., Freestone P. *Salmonella* contamination of fresh salad produce: prevalence, impact and reduction strategies. *J Hortic Sci Crop Res.* 2018, 1: 1– 7. (https://www.annexpublishers.com/articles/JHSCR/1102-Salmonella-Contamination-of-Fresh-Salad-Produce-Prevalence-Impact-and-Reduction-Strategies.pdf)

118 Silva J., Leite D., Fernandes M., Mena C., Gibbs P.A., Teixeira P. 2011. Campylobacter spp. as a foodborne pathogen: a review. *Frontiers in Microbiology*. 2. (doi: 10.3389/fmicb.2011.00200)

119 Pui C.F., Wong W.C., Chai L.C., Nillian E., Ghazali F.M., Cheah Y.K., Nakaguchi Y., Nishibuchi M., Radu S. Simultaneous detection of Salmonella spp., Salmonella Typhi and Salmonella Typhimurium in sliced fruits using multiplex PCR. *Food Control*. 2011, 22:337–342. (https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.05.021)

120 Podolak R., Enache E., Stone W., Black D.G., Elliott P.H. Sources and risk factors for contamination, survival, persistence, and heat resistance of Salmonella in low-moisture foods. *J. Food Prot*. 2010, 73, 1919–1936. (doi: 10.4315/0362-028x-73.10.1919)

121 Kozak G., MacDonald D., Landry L., Farber J. Foodborne outbreaks in Canada linked to produce: 2001 through 2009. *J. Food Prot.* 2013, 76, 173–183. (doi: 10.4315/0362-028X.JFP-12-126)

122 Burnett S., Gehm E., Weissinger W., Beuchat L. Survival of Salmonella in peanut butter and peanut butter spread. *J. Appl. Microbiol*. 2000, 89, 472–477. (doi: 10.1046/j.1365-2672.2000.01138.x)

123 Ray B., Jezeski J., Busta F. Isolation of Salmonellae from naturally contaminated dried milk products: Ii. Influence of storage time on the isolation of Salmonellae. *J. Milk Food Technol*. 1971, 34, 423–427. (doi:10.4315/0022-2747-34.9.423)

124 Kotzekidou P. Microbial stability and fate of *Salmonella Enteritidis* in halva, a low-moisture confection. *J. Food Prot.* 1998, 61, 181–185. (doi: 10.4315/0362-028x-61.2.181)

125 Tamminga S., Beumer R., Kampelmacher E., Van Leusden F. Survival of Salmonella east bourne and Salmonella typhimurium in chocolate. *Epidemiol. Infect*. 1976, 76, 41–47. (doi: 10.1017/s0022172400054929)

126 Ray B., Jezeski J., Busta F. Isolation of *Salmonellae* from naturally contaminated dried milk products: Iii. Influence of pre-enrichment conditions. *J. Milk Food Technol*. 1972, 35, 607–614.

127 Rayman M., D'AOUST J.-Y., Aris B., Maishment C., Wasik R. Survival of microorganisms in stored pasta. *J. Food Prot*. 1979, 42, 330–334. (doi: 10.4315/0362-028X-42.4.330)

128 De Jong B., Ekdahl K. The comparative burden of salmonellosis in the European Union member states, associated and candidate countries. *Bmc Public Health.* 2006, 6, 1–9. (doi: 10.1186/1471-2458-6-4)

129 Munck N., Smith J., Bates J., Glass K., Hald T., Kirk M.D. Source attribution of Salmonella in Macadamia nuts to animal and environmental reservoirs in Queensland, Australia. *Foodborne Pathog. Dis*. 2020, 17, 357–364. (doi: 10.1089/fpd.2019.2706)

130 PFMA.org.uk. *Pet Population 2019*. Available online: (https://www.pfma.org.uk/pet-population-2019) (accessed on 14 March 2020).

131 Finlay F., Furnell C., Ridley P. Salmonella in pets the risk to children. *Community Pract*. 2015, 88, 27–29. (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26373020/)

132 Bjelland A.M., Sandvik L.M., Skarstein M.M., Svendal L., Debenham J.J. Prevalence of Salmonella serovars isolated from reptiles in Norwegian zoos. *Acta Vet. Scand*. 2020, 62, 1–9. (doi: 10.1186/s13028-020-0502-0)

133 Ehuwa O., Jaiswal A. K., Jaiswal S. *Salmonella*, Food Safety and Food Handling Practices. *Foods*. 2021, 10(5), 907. (doi:10.3390/foods10050907)

134 Obukhovska O. The natural reservoirs of *Salmonella Enteritidis* in populations of wild birds. *Online J. Public Health Inf.* 2013, 5. (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3692822/)

135 Gillespie I.A., O'Brien S.J., Adak G.K., Ward L.R., Smith H.R. Foodborne general outbreaks of Salmonella Enteritidis phage type 4 infection, England and Wales, 1992–2002: where are the risks? *Epidemiology and Infection.* 2005, 133:759–801. (https://doi.org/10.1017/S0950268805003742)

136 Barrow P.A., Huggins M.B., Lovell M.A., Simpson J.M. Observations on the pathogenesis of experimental *Salmonella typhimurium* infection in chickens. *Res Vet Sci*. 1987, 42:194–9. (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3296063/)

137 Turnbull P.C.B., Snoeyenbos G.H. Experimental salmonellosis in the chicken. 1. Fate and host response in the alimentary canal, liver, and spleen. *Avian Dis*. 1974, 18:153–77. (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4597563/)

138 Brune K., Leffel M.S., Spitznagel J.K. Microbicidal activity of peroxidaseless chicken heterophile leukocytes. *Infect Immun.* 1972, 5:283–7. (doi: 10.1128/iai.5.3.283-287.1972)

139 Stabler J.G., McCormick T.W., Powell K.C., Kogut M.H. Avian heterophils and monocytes: phagocytic and bactericidal activities against Salmonella enteritidis. *Vet Microbiol*. 1994, 38:293–305. (doi: 10.1016/0378-1135(94)90148-1)

140 Thiagarajan D., Saeed A.M., Asem E.K. Mechanism of transovarian transmission of *Salmonella enteritidis* in laying hens. *Poult Sci*. 1994, 73:89–98. (doi: 10.3382/ps.0730089)

141 Holt P.S. Horizontal transmission of *Salmonella enteritidis* in molted and unmolted laying chickens. *Avian Dis.* 1995, 39:239–49. (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7677644/)

142 Ricke S.C. The gastrointestinal tract ecology of Salmonella Enteritidis colonization in molting hens. *Poult Sci*. 2003, 82:1003–7. (doi: 10.1093/ps/82.6.1003)

143 Woodward C.L., Kwon Y.M., Kubena L.F., Byrd J.A., Moore R.W., Nisbet D.J. Reduction of *Salmonella enterica* serovar Enteritidis colonization and invasion by an alfalfa during molt in leghorn hens. *Poult Sci.* 2005, 84:185–93. (doi: 10.1093/ps/84.2.185)

144 Durant J.A., Corrier D.E., Byrd J.A., Stanker L.H., Ricke S.C. Feed deprivation affects crop environment and modulates Salmonella Enteritidis colonization and invasion of leghorn hens. *Appl Environ Microbiol.* 1999, 65:1919–23. (doi: 10.1128/aem.65.5.1919-1923.1999)

145 Dunkley K.D., McReynolds J.L., Hume M.E., Dunkley C.S., Callaway T.R., Kubena L.F., et al. Molting in Salmonella Enteritidis-challenged laying hens fed alfalfa crumbles. I. Salmonella Enteritidis colonization and virulence gene hilA response. *Poult Sci*. 2007, 86:1633–9. (doi: 10.1093/ps/86.8.1633)

146 Mizumoto N., Sasai K., Tani H., Baba E. Specific adhesion and invasion of Salmonella Enteritidis in the vagina of laying hens. *Vet Microbiol.* 2005, 111:99–105. (doi: 10.1016/j.vetmic.2005.09.006)

147 Dunkley K.D., Callaway T.R., Chalova V.I., McReynolds J.L., M.E. Hume, C.S. Dunkley, Kubena L.F., Nisbet D.J., Ricke S.C. Foodborne *Salmonella* ecology in the avian gastrointestinal tract. *Anaerobe*. 2009, 15 (1). P. 26-35. (https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2008.05.007)

148 Lucas R.L., Lee C.A. Unraveling the mysteries of virulence gene regulation in Salmonella typhimurium. *Mol Microbiol.* 2000, 36:1024–33. (doi: 10.1046/j.1365-2958.2000.01961.x)

149 Parry S.M., Palmer S.R., Slader J., Humphrey T., The South East Wales Infectious Disease Liaison Group. Risk factors for salmonella food poisoning in the domestic kitchenda case control study. *Epidemiol Infect*. 2002, 129:277–85. (doi: 10.1017/s0950268802007331)

150 Hashemzadeh Z., Karimi M. A. T., Rahimi S., Razban V., Zahraei T. S. Prevention of *Salmonella* colonization in neonatal broiler chicks by using different routes of probiotic administration in hatchery evaluated by culture and PCR techniques. *J. Agric. Sci. Tech.* 2010, 12, 425–432. (https://www.researchgate.net/publication/266880823_Prevention_of_Salmonella_Colonization_in_Neonatal_Broiler_Chicks_by_Using_Different_Routes_of_Probiotic_Administration_in_Hatchery_Evaluated_by_Culture_and_PCR_Techniques)

151 Foye O. T., Black B. L. Intestinal adaptation to diet in the young domestic and wild turkey (Meleagris gallopavo). *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol*. 2006, 143, 184–192. (doi: 10.1016/j.cbpa.2005.11.017)

152 Lu J. et al. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. *Appl. Environ. Microbiol*. 2003, 69, 6816–6824. (doi: 10.1128/AEM.69.11.6816-6824.2003)

153 Li S., He Y., Mann D.A., et al. Global spread of *Salmonella enteritidis* via centralized sourcing and international trade of poultry breeding stocks. *Nat Commun*. 2021, 12:1–12. (doi: 10.1038/s41467-021-25319-7)

154 Wessels K., Rip D., Gouws P. Salmonella in chicken meat: consumption, outbreaks, characteristics, current control methods and the potential of bacteriophage use. *Foods*. 2021, 10:1742. (doi: 10.3390/foods10081742)

155 Ruvalcaba-Gómez J. M., Villagrán Z., Valdez-Alarcón J. J., Martínez-Núñez M., Gomez-Godínez L. J., Ruesga-Gutiérrez E., et al. Non-antibiotics strategies to control Salmonella infection in poultry. *Animals*. 2022, 12:102. (doi: 10.3390/ani12010102)

156 Thames H. T., Sukumaran A. T. (2020). A review of salmonella and campylobacter in broiler meat: emerging challenges and food safety measures. *Foods*. 2020, 9:776. (doi: 10.3390/foods9060776)

157 Srinivasan P., Balasubramaniam G. A., Gopala T. R., Murthy K., Saravanan S., Balachandran P. Prevalence and pathology of salmonellosis in commercial layer chicken from Namakkal, India. *Pak. Vet. J.* 2014, 34, 324–328. (https://www.researchgate.net/publication/281752071_Prevalence_and_Pathology_of_Salmonellosis_in_Commercial_Layer_Chicken_from_Namakkal_India)

158 EFSA and ECDC. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2019–2020. *EFSA J*. 2022, 20:e07209. (doi: 10.2903/j.efsa.2022.7209)

159 Ob utverzhdenii Veterinarny`kh (veterinarno-sanitarny`kh) pravil. Prikaz MSKh RK ot 29.06.2015 g. # 7-1/587.

160 Joint FAO/WHO *Expert Meeting on the pre- and post-harvest control of Campylobacter spp. in poultry meat.* (URL: https://www.who.int/) (дата обращения: 06.09.2023).

Т.В. МЕЛЬНИКОВА[1], А.М. БАҒЫБАЕВА[1*], Н.Ч. ХАНИФ[2], Г.Ш. МУСИНА[3], Г.А. ДЖАМАЛОВА[1]

[1] «Animal Expert Group» Ғылыми-диагностикалық орталығы, Алматы, Қазақстан

[2]Boerinher Ingelheim, Лахор, Пәкістан

[3] «UniVet» Ғылыми-өндірістік орталығы, Алматы, Қазақстан

*e-mail: a.bagybaeva@aeg-lab.kz

АУЫЛШАРУАШЫЛЫҚ ТАУЫҚТАРЫНЫҢ САЛЬМОНЕЛЛЕЗ ҚОЗДЫРҒЫШЫНЫҢ БИОЛОГИЯЛЫҚ ЖӘНЕ ЭКОЛОГИЯЛЫҚ СИПАТТАМАСЫ

Түйін

Жүйелі зерттеу шолуы сальмонелланың биологиялық, эволюциялық және экологиялық ерекшеліктерін зерттейді, бұл өнеркәсіптік құс өсіру жағдайында ауылшаруашылық тауықтарының отарлануын қамтамасыз етеді. Ауылшаруашылық тауықтарының ауруы

спецификалық (*Salmonella pullorum, Salmonella gallinarum*) және спецификалық емес (*Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium*) сальмонелладан туындайды. Сальмонелла инфекциясы, сондай-ақ сальмонелла изоляттарындағы бірнеше дәріге төзімділік құс шаруашылығы мен қоғамдық денсаулық сақтау үшін жаһандық проблема болып табылады. *Salmonella* тұқымдасының бактериялары құс етінің өткір және созылмалы жұқпалы ауруларының себептерінің бірі болып табылады. Жұқтырған құс сальмонеллалардың резервуарына айналудан басқа, бұл қоздырғышты адамдарға ас тізбегі арқылы жібере алады. Жұмыстың мақсаты-*Salmonella* тұқымдас бактериялардың генотиптік және фенотиптік сипаттамалары туралы деректерді жаңарту. Зерттеудің ғылыми маңыздылығы қазіргі заманғы егжей – тегжейлі талдау болып табылады биоэкологиялық ауылшаруашылық тауықтарының сальмонеллез қоздырғышының сипаттамалары, практикалық-алынған өзекті мәліметтер негізінде, олардың құс фабрикаларында таралуын болдырмау және оларды тауық өнімдері арқылы адамға беру тәсілдерін жетілдіру мүмкіндігі. Ауылшаруашылық тауықтарына ең көп зиян келтіретін сальмонеллалардың үш түрі бар: *Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium* және *Salmonella gallinarup pullorum.* Ауылшаруашылық тауықтарында серовар *Gallinarum* (SG) ересектерге (іш сүзегі; жедел немесе созылмалы септицемиялық ауруды тудырады) және жастарға (пуллороз) әсер ететін *Gallinarum* (bvG) және *Pullorum* (bvP) биоварларына бөлінеді; құстардың әлсіздігін, тәбетінің жоғалуын, диареяны, сарқылуын және өсуінің тежелуін тудырады) және көлденең (жұқтырған құстармен, қоршаған ортамен және құстармен байланыс арқылы) және тік (ұрықтанған жұмыртқалар арқылы) тасымалдау жолын тудырады. Табынның пуллорозбен және іш сүзегімен қамту пайызы жоғары, ал тауықтардың өлімі негізінен 2-3 аптаға жетуі мүмкін, мысалы, пуллорозда 100 % - ға жетеді. *Gallinarum* серовариның құстарда таралу жолдары көлденең (жұқтырған құстармен, қоршаған ортамен және құстармен байланыс арқылы) және тік (ұрықтанған жұмыртқалар арқылы), ауру мен өлім-жітім жоғары және табынның 90% - дан астамына әсер етеді. Адамдардағы Сальмонеллез *Salmonella enteritidis* және *Salmonella typhimurium* серотиптерінен туындайды, олардың негізгі резервуары құс еті және олардың өнімдері болып табылады. Алдын алу бағдарламаларын іске асыру ауыл шаруашылығы тауықтарының табындарында сальмонелла ауруының төмендеуіне әкеледі және мемлекеттік деңгей стандарттарына байланысты тауықтар арасында әртүрлі сальмонелла сероварларының таралуы 6% - дан 30% - ға дейін ауытқиды.

Кілтті сөздер: *Salmonella,* сальмонеллез, ауылшаруашылық тауықтары, пуллороз, іш сүзегі.

МРНТИ: 34.27.29

Т.В. МЕЛЬНИКОВА[1], А.М. БАГЫБАЕВА[1*], Н. Ч. ХАНИФ[2], Г.Ш. МУСИНА[3], Г.А. ДЖАМАЛОВА[1]
[1]Научно-диагностический центр «Animal Expert Group», Алматы, Казахстан
[2]Boerinher Ingelheim, Лахор, Пакистан
[3]Научно-производственный центр «UniVet», Алматы, Казахстан
*e-mail: a.bagybaeva@aeg-lab.kz

БИОЛОГИЧЕСКАЯ И ЭКОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ВОЗБУДИТЕЛЯ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ КУР

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.04

Аннотация

В процессе системного исследовательского обзора изучались биологические, эволюционные и экологические особенности сальмонеллы, обеспечивающие колонизацию сельскохозяйственных кур в условиях промышленного птицеводства. Заболевание сельскохозяйственных кур вызывается специфичной (*Salmonella pullorum, Salmonella gallinarum*) и неспецифичной (*Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium*) сальмонеллой. Инфекция сальмонеллы, а также множественная лекарственная устойчивость у изолятов сальмонелл, представляет глобальную проблему для птицеводства и общественного здравоохранения. Бактерии рода *Salmonella* являются одной из причин острых и хронических инфекционных болезней домашней птицы. Помимо того, что

инфицированная домашняя птица становится резервуаром сальмонелл, она может передать через пищевую цепь этот возбудитель людям. Цель работы – актуализировать данные по генотипической и фенотипической характеристике бактерий рода *Salmonella*. Научная значимость исследования заключается в детальном анализе современной биоэкологический характеристики возбудителя сальмонеллеза сельскохозяйственных кур, практическая – в возможности совершенствования, на основе полученных актуальных сведений, способов предотвращения их распространения на птицефабриках и передачи их через куроводческую продукцию человеку. Наибольший ущерб сельскохозяйственным курам наносят три разновидности сальмонелл: *Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium* и *Salmonella gallinarup pullorum.* У сельскохозяйственных кур серовар *Gallinarum* (SG) подразделен на биовары *Gallinarum* (bvG) и *Pullorum* (bvP), которые, соответственно, поражают взрослых (брюшной тиф; вызывает острое или хроническое септицемическое заболевание) и молодых (пуллороз; вызывает слабость, потерю аппетита, понос, истощение и задержку роста) птиц, и которые имеют горизонтальный (через контакт с зараженными птицами, окружающей средой и птичницами) и вертикальный (через оплодотворенные яйца) путь переноса. Процент охвата стада пуллорозом и брюшным тифом высок, а смертность цыплят, преимущественно 2–3 недельного возраста, может достигать в стаде, например, при пуллорозе, 100 %. Сальмонеллез у человека вызывается серотипами *Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium* и первичным резервуаром для них служит домашняя птица и их продукты. Реализация программ профилактики приводит к снижению заболеваемости сальмонеллой в стадах сельскохозяйственных кур и, в зависимости от принятых государством нормативов, распространенность различных сероваров сальмонеллы среди сельскохозяйственных кур колеблется в интервале от 6 до 30%.

Ключевые слова: *Salmonella*, сальмонеллез, сельскохозяйственные куры, пуллороз, брюшной тиф.

Изучение эволюционной, биологической и экологической характеристик возбудителя сальмонеллеза сельскохозяйственных кур актуально, т.к. ежегодно, согласно данным ВОЗ, заболеваниями пищевого происхождения заболевают, в среднем, 550 миллионов человек и теряется 33 миллиона лет здоровой жизни. При этом *Salmonella enterica* в мировом списке диарейных заболеваний занимает четвертое место [1]. Ключевым резервуаром различных серотипов нетифоидной сальмонеллы являются сельскохозяйственные куры, а их продукция (яйца, мясо) доминирует в передаче инфекции человеку.

Цель работы – актуализировать данные по генотипической и фенотипической характеристике бактерий рода *Salmonella*, обеспечивающих колонизацию сельскохозяйственных кур в условиях промышленного птицеводства.

Научная новизна характеризуется отражением в статье современных комплексных (эволюционных, физиологических, генетических, биохимических и экологических) представлений о механизмах стойкости бактерий рода *Salmonella* в окружающей среде, об их способности проникать и колонизировать клетку и методах обнаружения серотипов сальмонелл.

Научная значимость исследования заключается в детальном анализе современной биоэкологический характеристики возбудителя сальмонеллеза сельскохозяйственных кур, практическая – в совершенствовании способов предотвращения их распространения на птицефабриках и передачи их через куроводческую продукцию человеку.

Материалы и методы исследования

Работа выполнена на основе теоретических исследований. С марта по сентябрь 2023 года на электронных платформах (Web of Science, Scopus, Наука Казахстана, Национальный центр государственной научно-технической экспертизы, Национальный центр Экспертизы и Сертификации, Министерство сельского хозяйства Республики Казахстан, Министерство здравоохранения Республики Казахстан, Научная электронная библиотека и др.) проводился поиск и анализ научной, законодательной и нормативной литературы, посвященной раскрытию биологических и экологических характеристик

возбудителя сальмонеллеза сельскохозяйственных кур, профилактике и контролю сальмонеллеза на птицеводческих объектах в Казахстане.

Результаты теоретических исследований и обсуждение

Специфичная и неспецифичная *Salmonella*

Род *Salmonella*, как колонизатор желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) сельскохозяйственных животных и птиц [2], является зоонозной бактерией из семейства *Enterobacteriaceae* [3] со способностями распространяться по пищевой цепи [4] через корм к животным – птицам, свиньям, овцам и крупному рогатому скоту и, далее, к человеку [5], и повторного возникновения [6].

Инфекция сальмонеллой, а также множественная лекарственная устойчивость у изолятов *Salmonella*, представляет глобальную проблему для общественного здравоохранения и животноводства, т.к. заражение пищевых продуктов может происходить на различных этапах пищевой цепи (производство → переработка → распределение → продажа → потребление) [7, 8], в том числе от человека к человеку [5]. Заражение сельскохозяйственных кур сальмонеллезом приводит к огромным экономическим потерям, а присутствие сальмонеллы в куроводческих продуктах препятствует международной торговле. Поэтому для предотвращения на птицефабриках заражения сельскохозяйственных кур сальмонеллой требуются дополнительные затраты на эпидемиологический надзор, профилактику и контроль [8-10].

Заболевание сельскохозяйственных кур вызывается специфичной (*Salmonella pullorum, Salmonella gallinarum*) и неспецифичной (*Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium*) сальмонеллой [11] (таблица 1).

Как видно из таблицы 1, у сельскохозяйственных птиц серовар *Gallinarum* (SG) подразделен на биовары *Gallinarum* (bvG) и *Pullorum* (bvP), которые монофилетичны и поражают взрослых (брюшной тиф; fowl typhoid – FT; вызывает острое или хроническое септицемическое заболевание) и молодых (пуллороз; вызывает слабость, потерю аппетита, понос, истощение и задержку роста) птиц, соответственно.

Таблица 1 – Специфичная и неспецифичная для сельскохозяйственных кур сальмонелла [11-18]

№	Показатель	Пуллороз	Тиф птичий	Птичий паратиф
1	2	3	4	5
1	Определение	Специфичная инфекция. Острое системное септическое заболевание птенцов и молодых птиц	Специфичная инфекция. Тяжелое септическое заболевание, поражает птиц всех возрастов, особенно взрослых	Неспецифическая паратифозная инфекция домашней птицы, вызывающая пищевое отравление человека сальмонеллой
2	Возбудитель	Неподвижный *Salmonella pullorum*	Неподвижный *Salmonella gallinarum*	Подвижные *Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium*
3	Передача заболевания	Орально; через пупок/желток; вертикально. Выздоровевшая курица становится носителем и передает бактерии одной трети своих яиц	Горизонтально: через фекально-оральный путь, при поедании яиц. Вертикально	Горизонтально: непосредственно от зараженных птиц, которые остаются переносчиками; от загрязненной окружающей среды или зараженных грызунов. Вертикально

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4	5
4	Клинические данные	От снижения аппетита и плохого роста (у молодых особей) до быстрой смерти (депрессия, взъерошенные перья, бледные и/или сморщенные гребни, затрудненное дыхание, диарея)	Депрессия. Взъерошенные перья. Отсутствие аппетита. Диарея. Нежелание двигаться Гибель птиц наступает в 90% случаев	Депрессия. Плохой рост. Слабость. Диарея. Обезвоживание. Обвисшие крылья. Опухшие суставы. Фиолетовый гребень и сережки
5	Основные поражения	Отек и гиперемия органов (печень, почки, селезенка) с белыми очагами в пораженных тканях, включая сердце, плюс перикардит или перитонит и др.	Увеличенная печень бронзового цвета с небольшими очагами некроза; анемия и энтерит; кремовые или казеозные изменения содержимого желточного мешка; деформация яичников и др.	Увеличение печени с некрозом, не рассасывающийся желточный мешок и энтерит с некротическими поражениями и др.

Пути передачи серовара *Gallinarum* у птиц горизонтальное (через контакт с зараженными птицами, окружающей средой и птичницами) и вертикальное (через оплодотворенные яйца), при этом заболеваемость и смертность высоки и могут достигать, например, при пуллорозе - 100 % смертность цыплят, преимущественно 2-3-недельного возраста [15, 19-22]. Уровень заражения сельскохозяйственных кур сальмонеллой варьирует от 1 % (в промышленно развитых странах) до 10 % (в развивающихся странах из-за сложных эпидемиологических условий) [23]. При этом распространенность сальмонеллы, в среднем, составляет [24-27]: на фермах 7 %, в коммерческих бройлерных фермах - 19,2%, инкубаториях - 10,3%, на бойнях 62,9 %, в розничных мясных магазинах - 46,3%, в продаваемом в розницу курином мясе - 54,7%, а в курином яйце – одно на 20 000 яиц.

Согласно данным отечественных ученых, сальмонеллы редкого типа были выделены из проб, полученных из окружающей среды. Авторы предположили, что на ареал распространения редких видов сальмонеллы влияет экология [28]. Также были выделены в Казахстане из разных пищевых продуктов серовары *Salmonella enteritidis, Salmonella typhimurium,* в том числе обладающие резистентностью к ампициллину и тетрациклину [29-32].

Сальмонеллез у человека вызывается серотипами *Salmonella enteritidis* и *Salmonella typhimurium*, при этом, как это видно из таблицы 1, первичным резервуаром для них служит домашняя птица и их продукты [33, 34].

Таким образом, одни серовары (*S. enteritidis, S. typhimurium*) могут поражать не только сельскохозяйственных птиц, но и человека [35], другие (*S. pullorum и S. gallinarum*) - только цыплят и кур, вызывая, соответственно, пуллороз и брюшной тиф [36, 37].

У взрослого населения клинические симптомы сальмонеллеза связаны, в основном, с гастроэнтеритом, диареей, болью в животе, лихорадкой, головной болью, тошнотой и/или рвотой, которые обычно проходят в течение 2–7 дней. Среди детей и пациентов пожилого возраста, заболевание может прогрессировать до тяжелого и опасного для жизни состояния, сопровождающегося системной бактериемией [38]. В мире ежегодно сальмонеллезная инфекция поражает примерно 550 млн. человек [1], а регистрируется обычно до 115,0 млн., смертей - до 370,0 тыс. случаев [39]. У животных распространены

субклинические инфекции, при которых бактерии могут легко распространяться между стадами, оставаясь незамеченными, и животные могут стать периодическими или постоянными носителями [40]. На клиническую картину заболевания влияют серотип, инфекционная доза, факторы вирулентности и иммунитет хозяина [41].

Общая биологическая характеристика бактерий рода *Salmonella*

Бактерии рода *Salmonella*:

1 Относятся к семейству *Enterobacteriaceae* и включают два вида – *Salmonella enterica* и *Salmonella bongori* [42].

2 Являются не спорообразующими грамотрицательными бациллами длиной 1 – 2,5 мкм и шириной 0,3 – 1,0 мкм, с оптимальным ростом при +37°С и pH 4-9 [21, 22, 43, 44].

3 Проявляют факультативно-анаэробные свойства [45].

4 Подвижны, за исключением возбудителя домашних птиц *Salmonella enterica Serovar gallinarum* (bvG; bvP), благодаря наличию на всей поверхности клетки перитрихиальных жгутиков [43, 44].

5 Биохимически характеризуются:

1) наличием фермента каталазы (каталазоположительные) [46-48];

2) отсутствием фермента оксидазы (оксидазоотрицательные) [46-48];

3) образованием сероводорода (возможны исключения для возбудителей домашних птиц) [46-48];

4) отсутствием ферментации лактозы [49];

5) декарбоксилированием лизина, орнитина [49];

6) отсутствием гидролиза мочевины [49];

7) отсутствием образования индола [49];

8) ферментацией маннита с образованием газа [49], исключением служит *S. gallinarum*, ферментирующая маннит без газообразования;

9) отсутствием ферментации сахарозы [49].

6 Термолабильны и погибают при +70°С, но в суровых условиях окружающей среды и в пылевом слое могут выживать до 2-х и более лет [50].

7 Обладают разнообразным набором генетических механизмов, которые кодируют способности колонизировать, прикрепляться, проникать и размножаться внутри клеток-хозяев. Эти механизмы включают фимбрии, капсулу, жгутики и токсины, а также гены вирулентности, организованные в их генетических детерминантах, такие как острова патогенности (SPI), плазмиды вирулентности, белки кислотоустойчивости и т. д. [51, 52].

У сальмонелл гены вирулентности:

- способствуют выживанию, заражению хозяина и колонизации [53];
- экспрессируются после столкновения с враждебной средой желудочно-кишечного тракта хозяина [54];
- являются критическими элементами системных инфекций [55].

У сальмонелл молекулярные механизмы патогенности вовлекают сгруппированные гены, названные островами патогенности (SPI), которые [55-58]:

- связаны с механизмами вирулентности, такими как колонизация хозяина, капсулы, токсины, инвазивность, биопленка, фимбрии, жгутики, конверсия серотипа и системы секреции;
- обеспечивают прохождение успешного инфекционного цикла;
- могут передаваться между бактериями путем горизонтального переноса генов.

Таким образом, генетические факторы вирулентности кодируются кластерами и переносятся вместе через островки патогенности (SPI; SPI-1 и SPI-2 играют важную роль в бактериальной инвазии и внутриклеточном выживании, активируя системы секреции [15, 19, 59]), плазмиды увеличивают бактериальный арсенал за счет переноса генов, связанных с устойчивостью к противомикробным препаратам и вирулентностью [56, 60]; играют решающую роль в повышении способности отдельных сероваров размножаться в тканях вне кишечного тракта [61] и профаги несут гены, участвующие в вирулентности и

системе секреции третьего типа – T3SS [62-64]). У сальмонелл описано 24 SPI, которые различаются у разных сероваров по количеству и составу [56, 62, 65]. Следовательно, патогенность сальмонелл связана с количеством и типом генов вирулентности [66].

Происхождение и классификация бактерий рода *Salmonella*

Номенклатура *Salmonella* сложна и все еще развивается [67, 68] и основана как на названиях серотипов, так и на подвидах [69].

Род *Salmonella*, названный в честь Daniel E. Salmon (впервые в 1884 г выделил из кишечника свиньи) [69-71], состоит из двух видов *Salmonella enterica (S.enterica),* включающая шесть подвидов (I) *enterica,* (II) *salamae,* (IIIa) *arizonae,* (IIIb) *diarizonae,* (IV) *houtenae,* (V) *indica*) и *Salmonella bongori* (*S.bongori*) [72-75]. Так, *Salmonella enterica* подвида *enterica* серотипа *Enteritidis* сокращают до серотипа *Salmonella enteritidis* [75]. Около 99 % штаммов сальмонелл, вызывающих инфекции у теплокровных животных и человека, относятся к *S. enterica* подвид *enterica* (I) [76], которая включает шесть подвидов [77] и 2659 сероваров [39]. Остальные пять подвидов *S. enterica* и *S. bongori* встречаются, в основном, в окружающей среде, а также - у хладнокровных животных [75].

Сальмонеллы классифицируются:

1) на биотип (биохимическая вариация между двумя бактериями одного и того же серотипа) и фаговый тип (вариация в чувствительности двух бактерий одного и того же серотипа к литическому бактериофагу) [78, 79];

2) по трем различным типам антигенов [75, 80, 81]:

2.1) О-антигены (соматические термостабильные) липополисахаридного слоя (ЛПС), состоящие из повторяющихся единиц гликана, содержащие комбинацию от 2-х до 8-ми остатков сахара. У *Salmonella* имеется 47 известных структур О-антигена и 21 различных О-гликанов [82] (определенный серотип *Salmonella* экспрессирует на своей поверхности более одного О-антигена [83]);

2.2) Н-антигены (жгутиковые термолабильные белки, кодирующие двумя различными генами, поэтому за раз бактерия экспрессирует только один белок: антигены фазы I участвуют в активации иммунных ответов хозяина, антигены фазы II являются неспецифическими антигенами и которые могут быть общими для многих серотипов [84]);

2.3) К-антигены (капсульные, термочувствительные полисахариды), наименее распространенные (антигены вирулентности (Vi), особый подтип К-антигена, обнаружены только у трех патогенных серотипов: *Paratyphi C, Dublin* и *Typhi* [67].

Антигены используют для выделения и идентификации серотипов сальмонеллы [85].

Процесс обнаружения сальмонелл складывается из следующих ключевых процедур:

1) виды *Salmonella* выделяют, например, в пищевых продуктах по методике ISO 6579 [86];

2) для определения чувствительности к антибиотикам используют метод диффузии в агаре (Kirby-Bauer) [87-91];

3) определение серотипа фенотипическим методом White-Kauffman-Le Minor (WKL), основанный на комбинации антигенов О и Н, экспрессируемых на поверхности, когда серотип выявляется на основе агглютинации бактерий специфическими антисыворотками (более 150) для выявления антигенной формулы штамма, т.е. вариантов О- (идентифицировано 46) и Н- (идентифицировано 114) антигенов [92]. В производственной рутине данная схема типирования не всегда достоверно отражает эволюционные взаимоотношения между различными штаммами *S. enterica subsp. enterica* из-за [93, 94]:

- того, что большинство серотипов полифилетичны и происходят от множества независимых предков;

- генотипически и фенотипически различных подтипов, развившихся из одних и тех же сероваров;

- слабой или неспецифической агглютинации;

4) молекулярно-генетические методы [95]. В этом случае серотипирование проводят на основе:

- локусов О- и Н-антигенов с использованием методов ПЦР [96] и NGS (next generation sequencing) [97];
- суррогатных геномных маркеров – генов вирулентности [98];
- мультилокусных последовательностей (MLST) [95, 99-101], но данный подход не обладает достаточной дискриминационной способностью для дифференциации близкородственных штаммов [101, 102], поэтому он недостаточен для многих эпидемиологических исследований.

Технологии высокопроизводительного секвенирования (HTS) позволили быстро и доступно анализировать полные геномы [103]. Полногеномные последовательности (WGS) применяют для филогенетического и филогеномного анализа [104]; исследования генов, определяющих серотип или подтип [105]; установления источника и эпидемиологического надзора [106].

Таким образом, идентификация сероваров сальмонелл, из-за их способности, с одной стороны, вызывать заболевания у широкого круга хозяев [107], с другой - приобретать множественную лекарственную устойчивость и вызывать более тяжелый исход заболевания [108], имеет ключевое значение для эпидемиологического надзора, оценки заболеваний и предотвращения экономических потерь в промышленном птицеводстве [36, 37].

Экология бактерий рода *Salmonella*

Род *Salmonella* распространен в окружающей среде, т.к. может выживать в суровых условиях до 2-х и более лет [50], обитает в широком диапазоне температур (+2 - +54ºС) и pH (3,8 – 9,5) с оптимальными значениями +37°С и 6,5-7,5, соответственно [48, 109], имеет широкий круг хозяев (хладнокровные и теплокровные животные) [74, 110]. Активность воды (a_w) менее 0,94 подавляет рост сальмонелл [111], но при определенных температурах такая активность воды оказывает на сальмонеллы защитное действие [112, 113].

Salmonella адаптируется к различным экологическим нишам (навоз, почва) [114, 115]. Высокая физиологическая пластичность *Salmonella* позволяет им использовать сельскохозяйственные почвы в качестве альтернативной среды обитания [116], а взращивание культур на таких угодьях приводит к заражению через надземные или подземные части растений [117], что может обеспечить, в последующем, путь заражения от животных к человеку [116].

Salmonella, как патогены пищевого происхождения, преимущественно обнаруживаются в птице и животных (свиньи, крупный рогатый скот), яйцах и молочных продуктах [118], а также - в свежих фруктах и овощах [119]. *Salmonella* выживает в течение длительного времени в пищевых продуктах с низким содержанием влаги [120]: от 6 недель при +21 ºС до 24 недель при +5 ºС - в арахисовом масле [121, 122], до 8 мес. - в порошке паприки [123] и в халве - при температуре охлаждения [124], до 9 мес. - в шоколаде [125], до 10 мес. - в сухих молочных продуктах [126] и до 12 мес. - в макаронных изделиях [127].

Salmonella поступает в технологическую систему производства сельскохозяйственных животных и птиц через зараженные корм, воду, подстилку, инструменты, обувь и персонал [2]. Потенциальные источники сальмонелл: помёт, компост, домашние животные (собаки, кошки, рептилии, птицы), сельскохозяйственные и дикие животные и птицы, рептилии [128-133]. Резервуарами для сальмонелл являются дикие птицы, т.к. обитая в их кишечнике сальмонеллы могут не вызывать у них явных клинических симптомов. Дополнительная угроза исходит от перелётных птиц и районов, где они временно останавливаются на своём пути, инициируя очаги распространения возбудителя [134].

Основные пути распространения патогенов связаны с процессами убоя и торговли сырыми продуктами и животными [135], с потреблением зараженных сальмонеллами пищевых продуктов (мясо, яйца, молоко), плохим мытьем рук перед едой, контактом с инфицированными домашними животными [129]. При заражении кишечного тракта клеточные реакции включают приток гетерофилов (аналоги нейтрофилов млекопитающих) и макрофагов (способны убивать сальмонеллу) к просветной поверхности кишечника для защиты хозяина от бактериальных инфекций [136-139]. Если иммунная система не уничтожает сальмонеллы, происходит колонизация кишечника, далее сальмонеллы последовательно распространяются во внутренних органах (печень, селезенку, вагинальный эпителий кур-несушек и яичники [137, 140-147]), проникая и колонизируя также другие клетки [148]. *Salmonella*, контаминирующая яичную скорлупу, может проникать в яйцо птицы (например, *S. pullorum* передается от инфицированной птицы-родителя через яйцо к курице, что может сопровождаться чрезмерным количеством мертвых в скорлупе цыплят и их гибелью вскоре после вылупления; *S.gallinarum* выделяется с фекалиями инфицированных птиц и может сохраняться в фекалиях не менее 1 месяца и дольше - в тушах) [149].

Отсутствие контакта между цыплятами и взрослыми птицами в промышленном птицеводстве замедляет колонизацию кишечного тракта полезными микробами [150], хотя для сельскохозяйственных цыплят здоровое функционирование кишечника имеет решающее значение для быстрого темпа роста [151] и созревания иммунной системы [152].

Таким образом, уровень заражения сельскохозяйственных кур сальмонеллезом всё ещё остается высоким и представляет проблему безопасности пищевых продуктов на постоянной основе [153]. Для повышения пищевой безопасности, например, в ЕС ежегодно в птицеводство инвестируется в различные стратегии профилактики и контроля сальмонеллы (вакцинация, противомикробные препараты, кормовые добавки, мониторинг, конкурентное исключение) около 3 млрд. €, в США - примерно 11,6 млрд. $ [154-156]. Реализация программ профилактики приводит к снижению заболеваемости сальмонеллой в стадах сельскохозяйственных кур и, в зависимости от государственных нормативов, распространенность различных сероваров сальмонеллы среди кур колеблется в интервале от 6 до 30% [157, 158].

Заключение

Из проведенных исследований можно заключить, что сальмонеллез, вызываемый возбудителем рода сальмонелл, представляет собой группу острых инфекционных полиэтиологичных болезней (проявляется через 6–72 часа), который передается через фекально-оральный механизм и который в клинических проявлениях характеризуется полиморфизмом: от носительства сальмонеллы (60–80% всех случаев не распознаются) до тяжелой септической формы и смерти [159, 160].

Финансирование

Работа финансировалась ТОО «Научно-производственный центр UniVet» (договор № 01 от 06.03.2023 г.) по программе исследований на базе ТОО «Научно-диагностический центр Animal Expert Group» (номер гос. регистрации 0123РКД0014 от 27.03.2023 г. НЦГНТЭ РК).

Литература:

1 Salmonella (non-typhoidal). URL: https://www.who.int/ (дата обращения: 04.03.2024)

2 Wales A.D., Allen V.M., Davies R.H. Chemical treatment of animal feed and water for the control of salmonella. *Foodborne Pathog*. Dis. 2010: 7:3–15. (doi: 10.1089/fpd.2009.0373)

3 Li H., Wang H., D'Aoust J., Maurer J. Salmonella species. In: Doyle M.P., Buchanan R.L., editors. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. *ASM Press*. 2013: pp. 143–167.

4 Omneya S. Magdy, Ihab M. Moussa, Hussein A. Hussein, Mahmoud D. El-Hariri, Ahmed Ghareeb, Hassan A. Hemeg, Khalid S. Al-Maary, Aymen S. Mubarak, Waleed K. Alwarhi, Jakeen K. Eljakee, Saleh A. Kabli, Genetic diversity of Salmonella enterica recovered from chickens farms and its potential transmission to human. *Journal of Infection and Public Health*. V. 13, Issue 4, 2020: 571-576. (https://doi.org/10.1016/j.jiph.2019.09.007)

5 Alikhan N.F., Moreno L.Z., Castellanos L.R., Chattaway M.A., McLauchlin, J., Lodge M., O'Grady J., Zamudio R., Doughty E., Petrovska L. et al. Dynamics of Salmonella enterica and antimicrobial resistance in the Brazilian poultry industry and global impacts on public health. *PLoS Genet*. 2022, 18:e1010174. (https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1010174)

6 Silva C., Calva E., Maloy S. (2014). One health and food-borne disease: salmonella transmission between humans, animals, and plants. *Microbiol Spectr 2*. 2014, 2(1). (doi: 10.1128/9781555818432.ch9)

7 Shen Y., Xu L., Li Y., "Biosensors for rapid detection of Salmonella in food: a review" *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. V. 20, no. 1, 2021: 149–197. (doi: 10.1111/1541-4337.12662)

8 Das T. et al. Antimicrobial resistance profiling and burden of resistance genes in zoonotic Salmonella isolated from broiler chicken. *Veterinary Med. Sci*. 2022, 8: 237–244. (doi: 10.1002/vms3.648)

9 Crump J.A., Luby S.P., Mintz E.D. The global burden of typhoid fever. *Bulletin of the World Health Organization*. 2004, 82(5):346–353. (URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15298225/)

10 Nabil N.M., Tawakol M.M., Samir A. et al. Synergistic influence of probiotic and florfenicol on embryonic viability, performance, and multidrug-resistant Salmonella Enteritidis in broiler chickens. *Sci Rep 13*, 9644 (2023). (https://doi.org/10.1038/s41598-023-36238-6)

11 Kaur J. Prevention and Control of Salmonella infection in poultry. 10.09.2019. (URL: https://thepoultrypunch.com/2019/09/prevention-and-control-of-salmonella-infection-in-poultry/) (дата обращения: 30.08.2023).

12 Batist D.F.A., Freitas Neto O.C., Barrow P. A., de Oliveira M. T., Almeida A. M., Ferraudo A. S., & Berchieri Jr., A. Identification and characterization of regions of difference between the Salmonella Gallinarum biovar Gallinarum and the Salmonella Gallinarum biovar Pullorum genomes. *Infection, Genetics and Evolution.* V. 30, 2015:74–81. (doi: 10.1016/j.meegid.2014.12.007.)

13 Shivaprasad H.L., Barrow P., 2008. Pullorum disease and fowl typhoid. In: Saif Y.M., Fadly A.M., Glisson J.B., McDougald L.R., Nolan L.K., Swayne D.E. (Eds.), Disease of Poultry. Wiley-Blackwell, Iowa, pp. 619–674. (URL: https://hal.science/hal-00670244/document)

14 Cobb S.P., McVicar C.M., Davies R.H., Ainsworth H. Fowl typhoid in caged layer birds. *Vet Rec*. V. 157, 2005:268. (doi: 10.1136/vr.157.9.268)

15 Shivaprasad H.L., Barrow P. Pullorum disease and Fowl typhoid. In Swayne D.E., Glisson J.R., McDougald L.R., Nolan L.K., Suarez D.L. eds Diseases of Poultry Ames, Iowa: John Wiley & Sons, Inc. 2013: 678–693. (URL: https://hal.science/hal-00670244/document)

16 Matos M., Sommer F., Liebhart D., Bilic I., Hess M. et al. An outbreak of Pullorum disease in a young layer parent flock in Austria presented with central nervous system signs. *Avian Dis*. V. 65, 2021:159–164. (doi: 10.1637/aviandiseases-D-20-00091)

17 WOAH Chapter 3.3.11: Fowl typhoid and Pullorum disease. In Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals World Organisation for Animal Health (WOAH), 2018: pp 914–930. (URL: https://www.woah.org/fileadmin/Home/fr/Health_standards/tahm/3.03.11_FOWL_TYPHOID.pdf)

18 Shivaprasad H.L., Methner U., Barrow P.A. Salmonella infections in the domestic fowl. In Barrow P.A., Methner U. eds Salmonella in Domestic Animals Wallingford, UK: CAB International, 2013.

19 Chappell L., Kaiser P., Barrow P., Jones M.A., Johnston C., Wigley P. The Immunobiology of Avian Systemic Salmonellosis. *Vet. Immunol. Immunopathol*. V. 128, 2009:53–59. (doi: 10.1016/j.vetimm.2008.10.295)

20 Barrow P.A., Freitas Neto O.C. Pullorum Disease and Fowl Typhoid—New Thoughts on Old Diseases: A Review. *Avian Pathol*. V. 40, 2011:1–13. (doi: 10.1080/03079457.2010.542575)

21 Calnek B.W., Barnes H.J., Beard C.W., Mcdougald L.D., Saif Y.M. Diseases of poultry. 10th edition, 1997.

221 Brugere J.P., Shivaprasad JP.V., Venne D., Bouzouaia M. Manual of poultry diseases. AFAS, 2015.

23 Rychlik I., Elsheimer-Matulova M., Kyrova K. Gene Expression in the Chicken Caecum in Response to Infections with Non-Typhoid Salmonella. *Vet. Res*. V. 45, 2014:119. (https://doi.org/10.1186/s13567-014-0119-2)

24 Ren X., Li M., Xu C., Cui K., Feng Z., Fu Y., Zhang J., Liao M. Prevalence and molecular characterization of Salmonella enterica isolates throughout an integrated broiler supply chain in China. *Epidemiol. Infect*. V. 144, 2016:2989–2999. (doi: 10.1017/S0950268816001515)

25 Sohail M.N., Rathnamma D., Priya S.C., Isloor S., Naryanaswamy H.D., Ruban S.W., Veeregowda B.M. Salmonella from farm to table: Isolation, characterization, and antimicrobial resistance of Salmonella from commercial broiler supply chain and its environment. *Biomed Res. Int.* 2021:3987111. (doi: 10.1155/2021/3987111)

26 Park S., Choi S., Kim H., Kim Y., Kim B., Beuchat L.R., Ryu J.H. Fate of Mesophilic Aerobic Bacteria and Salmonella Enterica on the Surface of Eggs as Affected by Chicken Feces, Storage Temperature, and Relative Humidity. *Food Microbiol*. V. 48, 2015:200–205. (doi: 10.1016/j.fm.2015.01.003)

27 Trampel D.W., Holder T.G., Gast R.K. Integrated Farm Management to Prevent Salmonella Enteritidis Contamination of Eggs. *J. Appl. Poult. Res*. V. 23, 2014:353–365. (doi: 10.3382/japr.2014-00944)

28 Tabaeva A.A, Kotova A.L. Redkie serotipy salmonell, tsirkuliruiushchie v Kazakhstane [Rare serotypes of salmonella circulating in Kazakhstan]. Klin Lab Diagn. 2003 Feb;(2):51-2. Russian. PMID: 12688220

29 Rychshanova R., Ruzauskas M., Chuzhebayeva G., Mockeliunas R., Mamiyev N., Virgailis M., Shevchenko P., Siugzdiniene R., Anskiene L. & Mendybayeva A. (2021). Differences in antimicrobial resistance of Salmonella spp. isolated from humans, animals and food products in Kazakhstan. Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society, 72(3), 3091–3100. https://doi.org/10.12681/jhvms.28498

30 Мендыбаева А.М., Рыщанова Р.М. Антибиотикорезистентность штаммов *Salmonella* spp., изолированных от животных и птиц на территории северного Казахстана С.Сейфуллинатындағы Қазақагротехникалық университетінің Ғылымжаршысы пәнаралық). Вестник науки Казахского агротехнического университета им. С.Сейфуллина (междисциплинарный). -2022 -No1 (112). –С. 324-334

31 Anara M. Mendybayeva, Gulnur K. Aliyeva, Gulzhagan D. Chuzhebayeva, Alexandra A. Tegza, Raushan M. Rychshanova, Antibiotic resistance of enterobacterial pathogens isolated on the territory of the Northern Kazakhstan, Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, Volume 87, 2022, 101854, ISSN 0147-9571, https://doi.org/10.1016/j.cimid.2022.101854

32 Департамент санитарно-эпидемиологического контроля города Алматы. URL: https://www.gov.kz/memleket/entities/departament-kkbtu-almaty (дата обращения: 03.03.2024)

33 Saleh S., Van Puyvelde S., Staes A., Timmerman E., Barbé B., Jacobs J., Gevaert K., Deborggraeve S. Salmonella Typhi, Paratyphi A, Enteritidis and Typhimurium Core Proteomes Reveal Differentially Expressed Proteins Linked to the Cell Surface and Pathogenicity. *PLoS Negl. Trop. Dis.* V. 13, 2019: e0007416. (doi: 10.1371/journal.pntd.0007416)

34 Alghoribi M.F., Doumith M., Alrodayyan M., Al Zayer M., Köster W.L., Muhanna A., Aljohani S.M., Balkhy H.H., Desin T.S. S. Enteritidis and S. Typhimurium Harboring SPI-1 and SPI-2 Are the Predominant Serotypes Associated With Human Salmonellosis in Saudi Arabia. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* V. 9, 2019:187. (doi: 10.3389/fcimb.2019.00187)

35 Alam S.B., Mahmud M., Akter R., Hasan M., Sobur A., Nazir K.N.H., Noreddin, A., Rahman T., El Zowalaty M.E., Rahman M. Molecular Detection of Multidrug Resistant Salmonella Species Isolated from Broiler Farm in Bangladesh. *Pathogens.* V. 9, 2020: 201. (https://doi.org/10.3390/pathogens9030201)

36 Guo R., Li Z., Zhou X., Huang C., Hu Y., Geng S., Chen X., Li Q., Pan Z., Jiao X. Induction of arthritis in chickens by infection with novel virulent Salmonella Pullorum strains. *Vet. Microbiol*. 2019, 228, 165–172. (doi: 10.1016/j.vetmic.2018.11.032)

37 Soria M.C., Soria M.A., Bueno D.J. Comparison of 2 culture methods and PCR assays for Salmonella detection in poultry feces. *Poult. Sci*. 2012, 91, 616–626. (doi: 10.3382/ps.2011-01831)

38 WHO (World Health Organization). Salmonella (Non-Typhoidal), 2018. (URL: https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/Salmonella-(non-typhoidal)) (accessed on 01.09.2023)

39 Qin X., Yang M., Cai H., Liu Y., Gorris L., Aslam M.Z., Jia K., Sun T., Wang X., Dong Q. Antibiotic Resistance of Salmonella Typhimurium Monophasic Variant 1,4, [5],12:i:– in China: A

Systematic Review and Meta–Analysis. *Antibiotics*. 2022, 11, 532. (https://doi.org/10.3390/antibiotics11040532)

40 EFSA (European Food Safety Authority); ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). Trends and Sources of Zoonoses and Zoonotic Agents in the European Union in 2007. *EFSA J*. 2009, 223, 1–310. (https://doi.org/10.2903/j.efsa.2011.2090)

41 Castro-Vargas R. E., Herrera-Sánchez M. P., Rodríguez-Hernández R., and Rondón-Barragán I. S., «Antibiotic resistance in Salmonella spp. isolated from poultry: a global overview». *Veterinary world*. vol. 13, no. 10, pp. 2070–2084, 2020. (doi: 10.14202/vetworld.2020.2070-2084)

42 Ferrari R.G., Rosario D.K.A., Cunha–Neto A., Mano S.B., Figueiredo E.E.S., Conte–Junior C.A. Worldwide Epidemiology of Salmonella Serovars in Animal–Based Foods: A Meta–analysis. *Appl. Environ. Microb*. 2019, 85, e00591-19. (doi: 10.1128/AEM.00591-19)

43 Lopes P. D., Freitas Neto O. C., Batista D. F. A., et al. Experimental infection of chickens by a flagellated motile strain of Salmonella enterica serovar Gallinarum biovar Gallinarum. *Veterinary Journal*. 2016, 214, 40–46. (doi: 10.1016/j.tvjl.2016.05.006)

44 Schofield F. W. *Salmonella* infections of domestic animals: their relationship to Salmonellosis (food infection in man) Canadian Journal of Comparative Medicine and Veterinary Science. 1945, 9, 62–68. (URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1660949/)

45 Graziani C., Losasso C., Luzzi I., Ricci A., Scavia G., Pasquali P. Salmonella. *In Foodborne Diseases*, 3rd ed.; Elsevier Inc.: Amsterdam, The Netherlands, 2017; pp. 133–169. (doi: 10.3390/ani13233666)

46 Coburn B., Grassl G.A., Finlay B.B. *Salmonella*, the host and disease: a brief review. *Immunol. Cell Biol*. 2007; 85:112–118. (doi: 10.1038/sj.icb.7100007)

47 Li H., Wang H., D'Aoust J.Y., Maurer J. In: Food Microbiology Fundamentals and Frontiers. 4th ed. Doyle M.P., Buchanan R.L., editors. ASM Press; Washington, DC: 2013. *Salmonella* Species; pp. 225–261.

48 D'Aoust J., Maurer J. *Salmonella* species. In: Doyle M., Beuchat L., editors. Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers. 3rd. Washington, DC, USA: ASM Press, 2007.

49 ГОСТ 31468-2012. Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Метод выявления сальмонелл. (URL: https://files.stroyinf.ru/Data/525/52573.pdf)

50 Davies R.H., Wray C. Persistence of *Salmonella enteritidis* in poultry units and poultry food. *Br. Poult. Sci*. 1996, 37, 589–596. (doi: 10.1080/00071669608417889)

51 Velhner M., Milanov D., Kozoderovic G. *Salmonella* spp. in poultry: A constant challenge and new insights. *J. Hell. Vet. Med. Soc*. 2018, 69, 899–910. (doi: 10.17582/journal.aavs/2021/9.6.823.834)

52 Lapierre L., Cornejo J., Zavala S., Galarce N., Sánchez F., Benavides M.B., Guzmán M., Sáenz L. Phenotypic and genotypic characterization of virulence factors and susceptibility to antibiotics in *Salmonella infantis* strains isolated from chicken meat: First findings in Chile. *Animals*. 2020, 10, 1049. (doi: 10.3390/ani10061049)

53 Erhardt M., Dersch P., "Regulatory principles governing Salmonella and Yersinia virulence" *Frontiers in microbiology*. vol. 6, p. 949, 2015. (https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00949)

54 Ruiz M. J., Ramallo G., Colello R. et al., "Diferentes métodos para aislamiento y detección de Salmonella spp. en canales porcinas" *Revista Colombiana de Biotecnología*, vol. 20, no. 2, pp. 117–123, 2018. (URL: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0123-34752018000200117&lng=en&nrm=iso&tlng=es)

55 Thung T. Y., Radu S., Mahyudin N. A. et al., "Prevalence, virulence genes and antimicrobial resistance profiles of Salmonella serovars from retail beef in Selangor, Malaysia". *Frontiers in Microbiology*. vol. 8, p. 2697, 2017. (https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02697)

56 Cheng R. A., C. R. Eade, M. Wiedmann, "Embracing diversity: Differences in virulence mechanisms, disease severity, and host adaptations contribute to the success of nontyphoidal salmonellaas a foodborne pathogen". *Frontiers in microbiology*. vol. 10, p. 1368, 2019. (https://doi.org/10.1155/2023/1875253)

57 Kombade S., Kaur N., "Pathogenicity Island in *Salmonella*," in *Salmonella* spp.-A Global Challenge". En Salmonella spp. A Global Challenge, IntechOpen, London, UK, 2021. (doi: 10.5772/intechopen.96443)

58 Al-Khafaji N. S., Al-Bayati A. M., Al-Dahmoshi H. O., "Virulence factors of Salmonella typhi" in Salmonella spp. -A global challenge". *Intech.* 2021. (URL: https://www.intechopen.com/chapters/75674.)

59 Shah D.H., Lee M.-J., Park J.H., Lee J.H., Eo S.K., Kwon J.T., Chae J.S. Identification of Salmonella Gallinarum Virulence Genes in a Chicken Infection Model Using PCR-Based Signature-Tagged Mutagenesis. *Microbiology*. 2005, 151, 3957–3968. (doi: 10.1099/mic.0.28126-0)

60 Rychlik I., Gregorova D., Hradecka H. Distribution and Function of Plasmids in *Salmonella* Enterica. *Vet. Microbiol*. 2006, 112, 1–10. (doi: 10.1016/j.vetmic.2005.10.030)

61 Guiney D. G., Fang F. C., Krause M., Libby S., "Plasmid-mediated virulence genes in non-typhoid Salmonella serovars". *FEMS microbiology letters*. vol. 124, no. 1, pp. 1–9, 1994. (https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.1994.tb07253.x)

62 Sabbagh S.C., Forest C.G., Lepage C., Leclerc J.-M., Daigle F. So Similar, yet so Different: Uncovering Distinctive Features in the Genomes of Salmonella Enterica Serovars Typhimurium and Typhi. *FEMS Microbiol. Lett*. 2010, 305, 1–13. (doi: 10.1111/j.1574-6968.2010.01904.x.)

63 Figueroa-Bossi N., Uzzau S., Maloriol D., Bossi L. Variable Assortment of Prophages Provides a Transferable Repertoire of Pathogenic Determinants in *Salmonella*. *Mol. Microbiol*. 2001, 39, 260–271. (doi: 10.1046/j.1365-2958.2001.02234.x.)

64 Ehrbar K., Hardt W.D. Bacteriophage-Encoded Type III Effectors in Salmonella Enterica Subspecies 1 Serovar Typhimurium. *Infect. Genet. Evol*. 2005, 5, 1–9. (doi: 10.1016/j.meegid.2004.07.004.)

65 Marcus S.L., Brumell J.H., Pfeifer C.G., Finlay B.B. Salmonella Pathogenicity Islands: Big Virulence in Small Packages. *Microbes Infect*. 2000, 2, 145–156. (doi: 10.1016/s1286-4579(00)00273-2.)

66 Chaudhary J. H., Nayak J. B., Brahmbhatt M. N., Makwana P. P., "Virulence genes detection of Salmonella serovars isolated from pork and slaughterhouse environment in Ahmedabad, Gujarat", *Veterinary World*. vol. 8, no. 1, pp. 121–124, 2015. (doi: 10.14202/vetworld.2015.121-124.)

67 Eng S.K., Pusparajah P., Ab Mutalib N.S., Ser H.L., Chan K.G., Lee L.H. Salmonella: A review on pathogenesis, epidemiology and antibiotic resistance. *Frontiers in Life Science*. 2015, 8(3), 284–293. (doi:10.1080/21553769.2015.1051243.)

68 Dunkley K. D., Callaway T. R., Chalova V. I., McReynolds J. L., Hume M. E., Dunkley C. S., Ricke S. C. Foodborne Salmonella ecology in the avian gastrointestinal tract. *Anaerobe*. 2009, 15(1-2), 26–35. (doi:10.1016/j.anaerobe.2008.05.007.)

69 Salmon D., Smith T. *Report on swine plague, US Bureau of Animal Industries.* 2nd Annual Report 184, U.S. Government Printing Office, Washington, DC, USA, 1885.

70 Smith T., *"The hog-cholera group of bacteria,"* US Department of Agriculture Bureau of Animal Industry Bulletin, vol. 6, pp. 6–40, 1894.

71 White P.B. HMSO; London, UK: 1926. *Further Studies on the Salmonella Group*. Great Britain Medical Research Special Report no. 103.

72 Brenner F. W., McWhorter-Murlin A. C. *Identification and serotyping of Salmonella*. 1998 Centers for Disease Control and Prevention Atlanta, Ga.

73 Popoff M. Y., Bockemühl J, Brenner F W. Supplement 1998 (no. 42) to the Kauffmann-White scheme. *Res Microbiol.* 2000; 151:63–65. (doi: 10.1016/s0923-2508(00)00126-1.)

74 Popoff M. Y., Le Minor L. *Antigenic formulas of the Salmonella serovars, 7th revision.* World Health Organization Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella 1997 Pasteur Institute Paris, France.

75 Brenner F.W., Villar R.G., Angulo F.J., Tauxe R., Swaminathan B. *Salmonella* Nomenclature. *J Clin Microbiol. 2000* Jul 1;38(7):2465–7. pmid:10878026. (doi: 10.1128/JCM.38.7.2465-2467.2000.)

76 Pławińska–Czarnak J., Wódz K., Kizerwetter–Świda M., Bogdan J., Kwieciński P., Nowak T., Strzałkowska Z., Anusz K. Multi–Drug Resistance to Salmonella spp. When Isolated from Raw Meat Products. *Antibiotics.* 2022, 11, 876. (doi: 10.3390/antibiotics11070876)

77 Hurley D., McCusker M.P., Fanning S., Martins M. Salmonella—Host interactions—Modulation of the host innate immune system. *Front. Immunol*. 2014, 5, 481. (doi: 10.3389/fimmu.2014.00481)

78 Ward L.R., de Sa J.D., Rowe B. A phage-typing scheme for Salmonella Enteritidis. *Epidemiol Infect.* 1987;99: 291–4. (doi: 10.1017/s0950268800067765.)

79 Varnam A.H., Evans M.G. *Salmonella, foodborne pathogens, an illustrated text.* Wolfe Publishing Ltd, 1993.

80 Grimont P., Weill F-X. *Antigenic Formulae of the Salmonella serovars*. (9th ed.) Paris: WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella. WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Salmonella.

81 Nataro J., Bopp C., Fields P., Kaper J., Strockbine N. *Escherichia, Shigella, and Salmonella in Manual of Clinical Microbiology* J. Versalovic K. Carroll G. Funke J. Jorgensen M. Landry, D. Warnock, Eds., pp. 603–626, ASM Press, Washington, DC., USA, 10th edition, 2011.

82 Liu B., Knirel Y.A., Feng L., Perepelov A.V., Senchenkova S.N., Reeves P.R., Wang L. Structural diversity in Salmonella O antigens and its genetic basis. *FEMS Microbiol Rev*. 2014, 38, 56–89. (doi: 10.1111/1574-6976.12034.)

83 Hu L., Kopecko D.J. 2003. Typhoid *Salmonella*. In: Millotis M.D., Bier J.W., editor. International handbook of foodborne pathogens. *New York: Marcel Dekker Inc*. p. 151–165. (URL: https://eddymercado.files.wordpress.com/2012/11/manual-internacional-de-contaminacic3b3n-patogc3a9nica-de-alimentos.pdf)

84 McQuiston J.R., Fields P.I., Tauxe R.V., Logsdon J.M. Jr. Do *Salmonella* carry spare tyres? *Trends in Microbiology*. 2008, 16,142–148. (https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.01.009)

85 Popoff M.Y., Bockemu¨hl J., Gheesling L.L. Supplement 2001 (No. 45) to the Kauffmann-White scheme. *Res Microbiol*. 2003,154, 173–4. (doi: 10.1016/S0923-2508(03)00025-1.)

86 ISO 6579-1:2017. *Микробиология пищевой цепи. Горизонтальный метод выявления, подсчета и определение серотипа бактерий рода Salmonella.* Часть 1. Обнаружение бактерий рода Salmonella spp. (URL: https://www.gostinfo.ru/catalog/Details/?id=6317094)

87 Jan Hudzicki. Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. Published 8 December 2009. *Biology*. Protocol for using the Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test in the microbiology lab. (URL: https://asm.org/getattachment/2594ce26-bd44-47f6-8287-0657aa9185ad/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Protocol-pdf.pdf)

88 Bauer A. W., W. M. Kirby, J. C. Sherris, M. Turck. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol*. 1966, 36, 493-496. (URL: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/5325707/)

89 Barry A. L., F. Garcia, L. D. Thrupp. An improved single disc method for testing the antibiotic susceptibility of rapidly-growing pathogens. *Amer. J. Clin. Pathol*. 1970, 53, 149-158. (doi: 10.1093/ajcp/53.2.149.)

90 Clinical Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; Approved standard-9th ed. CLSI document M2-A9. 26:1. Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA. 2006. (URL: https://www.scirp.org/reference/referencespapers?referenceid=1168527)

91 Jorgensen J. H., J. D. Turnidge. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods, p. 1152–1172. In P. R. Murray, E. J. Baron, J. H. Jorgensen, M. L. Landry, M. A. Pfaller (ed.). *Manual of clinical microbiology*. 9th ed. ASM Press, Washington, 2007.

92 Grimont P. A. D., Weill F. X. Antigenic Formulae of the Salmonella Serovars. 9th Edn, Geneva: *World Health Organization*, 2007. (URL: https://www.pasteur.fr/sites/default/files/veng_0.pdf)

93 Alikhan N.F., Zhou Z., Sergeant M.J., Achtman M. A. Genomic Overview of the Population Structure of Salmonella. *PLoS Genet*. 2018, 14, e1007261. (doi: 10.1371/journal.pgen.1007261.)

94 Chattopadhyay S., Paul S., Kisiela D.I., Linardopoulou E.V., Sokurenko E.V. Convergent Molecular Evolution of Genomic Cores in Salmonella enterica and Escherichia coli. *J. Bacteriol*. 2012, 194, 5002–5011. (doi: 10.1128/JB.00552-12.)

95 Wattiau P., Boland C., Bertra S. Methodologies for Salmonella enterica subsp. enterica subtyping: gold standards and alternatives. *Appl. Environ. Microbiol*. 2011, 77, 7877–7885. (doi: 10.1128/AEM.05527-11.)

96 Herrera-Leon S., Ramiro R., Arroyo M., Diez R., Usera M. A., Echeita M. A. Blind comparison of traditional serotyping with three multiplex PCRs for the identification of Salmonella serotypes. *Res. Microbiol*. 2007, 158, 122–127. (doi: 10.1016/j.resmic.2006.09.009.)

97 McQuiston J. R., Waters R. J., Dinsmore B. A., Mikoleit M. L., Fields P. I. Molecular determination of H antigens of Salmonella by use of a microsphere-based liquid array. *J. Clin. Microbiol*. 2011, 49, 565–573. (doi: 10.1128/JCM.01323-10)

98 Peterson G., Gerdes B., Berges J., Nagaraja T. G., Frye J. G., Boyle D. S., et al. Development of microarray and multiplex polymerase chain reaction assays for identification of serovars and virulence genes in Salmonella enterica of human or animal origin. *J. Vet. Diagn. Invest*. 2010, 22, 559–569. (doi: 10.1177/104063871002200410.)

99 Achtman M., Wain J., Weill F.X., Nair S., Zhou Z., Sangal V., Krauland M.G., Hale J.L., Harbottle H., Uesbeck A. Multilocus Sequence Typing as a Replacement for Serotyping in *Salmonella* enterica. PLoS Pathog. 2012, 8, e1002776. (doi: 10.1371/journal.ppat.1002776.)

100 Mather A.E., Reid S.W.J., Maskell D.J., Parkhill J., Fookes M.C., Harris S.R., Brown D.J., Coia J.E., Mulvey M.R., Gilmour M.W., et al. Distinguishable Epidemics of Multidrug-Resistant Salmonella Typhimurium DT104 in Different Hosts. *Science*. 2013, 341, 1514–1517. (doi: 10.1126/science.1240578.)

101 Scaltriti E., Sassera D., Comandatore F., Morganti M., Mandalari C., Gaiarsa S., Bandi C., Zehender G., Bolzoni L., Casadei G., et al. Differential Single Nucleotide Polymorphism-Based Analysis of an Outbreak Caused by Salmonella enterica Serovar Manhattan Reveals Epidemiological Details Missed by Standard Pulsed-Field Gel Electrophoresis. *J. Clin. Microbiol*. 2015, 53, 1227–1238. (doi: 10.1128/JCM.02930-14.)

102 Taylor A.J., Lappi V., Wolfgang W.J., Lapierre P., Palumbo M.J., Medus C., Boxrud D. Characterization of Foodborne Outbreaks of Salmonella enterica Serovar Enteritidis with Whole-Genome Sequencing Single Nucleotide Polymorphism-Based Analysis for Surveillance and Outbreak Detection. J. *Clin. Microbiol*. 2015, 53, 3334–3340. (doi: 10.1128/JCM.01280-15.)

103 Imanian B., Donaghy J., Jackson T., Gummalla S., Ganesan B., Baker R.C., Henderson M., Butler E.K., Hong Y., Ring B., et al. The Power, Potential, Benefits, and Challenges of Implementing High-Throughput Sequencing in Food Safety Systems. *NPJ Sci. Food.* 2022, 6, 35. (doi: 10.1038/s41538-022-00150-6.)

104 Yachison C.A., Yoshida C., Robertson J., Nash J.H.E., Kruczkiewicz P., Taboada E.N., Walker M., Reimer A., Christianson S., Nichani A., et al. The Validation and Implications of Using Whole Genome Sequencing as a Replacement for Traditional Serotyping for a National Salmonella Reference Laboratory. *Front. Microbiol.* 2017, 8, 1044. (doi: 10.3389/fmicb.2017.01044.)

105 Banerji S., Simon S., Tille A., Fruth A., Flieger A. Genome-Based Salmonella Serotyping as the New Gold Standard. *Sci. Rep*. 2020, 10, 4333. (doi: 10.1038/s41598-020-61254-1.)

106 EFSA Panel on Biological Hazards (EFSA BIOHAZ Panel) Koutsoumanis K., Allende A., Alvarez-Ordóñez A., Bolton D., Bover-Cid S., Chemaly M., Davies R., De Cesare A., Hilbert F., et al. Whole Genome Sequencing and Metagenomics for Outbreak Investigation, Source Attribution and Risk Assessment of Food-Borne Microorganisms. *EFSA J*. 2019, 17, e05898. (doi: 10.2903/j.efsa.2019.5898.)

107 Zhao X., Hu M., Zhang Q., Zhao C., Zhang Y., Li L., Qi J., Luo Y., Zhou D., Liu Y. Characterization of integrons and antimicrobial resistance in Salmonella from broilers in Shandong, China. *Poult. Sci*. 2020, 99, 7046–7054. (doi: 10.1016/j.psj.2020.09.071)

108 Krueger A.L., Greene S.A., Barzilay E.J., Henao O., Vugia D., Hanna S., et al. Clinical outcomes of nalidixic acid, ceftriaxone, multidrug-resistant nontyphoidal salmonella infections compared with pansusceptible infections in FoodNet sites, 2006-2008. *Foodborne Pathog Dis*. 2014, 11, 335–41. (doi: 10.1089/fpd.2013.1642.)

109 Adley C. C., Ryan M. P. The nature and extent of foodborne disease. In: Barros-Velázquez J., editor. Antimicrobial Food Packaging. *Academic Press.* 2016:1–10. (doi: 10.1016/B978-0-12-800723-5.00001-2)

110 Mead P., Slutsker L., Dietz V., et al. Food-related illness and death in the United States. *Emerg Infect Dis. 1999*, vol. 5, 607-25. (doi: 10.3201/eid0505.990502.)

111 Hew C. M., Hajmeer M. N., Farver T. B., Glover J. M., Cliver D. O. Survival of Salmonella and Escherichia coli O157:H7 in chorizos. *Journal of Food Protection*. 2005, 68(10):2039–2046. (doi: 10.4315/0362-028x-68.10.2039.)

112 Aljarallah K. M., Adams M. R. Mechanisms of heat inactivation in *Salmonella* serotype Typhimurium as affected by low water activity at different temperatures. *Journal of Applied Microbiology*. 2007, 102(1):153–160. (doi: 10.1111/j.1365-2672.2006.03054.x.)

113 Gibson B. The effect of high sugar concentrations on the heat resistance of vegetative micro-organisms. *Journal of Applied Bacteriology*. 1973, 36(3):365–376. (doi: 10.1111/j.1365-2672.1973.tb04118.x.)

114 Semenov A.M., Kuprianov A.A., van Bruggen, A.H.C. Transfer of enteric pathogens to successive habitats as part of microbial cycles. *Microb Ecol*. 2010, 60: 239– 249. (doi: 10.1007/s00248-010-9663-0.)

115 Fornefeld E., Schierstaedt J., Jechalke S., Grosch R., Schikora A., Smalla K. Persistence of *Salmonella Typhimurium* LT2 in soil enhanced after growth in lettuce medium. *Front Microbiol*. 2017, 8: 757. (doi: 10.3389/fmicb.2017.00757)

116 Schierstaedt J., Jechalke S., Nesme J., Neuhaus K., Sørensen S. J., Grosch R., Schikora A. Salmonella persistence in soil depends on reciprocal interactions with indigenous microorganisms. *Environmental Microbiology*, 2020 (doi:10.1111/1462-2920.14972.)

117 Koukkidis G., Freestone P. Salmonella contamination of fresh salad produce: prevalence, impact and reduction strategies. *J Hortic Sci Crop Res.* 2018, 1: 1– 7. (https://www.annexpublishers.com/articles/JHSCR/1102-Salmonella-Contamination-of-Fresh-Salad-Produce-Prevalence-Impact-and-Reduction-Strategies.pdf)

118 Silva J., Leite D., Fernandes M., Mena C., Gibbs P.A., Teixeira P. 2011. Campylobacter spp. as a foodborne pathogen: a review. *Frontiers in Microbiology*. 2. (doi: 10.3389/fmicb.2011.00200)

119 Pui C.F., Wong W.C., Chai L.C., Nillian E., Ghazali F.M., Cheah Y.K., Nakaguchi Y., Nishibuchi M., Radu S. Simultaneous detection of *Salmonella* spp., *Salmonella Typhi* and *Salmonella Typhimurium* in sliced fruits using multiplex PCR. *Food Control*. 2011, 22:337–342. (https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.05.021)

120 Podolak R., Enache E., Stone W., Black D.G., Elliott P.H. Sources and risk factors for contamination, survival, persistence, and heat resistance of Salmonella in low-moisture foods. *J. Food Prot*. 2010, 73, 1919–1936. (doi: 10.4315/0362-028x-73.10.1919)

121 Kozak G., MacDonald D., Landry L., Farber J. Foodborne outbreaks in Canada linked to produce: 2001 through 2009. *J. Food Prot.* 2013, 76, 173–183. (doi: 10.4315/0362-028X.JFP-12-126)

122 Burnett S., Gehm E., Weissinger W., Beuchat L. Survival of Salmonella in peanut butter and peanut butter spread. *J. Appl. Microbiol*. 2000, 89, 472–477. (doi: 10.1046/j.1365-2672.2000.01138.x)

123 Ray B., Jezeski J., Busta F. Isolation of Salmonellae from naturally contaminated dried milk products: Ii. Influence of storage time on the isolation of Salmonellae. *J. Milk Food Technol*. 1971, 34, 423–427. (doi:10.4315/0022-2747-34.9.423)

124 Kotzekidou P. Microbial stability and fate of *Salmonella Enteritidis* in halva, a low-moisture confection. *J. Food Prot.* 1998, 61, 181–185. (doi: 10.4315/0362-028x-61.2.181)

125 Tamminga S., Beumer R., Kampelmacher E., Van Leusden F. Survival of *Salmonella* east bourne and *Salmonella typhimurium* in chocolate. *Epidemiol. Infect*. 1976, 76, 41–47. (doi: 10.1017/s0022172400054929)

126 Ray B., Jezeski J., Busta F. Isolation of Salmonellae from naturally contaminated dried milk products: Iii. Influence of pre-enrichment conditions. *J. Milk Food Technol*. 1972, 35, 607–614.

127 Rayman M., D'AOUST J.-Y., Aris B., Maishment C., Wasik R. Survival of microorganisms in stored pasta. *J. Food Prot*. 1979, 42, 330–334. (doi: 10.4315/0362-028X-42.4.330)

128 De Jong B., Ekdahl K. The comparative burden of salmonellosis in the European Union member states, associated and candidate countries. *Bmc Public Health*. 2006, 6, 1–9. (doi: 10.1186/1471-2458-6-4)

129 Munck N., Smith J., Bates J., Glass K., Hald T., Kirk M.D. Source attribution of Salmonella in Macadamia nuts to animal and environmental reservoirs in Queensland, Australia. *Foodborne Pathog. Dis*. 2020, 17, 357–364. (doi: 10.1089/fpd.2019.2706)

130 PFMA.org.uk. *Pet Population 2019*. Available online: (https://www.pfma.org.uk/pet-population-2019) (accessed on 14 March 2020).

131 Finlay F., Furnell C., Ridley P. *Salmonella* in pets the risk to children. *Community Pract*. 2015, 88, 27–29. (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26373020/)

132 Bjelland A.M., Sandvik L.M., Skarstein M.M., Svendal L., Debenham J.J. Prevalence of Salmonella serovars isolated from reptiles in Norwegian zoos. *Acta Vet. Scand*. 2020, 62, 1–9. (doi: 10.1186/s13028-020-0502-0)

133 Ehuwa O., Jaiswal A. K., Jaiswal S. Salmonella, Food Safety and Food Handling Practices. *Foods*. 2021, 10(5), 907. (doi:10.3390/foods10050907)

134 Obukhovska O. The natural reservoirs of *Salmonella Enteritidis* in populations of wild birds. *Online J. Public Health Inf.* 2013, 5. (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3692822/)

135 Gillespie I.A., O'Brien S.J., Adak G.K., Ward L.R., Smith H.R. Foodborne general outbreaks of Salmonella Enteritidis phage type 4 infection, England and Wales, 1992–2002: where are the risks? *Epidemiology and Infection.* 2005, 133:759–801. (https://doi.org/10.1017/S0950268805003742)

136 Barrow P.A., Huggins M.B., Lovell M.A., Simpson J.M. Observations on the pathogenesis of experimental Salmonella typhimurium infection in chickens. *Res Vet Sci*. 1987, 42:194–9. (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3296063/)

137 Turnbull P.C.B., Snoeyenbos G.H. Experimental salmonellosis in the chicken. 1. Fate and host response in the alimentary canal, liver, and spleen. *Avian Dis*. 1974, 18:153–77. (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4597563/)

138 Brune K., Leffel M.S., Spitznagel J.K. Microbicidal activity of peroxidaseless chicken heterophile leukocytes. *Infect Immun.* 1972, 5:283–7. (doi: 10.1128/iai.5.3.283-287.1972)

139 Stabler J.G., McCormick T.W., Powell K.C., Kogut M.H. Avian heterophils and monocytes: phagocytic and bactericidal activities against Salmonella enteritidis. *Vet Microbiol*. 1994, 38:293–305. (doi: 10.1016/0378-1135(94)90148-1)

140 Thiagarajan D., Saeed A.M., Asem E.K. Mechanism of transovarian transmission of *Salmonella enteritidis* in laying hens. *Poult Sci*. 1994, 73:89–98. (doi: 10.3382/ps.0730089)

141 Holt P.S. Horizontal transmission of Salmonella enteritidis in molted and unmolted laying chickens. *Avian Dis.* 1995, 39:239–49. (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7677644/)

142 Ricke S.C. The gastrointestinal tract ecology of *Salmonella Enteritidis* colonization in molting hens. *Poult Sci*. 2003, 82:1003–7. (doi: 10.1093/ps/82.6.1003)

143 Woodward C.L., Kwon Y.M., Kubena L.F., Byrd J.A., Moore R.W., Nisbet D.J. Reduction of Salmonella enterica serovar Enteritidis colonization and invasion by an alfalfa during molt in leghorn hens. *Poult Sci.* 2005, 84:185–93. (doi: 10.1093/ps/84.2.185)

144 Durant J.A., Corrier D.E., Byrd J.A., Stanker L.H., Ricke S.C. Feed deprivation affects crop environment and modulates *Salmonella Enteritidis* colonization and invasion of leghorn hens. *Appl Environ Microbiol.* 1999, 65:1919–23. (doi: 10.1128/aem.65.5.1919-1923.1999)

145 Dunkley K.D., McReynolds J.L., Hume M.E., Dunkley C.S., Callaway T.R., Kubena L.F., et al. Molting in Salmonella Enteritidis-challenged laying hens fed alfalfa crumbles. I. Salmonella Enteritidis colonization and virulence gene hilA response. *Poult Sci*. 2007, 86:1633–9. (doi: 10.1093/ps/86.8.1633)

146 Mizumoto N., Sasai K., Tani H., Baba E. Specific adhesion and invasion of Salmonella Enteritidis in the vagina of laying hens. *Vet Microbiol.* 2005, 111:99–105. (doi: 10.1016/j.vetmic.2005.09.006)

147 Dunkley K.D., Callaway T.R., Chalova V.I., McReynolds J.L., M.E. Hume, C.S. Dunkley, Kubena L.F., Nisbet D.J., Ricke S.C. Foodborne *Salmonella* ecology in the avian gastrointestinal tract. *Anaerobe*. 2009, 15 (1). P. 26-35. (https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2008.05.007)

148 Lucas R.L., Lee C.A. Unraveling the mysteries of virulence gene regulation in *Salmonella typhimurium. Mol Microbiol.* 2000, 36:1024–33. (doi: 10.1046/j.1365-2958.2000.01961.x)

149 Parry S.M., Palmer S.R., Slader J., Humphrey T., The South East Wales Infectious Disease Liaison Group. Risk factors for salmonella food poisoning in the domestic kitchenda case control study. *Epidemiol Infect*. 2002, 129:277–85. (doi: 10.1017/s0950268802007331)

150 Hashemzadeh Z., Karimi M. A. T., Rahimi S., Razban V., Zahraei T. S. Prevention of *Salmonella* colonization in neonatal broiler chicks by using different routes of probiotic administration in hatchery evaluated by culture and PCR techniques. *J. Agric. Sci. Tech.* 2010, 12, 425–432. (https://www.researchgate.net/publication/266880823_Prevention_of_*Salmonella*_Colonization_in_Neonatal_Broiler_Chicks_by_Using_Different_Routes_of_Probiotic_Administration_in_Hatchery_Evaluated_by_Culture_and_PCR_Techniques)

151 Foye O. T., Black B. L. Intestinal adaptation to diet in the young domestic and wild turkey (Meleagris gallopavo). *Comp. Biochem. Physiol. A Mol. Integr. Physiol*. 2006, 143, 184–192. (doi: 10.1016/j.cbpa.2005.11.017)

152 Lu J. et al. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. *Appl. Environ. Microbiol*. 2003, 69, 6816–6824. (doi: 10.1128/AEM.69.11.6816-6824.2003)

153 Li S., He Y., Mann D.A., et al. Global spread of *Salmonella enteritidis* via centralized sourcing and international trade of poultry breeding stocks. *Nat Commun*. 2021, 12:1–12. (doi: 10.1038/s41467-021-25319-7)

154 Wessels K., Rip D., Gouws P. Salmonella in chicken meat: consumption, outbreaks, characteristics, current control methods and the potential of bacteriophage use. *Foods*. 2021, 10:1742. (doi: 10.3390/foods10081742)

155 Ruvalcaba-Gómez J. M., Villagrán Z., Valdez-Alarcón J. J., Martínez-Núñez M., Gomez-Godínez L. J., Ruesga-Gutiérrez E., et al. Non-antibiotics strategies to control Salmonella infection in poultry. *Animals*. 2022, 12:102. (doi: 10.3390/ani12010102)

156 Thames H. T., Sukumaran A. T. (2020). A review of salmonella and campylobacter in broiler meat: emerging challenges and food safety measures. *Foods*. 2020, 9:776. (doi: 10.3390/foods9060776)

157 Srinivasan P., Balasubramaniam G. A., Gopala T. R., Murthy K., Saravanan S., Balachandran P. Prevalence and pathology of salmonellosis in commercial layer chicken from Namakkal, India. *Pak. Vet. J.* 2014, 34, 324–328. (https://www.researchgate.net/publication/281752071_Prevalence_and_Pathology_of_Salmonellosis_in_Commercial_Layer_Chicken_from_Namakkal_India)

158 EFSA and ECDC. The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2019–2020. *EFSA J*. 2022, 20:e07209. (doi: 10.2903/j.efsa.2022.7209)

159 Об утверждении Ветеринарных (ветеринарно-санитарных) правил. Приказ МСХ РК от 29.06.2015 г. № 7-1/587.

160 Joint FAO/WHO *Expert Meeting on the pre- and post-harvest control of Campylobacter spp. in poultry meat.* (URL: https://www.who.int/) (дата обращения: 06.09.2023)

IRSTI: 62.09.39

K.G. MUSTAFIN[1], N.A. BISKO[2], Zh.B. SULEIMENOVA[3,1*], A.S. ZHAKIPBEKOVA[1], Zh.B. NARMURATOVA[4], G.K. ZHUMAGALIEVA[1], A.K. KALIEVA[5], G.B. ADMANOVA[5]
[1]Scientific-Production Enterprise «Antigen», Almaty, Kazakhstan
[2]N.G. Kholodny Institute of Botany, Kiev, Ukraine
[3]Research and Production Center for Microbiology and Virology, Almaty, Kazakhstan
[4]Kazakh National Technical Research University named after K. Satbayev, Almaty, Kazakhstan
[5]K. Zhubanov Aktobe Regional University, Aktobe, Kazakhstan
*e-mail: msyban@mail.ru

BASIDIOMYCETES - POTENTIAL BIOCONTROL AGENTS

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.05

Abstract

In agriculture, there is an urgent need for environmentally friendly biological products to control plant diseases. In this regard, macromycetes are of great interest because they play an important role in natural ecosystems due to their versatility in nutrition and various interactions with plants. Basidiomycetes are a rich source of various biologically active substances. The secondary metabolites of Basidial fungi have antimicrobial, antitumor and antioxidant properties. This review is devoted to the potential role of basidiomycetes as a basis for the creation of new promising environmentally friendly phytotoxic and phytostimulating biopreparations to control plant diseases and weeds.

Keywords: higher fungi, biopesticides, phytotoxicity, phytostimulation.

In the process of increasing crop yields, all chemicals such as herbicides, insecticides, fungicides as well as fertilizers and soil additives are now used more widely than in the past [1]. The continuous use of synthetic chemicals led to resistance to pesticides, toxicity to humans, plants and animals, and therefore they are considered as environmentally hazardous [2]. In this regard, it is necessary to use environmentally friendly plant protection products, which contributes to the sustainable development of agricultural production with minimal damage to the environment [3].

For a long time, farmers used technologies to make their crop fields more ecologically homogeneous in order to increase yields, including tillage, controlled irrigation, and the application of fertilizers and pesticides. Over the past 100 years, large-scale mechanization of sowing and harvesting has further increased the environmental homogeneity present in agroecosystems [4, 5]. The homogeneous genetic and physical environment of agroecosystems has created a selective environment that favors the emergence of new, crop pathogens that evolve faster and are more virulent than their "wild" ancestors are. The increased planting density and genetic homogeneity of host populations in such agroecosystems facilitate the transmission of the pathogen compared to natural ecosystems, which contributes to an increase in the virulence of the pathogen [6]. These factors also increase the size of the pathogen population, ensuring their greater genetic diversity by increasing the total number of mutations [7].

Thus, the variety of pests and pathogens is constantly growing, and over time, new strains - pathogens of diseases of agricultural crops constantly appear [8]. In this regard, scientists around the world are looking for alternative safe and effective ways to control plant pathogens and pests. In this regard, basidiomycetes are of great interest due to their wide range of medicinal properties, easy availability and non-toxicity for non-target organisms [9].

Currently, among 140,000 species of basidiomycetes about 660 have medicinal properties [10]. They produce substances of different chemical structures, including alkaloids, terpenoids, phenolic compounds, flavonoids and many others, which have many valuable properties [11].

According to their classification, basidiomycetes are a class of higher fungi with a well-developed multicellular mycelium. Some compounds were isolated from wild-growing basidiomycetes that inhibited the growth of bacteria, viruses, and fungi (Table 1), and also showed nematocidal and insecticidal properties [12-25].

Table 1 - Active compounds isolated from different types of basidiomycetes

Fungal strain	Active compounds	Pathogen
Ganoderma lucidum	Ganodermin	*Physalospora piricola; Botytis cinerea*
Pleurotus ostreatus	Pleurostrin	*Botryosphaeria berengeriana*
Pleurotus eryngii	Eryngin	*Mycosphaerella arachidicola*
Lyophyllum shimeji	Antifungal protein mLAP	*Physalospora piricola*
Lyophyllum shimeji	Lyophyllin	*Physalospora piricola*
Albatrellus dispansus	Grifoline	*Alternaria alternate*; *Pyricularia oryzae*; *Rhizoctonia solani*; *Sclerotina sclerotiorum*; *Fusarium graminearum; Botytis cinerea; Gaeumannomyces graminis*; *Gloesporium fructigenum*
Hypsizigus marmoreus	Hypsin	*Botryosphaeria berengeriana*; *Botytis cinerea*; *Mycosphaerella arachidicola*

Fungal plant diseases

Fungi can cause serious damage to plants because of the spores which provide copious inoculums which may infect other plants. The time between infection and the production of further infectious spores may be only a few days [26]. Spores, if wettable, can spread as a high density inoculum with water [27]. Moreover, spores can produce phytotoxic compounds [28].

Thus, *Colletotrichum* phytopathogens cause anthracnose and root rot of various crops, such as strawberries, gooseberries, etc. [29, 30]. Significant differences occur in crop and host range with some strains capable of infecting many host plant species while othersare limited to a single species [31, 32]. Rice, which is the main crop in the economy of many countries, is affected by ascomycetes *Pyricularia oryzae, Magnaporthe grisea*, causing blast, which leads to 10-30% annual yield loss [33]. Other grass species are also affected by *P. oryzae, Eleusine coracana*, or similar species [34, 35].

Some fungi produce mycotoxins. For example, fumonisin toxins have been found for the first time in South Africa. They were isolated from *Gibberella fujikuroi* and *Fusarium moniliforme* grown on corn, and the most active compound was designated as fumonisin B1 (FB1) [36]. FB1 is an analogue of sphinganine, which inhibits the synthesis of sphingolipids in both plant and animal cells, causing the accumulation of sphingoid bases [37].

Basidial fungi as potential biocontrol agents

Activity of higher fungi against phytopathogenic fungi

The antifungal drug grifolin, isolated from the basidial fungus *Albatrellus dispansus*, proved to be effective against a number of phytopathogenic fungi *in vitro* [38]. Phellinsin A isolated from *Phellinus sp.* inhibits *Gloeosporium orbiculare, Pyricularia grisea, Thanatephorus cucumeris, Aspergillus fumigatus*, and *Trichophyton mentagrophytes* [39]. The main fungicides commonly used in agrochemistry were obtained from *Strobilurus tenacellus* [40]. Strobilurins are a class of fungicidal compounds that are extracted from the mycelium of *S. tenacellus* (Figure 1). Strobilurins A (Figure 1, a) and B (Figure 1, b), have a high fungicidal activity and inhibit the respiration of yeast and other filamentous fungi [41].

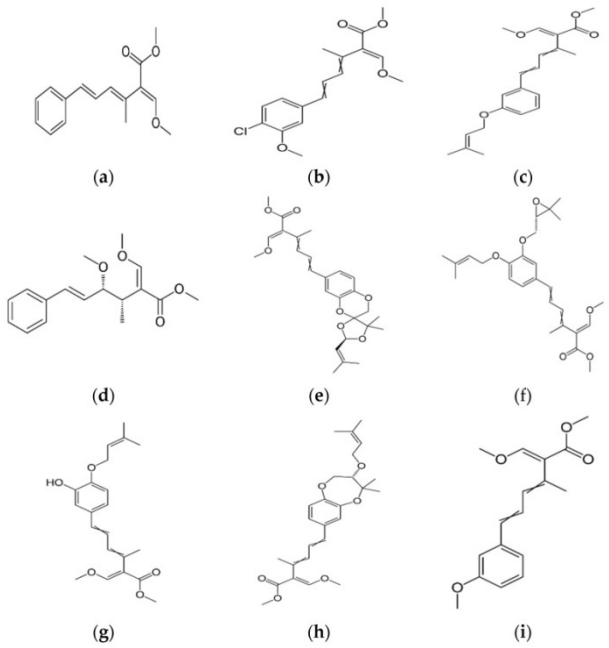


Figure 1 – Strobilurins of higher fungi ((a) - Strobilurin A; (b) - Strobilurin B; (c) -Strobilurin C; (d) - Oudemansin B; (e) - Strobilurin E; (f) - Strobilurin D; (g, h) - Strobilurin F; (i) - Strobilurin H)

Strobilurins are considered to be the most significant group of fungicides that can be classified as biofungicides due to broad spectrum of activity and environmental safety. Strobilurins are site-specific (inhibition of mitochondrial respiration) and translaminar (systemic) compounds that provide biological control of *Oomycota*, *Ascomycota*, *Basidiomycota* and *Deuteromycota* fungi. (E)-β-methoxyacrylates of strobilurin C (Figure 1, c) and oudemansin B (Figure 1, d) isolated from *Xerula pudens* inhibit many species of phytopathogenic fungi. Like strobilurins A and B, they also inhibit fungal respiration [42]. Strobilurin E (Figure 1, e) is another antifungal compound of the (E)-β-methoxyacrylate class, extracted from *Crepidotus fulvotomentosus*. It was found that in addition to inhibiting fungal respiration it has been shown to induce cell deformation [43]. Strobilurin D (Figure 1, f) is strobilurin extracted from the basidial fungus *Merismodes anomala*; they contain cytostatic and antifungal antibiotics of the (E)-β-methoxyacrylate class. These strobilurins inhibit many fungi and, like strobilurins A and B, and also provid inhibition of mitochondrial respiration [43, 44]. Other strobilurins F (Figure 1, g, h) and H (Figure 1, i) obtained from the culture liquid of *Bolinea lutea* inhibited *Aspergillus fumigatus, Botrytis cinerea, Microsporum canis* and *Sporothrix schenckii*. These compounds also inhibited respiration mushrooms.

Ganodemin isolated from *G. lucidum* inhibited the growth of phytopathogenic fungi *Botrytis cinerea, F. oxyporum* and *Peyronellaea arachidicolla* [1]. Pleurostrin, an antifungal peptide about half the size of ganodermin, isolated from the oyster mushroom *P. ostreatus*, had an inhibitory effect on *Fusaerium oxysporum, Mycosphaerella arachidicola*, and *Physalospora piricola* [45].

Activity of higher fungi against phytopathogenic bacteria

Secondary metabolites isolated from various basidiomycetes exhibit antibacterial properties [46–49]. *Ganodermatales, Poriales, Agaricales*, and *Stereales* fungi demonstrate antibacterial activity against various pathogenic bacteria and can become the basis for the development of new antibiotics [50]. It was found that 15 extracts of *Basidiomycetes* have moderate to high antibacterial activity. Among them 11 completely inhibited bacterial growth, and 4 showed partial inhibition of potato bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* [51].

Clytocybe geotropa extract showed a wide range of inhibition against *R. solanacearum, Erwinia carotovora subsp. Carotovora, P. syringae pv. syringae, X. campestris pv. vesicatoria*

and *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* (causative agent of potato ring rot). The purified clitocypin protein from *C. geotropa* was found to inhibit the disease caused by *Clavibacter michiganensis* [52]. The fungicide strobilurin F 500 increases the resistance of tobacco to the causative agent of *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* [53]. Coprinol isolated from *Coprinus sp.* showed inhibitory activity against most phytopathogens [54].

Activity of higher fungi against phytopathogenic viruses

Compounds derived from higher fungi with activity against phytopathogenic viruses can be divided into two main classes: biological response modifiers and virus inhibitors [55]. The influence of basidiomycete polysaccharides was studied in human and animal viruses [56]. It was found that strains of *Ganoderma lucidum* and *G. applanatum* are able to inhibit tobacco mosaic virus with concentration of 1000 μg/mL [57]. The filtrate from the culture liquid of the tinder fungus *Fomes fomentarius* is effective against tobacco mosaic virus [58]. Aqueous extracts of the fruiting bodies of *Agaricus brasiliensis* and *Lentinula edodes* also showed antiviral activity against tobacco mosaic virus [59].

Activity of higher fungi against nematodes

More than 4100 nematode species have a negative impact on economically important crops. Damage caused by plant nematodes is estimated at 12.3% (US$157 billion) worldwide [60]. The full degree of nematode infestation cannot be fully assesed since symptoms of disease caused by nematodes can be difficult to detect [61, 62]. Researchers around the world are showing increasing interest in reducing the use of chemicals against nemadodes [63-65]. A recent study showed that some species of edible basidiomycetes, such as *Pleurotus* species, have nematocidal activity due to the production of a toxin capable to inhibit the movement of nematodes [66]. Such biological activity may be the result of the self-protection mechanism of fungi, which acts against nematodes-myceliophages [67]. Other studies show that *P. ostreatus* produces a peroxide-like toxin that inhibits the movement of nematodes and subsequently destroys them, reaching 95% mortality in free-living nematodes *Panagrellus redivivus* (adults) and phytopathogenic nematodes *Bursaphelenchus xylophilus* [68]. Another study showed that *P. eryngii* causes 50% mortality from the phytopathogenic nematode *Heterodera schantii*, which caused wilting in sugarcane and other crops. In general, the nematicidal activity exhibited by different strains of *P. eryngii* ranged from 4.8–99.6%.

The nematocidal effect of basidiomycetes is affected by temperature, strain's genetic characteristics, and specific differences between nematodes [69]. Some dead nematode larvae were found to have fungal mycelium inside the body, suggested that the death of the larvae was a consequence of fungal mycelium invasion. Thus, *Coprinus comatus* exhibited nematicidal effects against free-living nematodes *Panagrellus redivivus* and root-knot nematodes *Meloidogyne arenaria* [70]. Mechanical damage to the free-living nematode *P. redivivus* was detected 8 hours after infection by *C. comatus* mycelium, which led to the immobilization of 90% of the nematodes and their subsequent death after incubation at 24°C. Strains of edible basidiomycetes *Pleurotus ostreatus* ECS-1123 and ECS-0152, *P. eryngii* ECS-1290 and ECS-1291, *P. cornucopiae* ECS-1328 and ECS-1330, *Lentinula edodes* ECS-0401 also have high nematocidal activity (from 82% up to 99% mortality) [65]. Moreover, it was reported the potential use of bioactive compounds from luminescent Basidiomycete *Neonothopanus nambi* for plant parasitic root-knot nematode *Meloidogyne incognita* control. Fungal concentration of 500 mg/l is highly toxic to *M. incognita* (100% mortality within 30 minutes) [71].

Fatty acids such as S-coriolic acid or linoleic acids isolated from *Pleurotus pulmonarius* showed nematocidal activity against the saprophytic nematode *Caenorhabditis elegans* [72]. The nematocidal monoterpene 1,2-dihydroxymint lactone, isolated from *Cheimonophyllum candidissimum*, showed a nematocidal effect against the free-living soil nematode *Caenorhabditis elegans* and a herbicidal effect against *Setaria italica* and *Lepidium sativum* [73].

New sesquiterpenes cheimonophyllons and chemonophilals (cheimonophyllons and cheimonophyllal) were isolated from the wood-destroying basidiomycete *Cheimonophyllum candidissimum* and exhibited nematocidal activity against the soil nematode *C. elegans* [74]. The

furaldehydes 5-pentyl-2-furaldehyde and 5(4-pentenyl)-2-furaldehyde, isolated from *Irpex lacteus*, which causes white wood rot, exhibited nematicidal activity against the rice leaf nematode *Aphelencoides besseyi* [75]. The nematocidal cyclic peptide omfalotin isolated from the *Omphalotus olearius* fungal biomass and 1-hydroxypyrene obtained from *Crinipellis stipitaria* showed strong nematicidal activity against *C. elegans* [76]. The culture liquid filtrates of the basidiomycetes *Amauroderma macer, Laccaria tortilis*, and *Tylopilus striatulus* exhibited high nematicidal activity against the pine nematode *Bursaphelenchus xylophilus* [77].

Thus, due to the presence of compounds with different biological activity Basidiomycetes are considered as an attractive source for the biotechnological application in plant protection. The searching for new producers which synthesize a complex of bioactive substances with antimicrobial, antioxidant, phytotoxic and phytostimulating properties to control plant diseases and weeds is an extremely urgent problem of great scientific, practical and social importance. In this regard, pure cultures of macromycetes as producers of various compounds with a different spectrum of action can become a promising source of new biological products for plant protection.

Funding

The research was carried out with the financial support of the Scientific Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan (grant №AP AP19674676).

References:

1 Sivanandhan S., Khusro A., Paulraj M.G., Ignacimuthu S., AL-Dhabi N.A. *Biocontrol Properties of Basidiomycetes: An Overview*. J Fungi (Basel), 2017, 3(1): 2. (doi: 10.3390/jof3010002)

2 Bhattacharjee R., Dey U. *An overview of fungal and bacterial biopesticides to control plant pathogens/diseases*. Afr. J. Microbiol. Res, 2014, 8: 1749–1762. (DOI: 10.5897/AJMR2013.6356)

3 Gillespie A. *Conservation, Biodiversity and International Law. Edward Elgar Publishing.* Chelteham, New Zealand, 2013, 1–579. (https://doi.org/10.1093/oso/9780198819516.003.0007)

4 Benton T.G., Vickery J.A., Wilson J.D. *Farmland biodiversity: is habitat heterogeneity the key*? Trends Ecol. Evol., 2003, 18: 182–188. (doi: 10.1016/S0169-5347(03)00011-9)

5 McDonald B.A., Stukenbrock E.H. *Rapid emergence of pathogens in agro-ecosystems: global threats to agricultural sustainability and food security*. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2016, 371(1709): 20160026. (doi: 10.1098/rstb.2016.0026)

6 Read A.F. The evolution of virulence. Trends Microbiol, 2016, 2: 73–76. (doi: 10.1016/0966-842X(94)90537-1)

7 Stukenbrock E.H., Bataillon T., Dutheil J.Y., Hansen T.T., Li R., Zala M., McDonald B.A., Wang J., Schierup M.H. *The making of a new pathogen: insights from comparative population genomics of the domesticated wheat pathogen Mycosphaerella graminicola and its wild sister species.* Genome Res., 2011, 21: 2157–2166. (doi: 10.1101/gr.118851.110)

8 Gilbert G.S., Parker I.M. *Rapid evolution in a plant-pathogen interaction and the consequences for introduced host species*. Evol Appl., 2010, 3(2): 144-56. (doi: 10.1111/j.1752-4571.2009.00107.x)

9 Jo W.S., Hossain M.A., Park S.C. *Toxicological profiles of poisonous, edible, and medicinal mushrooms.* Mycobiology, 2014, 42: 215–220. (doi: 10.5941/MYCO.2014.42.3.215)

10 Wasser S.P. A Book Review: *The Fungal Pharmacy: Medicinal Mushrooms of Western Canada*. Int. J. Med. Mushrooms, 2008, 10: 97-100. (doi: 10.1615/IntJMedMushr.v10.i1.130.)

11 Wasser S.P. *Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms.* Antimicrob. Agents Chemother, 2011, 89: 1323-1332. (doi: 10.1007/s00253-010-3067-4)

12 Anke T. *Basidiomycetes: A source for new bioactive secondary metabolites.* In: Bushell ME, Gräfe H (eds) Bioactive metabolites from microorganisms. Prog. Ind. Microbiol., 1989, 27: 51-66. (https://doi.org/10.1002/jobm.3620300709)

13 Gowrie S.U., Chathurdevi G., Rani K. *Evaluation of bioactive potential of basidiocarp extracts of Ganoderma lucidum*. Int. J. Pharm. Res. Allied Sci., 2014, 3: 36-46 (https://www.researchgate.net/publication/341030087_Evaluation_of_Bioactive_Potential_of_Basidiocarp_Extracts_of_Ganoderma_lucidum)

14 Kolundžić M., Grozdanić N.Đ., Dodevska M., Milenković M., Sisto F., Miani A., Farronato G., Kundaković T. *Antibacterial and cytotoxic activities of wild mushroom Fomes fomentarius* (L.) Fr., Polyporaceae. Ind. Crops. Prod., 2016, 79: 110-115. (https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.10.030)

15 Ren L., Hemar Y., Perera C.O., Lewis G., Krissansen G.W., Buchanan P.K. *Antibacterial and antioxidant activities of aqueous extracts of eight edible mushrooms.* Bioact. Carbohydr. Diet. Fibre., 2014, 3: 41-51. (doi: 10.1016/j.bcdf.2014.01.003)

16 Santos D.N., de Souza L.L., de Oliveira C.A., Silva E.R., de Oliveira A.L. *Arginase inhibition, antibacterial and antioxidant activities of Pitanga seed (Eugenia uniflora L.) extracts from sustainable technologies of high pressure extraction.* Food Biosci., 2015, 12: 93–99. (doi: 10.1016/j.fbio.2015.09.001)

17 Wang H., Ng T. *Ganodermin, an antifungal protein from fruiting bodies of the medicinal mushroom Ganoderma lucidum*. Peptides, 2006, 27: 27-30. (doi: 10.1016/j.peptides.2005.06.009)

18 Chu K., Xia L., Ng T. *Pleurostrin, an antifungal peptide from the oyster mushroom.* Peptides, 2005; 26: 2098-2103. (doi: 10.1016/j.peptides.2005.04.010)

19 Sajeena A., Marimuthu T. *Efficacy, stability and persistence of Ganosol, a Ganoderma based fungicide against plant pathogens*. J. Plant Prot. Sci., 2013, 5: 17-25. (https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=en&user=1dJ2VRUAAAAJ&citation_for_view=1dJ2VRUAAAAJ:YsMSGLbcyi4C)

20 Lam S., Ng T. *First simultaneous isolation of a ribosome inactivating protein and an antifungal protein from a mushroom (Lyophyllum shimeji) together with evidence for synergism of their antifungal effects.* Arch. Biochem. Biophys., 2001, 393: 271-280. (doi: 10.1006/abbi.2001.2506)

21 Wang H., Ng T. *Eryngin, a novel antifungal peptide from fruiting bodies of the edible mushroom Pleurotus eryngii.* Peptides, 2004, 25: 1-5. (doi: 10.1016/j.peptides.2003.11.014.)

22 Wasser S.P., Weis A.L. *Therapeutic effects of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: A modern perspective*. Crit. Rev. Immunol., 1999, 19: 65–96. (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9987601/)

23 Faccin L.C., Benati F., Rincão V.P., Mantovani M.S., Soares S.A., Gonzaga M.L., Nozawa C., Carvalho L.R. *Antiviral activity of aqueous and ethanol extracts and of an isolated polysaccharide from Agaricus brasiliensis against poliovirus type 1*. Lett. Appl. Microbiol., 2007, 45: 24-28. (doi: 10.1111/j.1472-765X.2007.02153.x)

24 Sun H., Zhao C.G., Tong X., Qi Y.P. *A lectin with mycelia differentiation and antiphytovirus activities from the edible mushroom Agrocybe aegerita.* J. Biochem. Mol. Biol., 2003, 36: 214-222. (doi: 10.5483/BMBRep.2003.36.2.214)

25 Wang M., Triguéros V., Paquereau L., Chavant L., Fournier D. *Proteins as active compounds involved in insecticidal activity of mushroom fruitbodies.* J. Econ. Entomol., 2002, 95: 603-607. (doi: 10.1603/0022-0493-95.3.603)

26 Richard N.S. *Introduction to Plant Pathology*. John Wiley & Sons, 2006. 1-50.

27 Knogge W. *Fungal infection of plants.* Plant Cell., 1996, 8: 1711–1722. (doi: 10.1105/tpc.8.10.1711)

28 Bronson C.R. *The genetics of phytotoxin production by plant pathogenic fungi.* Experientia, 1991; 47: 771-776. (doi: 10.1007/BF01922456)

29 Shi Xin-Chi, Wang Su-Yan, Duan Xu-Chu, Wang Yao-Zhou, Liu Feng-Quan, Laborda P. *Biocontrol strategies for the management of Colletotrichum species in postharvest fruits.* Crop Prot., 2021, 141: 105454. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105454

30 Martínez-Culebras P.V., Barrio E., García M.D., Querol A. *Identification of Colletotrichum species responsible for anthracnose of strawberry based on the internal transcribed spacers of the ribosomal region*. FEMS Micr. Lett., 2000, 189: 97-101. https://doi.org/10.1016/S0378-1097(00)00260-3.

31 Hayden H.P.K., Aitken E., Irwin J. *Genetic-relationships as assessed by molecular markers and cross-infection among strains of Colletotrichum gloeosporioides*. Aust. J. Bot., 1994, 42: 9-18. (doi: 10.1071/BT9940009)

32 Talbot N.J. *On the trail of a cereal killer: Exploring the biology of Magnaporthe grisea*. Annu. Rev. Microbiol., 2003, 57: 177-202. (doi: 10.1146/annurev.micro.57.030502.090957)

33 Thinlay X., Finckh M.R., Bordeos A.C., Zeigler R.S. *Effects and possible causes of an unprecedented rice blast epidemic on the traditional farming system of Bhutan.* Agric. Ecosyst. Environ, 2000, 78: 237-248. (doi: 10.1016/S0167-8809(99)00129-2)

34 Prabhu A.S., Filippi M.C., Castro N. *Pathogenic variation among isolates of Pyricularia oryzae affecting rice, wheat, and grasses in Brazil*. Int. J. Pest Manag., 1992, 38: 367-371. (https://doi.org/10.1080/09670879209371729)

35 Hubert J., Mabagala R.B., Mamiro D.P. *Efficacy of selected plant extracts against Pyricularia grisea, causal agent of rice blast disease.* Am. J. Plant Sci., 2015, 6: 602-611. (doi: 10.4236/ajps.2015.65065)

36 Gelderblom W.C., Jaskiewicz K., Marasas W.F., Thiel P.G., Horak R.M., Vleggaar R., Kriek N.P. *Fumonisins – Novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by Fusarium moniliforme.* Appl. Environ. Microbiol, 1988, 54: 1806-1811. (https://doi.org/10.1128/aem.54.7.1806-1811.1988)

37 Madden L., Nutter J.F. *Modeling crop losses at the field scale*. Can. J. Plant Pathol. 1995, 17: 124-137. (doi: 10.1080/07060669509500703)

38 Luo D.Q., Shao H.J., Zhu H.J., Liu J.K. *Activity in vitro and in vivo against plant pathogenic fungi of grifolin isolated from the basidiomycete Albatrellus dispansus*. Z. Naturforsch. C J. Biosci., 2005, 60: 50-56. (doi: 10.1515/znc-2005-1-210)

39 Hwang E.I., Yun B.S., Kim Y.K., Kwon B.M., Kim H.G., Lee H.B., Jeong W.J., Kim S.U. *Phellinsin A, a novel chitin synthases inhibitor produced by Phellinus sp. PL3*. J. Antibiot., 2000, 53: 903-911. (doi: 10.7164/antibiotics.53.903)

40 Robles-Hernández L., Gonzalez-Franco A.C., Soto-Parra J.M., Montes-Domínguez F. *Review of agricultural and medicinal applications of basidiomycete mushrooms.* Tecnociencia Chihuah., 2008, 2: 95-107. (DOI: https://doi.org/10.54167/tch.v2i2.1387)

41 Anke T., Oberwinkler F., Steglich W., Schramm G. *The strobilurins-new antifungal antibiotics from the basidiomycete Strobilurus tenacellus*. J. Antibiot., 1977, 30: 806-810. (doi: 10.7164/antibiotics.30.806)

42 Anke T., Besl H., Mocek U., Steglich W. *Antibiotics from basidiomycetes. XVIII. Strobilurin C and Oudemansin B, two new antifungal metabolites from Xerula species (Agaricales*). J. Antibiot., 1983, 36: 661-666. (doi: 10.7164/antibiotics.36.661)

43 Weber W., Anke T., Steffan B., Steglich W. *Antibiotics from basidiomycetes. XXXII. Strobilurin E: A new cytostatic and antifungal (E)-BETA-methoxyacrylate antibiotic from Crepidotus fulvotomentosus*. Peck. J. Antibiot., 1990, 43: 207-212. (doi: 10.7164/antibiotics.43.207)

44 Imtiaj A., Jayasinghe C., Lee G.W., Lee T.S. *Antibacterial and antifungal activities of Stereum ostrea, an inedible wild mushroom.* Mycobiology, 2007, 35: 210-214. (doi: 10.4489/MYCO.2007.35.4.210)

45 Chu K.T., Xia L., Ng T.B. *Pleurostrin, an antifungal peptide from the oyster mushroom.* Peptides, 2005, 26(11): 2098-2103. https://doi.org/10.1016/j.peptides.2005.04.010.

46 Wang Y., Bao L., Yang X., Li L., Li S., Gao H., Yao X.S., Wen H., Liu H.W. Bioactive sesquiterpenoids from the solid culture of the edible mushroom *Flammulina velutipes* growing on cooked rice. *Food Chem*., 2012, 132: 1346-1353. (doi: 10.1016/j.foodchem.2011.11.117)

47 Fu L.Q., Guo X.S., Liu X., He H.L., Wang Y.L., Yang Y.S. *Synthesis and antibacterial activity of C-2 (S)-substituted pleuromutilin derivatives.* Chin. Chem. Lett., 2010, 21: 507-510. (doi: 10.1016/j.cclet.2010.01.001)

48 Saddiqe Z., Naeem I., Maimoona A. *A review of the antibacterial activity of Hypericum perforatum* L. J. Ethnopharmacol, 2010, 131: 511-521. (doi: 10.1016/j.jep.2010.07.034)

49 Barros L., Baptista P., Estevinho L.M., Ferreira I.C. *Effect of fruiting body maturity stage on chemical composition and antimicrobial activity of Lactarius sp. mushrooms.* J. Agric. Food. Chem., 2007, 55: 8766–8771. (doi: 10.1021/jf071435+)

50 Alves M.J., Ferreira I.C., Dias J., Teixeira V., Martins A., Pintado M. *A review on antimicrobial activity of mushroom (Basidiomycetes) extracts and isolated compounds.* Planta Med. 2012, 78: 1707-1718. (doi: 10.1055/s-0032-1315370.)

51 Erjavec J., Ravnikar M., Brzin J., Grebenc T., Blejec A., Gosak M.Ž., Sabotič J., Kos J., Dreo T. *Antibacterial activity of wild mushroom extracts on bacterial wilt pathogen Ralstonia solanacearum.* Plant Dis., 2016, 100: 453-464. (doi: 10.1094/PDIS-08-14-0812-RE)

52 Dreo T., Zelko M., Skubic J., Brzin J., Ravnikar M. *Antibacterial activity of proteinaceous extracts of higher basidiomycetes mushrooms against plant pathogenic bacteria*. Int. J. Med. Mushrooms., 2007, 9: 226-237. (https://doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v9.i34.60)

53 Herms S., Seehaus K., Koehle H., Conrath U. *A strobilurin fungicide enhances the resistance of tobacco against tobacco mosaic virus and Pseudomonas syringae pvtabaci*. Plant Physiol., 2002, 130: 120-127. (doi: 10.1104/pp.004432)

54 Johansson M., Sterner O., Labischinski H., Anke T. *Coprinol, a new antibiotic cuparane from a Coprinus species. Z. Naturforsch.* C J. Biosci., 2001, 56: 31-34. (doi: 10.1515/znc-2001-1-205)

55 Brandt C.R., Piraino F. *Mushroom antivirals*. Recent Res. Dev. Antimicrob. Agents Chemother., 2000, 4: 11-26. (https://doi.org/10.1515/znc-2001-1-205)

56 Gao Y., Zhou S., Huang M., Xu A. *Antibacterial and antiviral value of the genus Ganoderma P. Karst. species (Aphyllophoromycetideae): A review*. Int. J. Med. Mushrooms, 2003, 5. (doi: 10.1615/InterJMedicMush.v5.i3.20)

57 Kovalenko O., Polishchuk O., Krupodorova T. *Screening of metabolites produced by strains of Ganoderma lucidum [Curt.: Fr] P. Karst and Ganoderma applanatum [Pirs.: Waller] Pat. for their activity against tobacco mosaic virus.* Bull. T. Shevchenko Nat. Univ. Kyiv. Ser. Biol., 2008, 51: 32-34. (https://www.researchgate.net/publication/258386611_Screening_of_metabolites_produced_by_strains_of_Ganoderma_lucidum_CurtFrP_Karst_and_Ganoderma_applanatum_PirsWallerPat_for_their_activity_against_tobacco_mosaic_virus)

58 Zjawiony J.K. *Biologically Active Compounds from Aphyllophorales (Polypore) Fungi*. J. Nat. Prod., 2004 67: 300-310. (doi: 10.1021/np030372w)

59 Di Piero R.M., Novaes Q.S., Pascholati S.F. *Effect of Agaricus brasiliensis and Lentinula edodes mushrooms on the infection of passionflower with Cowpea aphid-borne mosaic virus*. Braz. Arch. Biol. Technol., 2010 53: 269-278. (doi: 10.1590/S1516-89132010000200004)

60 Singh S., Singh B., Singh A.P. *Nematodes: a threat to sustainability of agriculture*. Procedia Environ. Sci., 2015, 29: 215-216. (doi: 10.1016/j.proenv.2015.07.270)

61 Jones J.T., Haegeman A., Danchin E.G., Gaur H. S., Helder J., Jones M.G. *Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology*. Mol. Plant Pathol., 2013, 14: 946-961. (doi: 10.1111/mpp.12057)

62 Siddique S., Grundler F.M. *Parasitic nematodes manipulate plant development to establish feeding sites.* Curr. Opin. Microbiol., 2018, 46: 102-108. (doi: 10.1016/j.mib.2018.09.004)

63 Haydock P.P., Woods S.R., Grove I.G., Hare M.C., Perry R.N., Moens M. *Plant Nematology*. Chemical control of nematodes, 2006, 392-410. (DOI: 10.1079/9781780641515.0459)

64 Akker S. *Plant–nematode interactions.* Curr. Opinion in Plant Biol., 2021, 62: 102035. (https://doi.org/10.1016/j.pbi.2021.102035)

65 Soltani T., Nejad R.F., Ahmadi A.R., Fayazi F. *Chemical control of root-knot nematode (Meloidogyne javanica) on olive in the greenhouse conditions*. J. Plant Pathol. Microbiol., 2013. (doi: 10.4172/2157-7471.1000183)

66 Comans-Pérez R.J., Sánchez J.E, Tawfeeq Al-Ani L. K., González-Cortázar M., Castañeda-Ramírez G.S., Mendoza-de Gives P., Sánchez-García A.D., Millán-Orozco J., Aguilar-Marcelino L. *Biological control of sheep nematode Haemonchus contortus using edible mushrooms.* Biol. Contr., 2021, 152: 104420.(https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2020.104420).

67 Luo H., Li X., Li G., Pan Y., Zhang K. *Acanthocytes of Stropharia rugosoannulata function as a nematode-attacking device.* Appl. Environ. Microbiol., 2006, 72: 2982-2987. (doi: 10.1128/AEM.72.4.2982-2987.2006)

68 Kwok O., Plattner R., Weisleder D., Wicklow D. *A nematicidal toxin from Pleurotus ostreatus NRRL 3526*. J. Chem. Ecol., 1992, 18: 127-136. (doi: 10.1007/BF00993748)

69 Palizi P., Goltapeh E., Pourjam E., Safaie N. *Potential of oyster mushrooms for the biocontrol of sugar beet nematode (Heterodera schachtii)*. J. Plant Prot. Res., 2009, 49: 27-34. (doi: 10.2478/v10045-009-0004-6)

70 Mamiy Y. *Attraction of the pinewood nematode to mycelium of some wood-decay fungi*. Jpn. J. Nematol., 2006, 36: 1-9. (doi: 10.3725/jjn.36.1)

71 Bua-art S., Saksirirat W., Hiransalee A., Kanokmedhaku S., Lekphrom R. *Effect of bioactive compound from luminescent mushroom (Neonothopanus nambi Speg.) on root-knot nematode (Meloidogyne incognita Chitwood) and non-target organisms*. Khon Kaen Univ. Res. J., 2011, 16: 331-341. (http://resjournal.kku.ac.th).

72 Stadler M., Mayer A., Anke H., Sterner O. *Fatty acids and other compounds with nematicidal activity from cultures of Basidiomycetes.* Planta Med., 1994, 60: 128-132. (doi: 10.1055/s-2006-959433)

73 Lorenzen K., Anke T. *Basidiomycetes as source for new bioactive natural products*. Curr. Org. Chem., 1998, 2: 329-364.
(https://books.google.kz/books?hl=ru&lr=&id=aI_3BDcYKXgC&oi=fnd&pg=PA329&ots=hvaBwuGLKh&sig=qjzMaEbrVLcHxRXplsLOcQDiTm0&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)

74 Hayashi M., Wada K., Munakata K. *New nematicidal metabolites from a fungus, Irpex lacteus*. Agric. Biol. Chem., 1981, 45: 1527-1529.
(https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/00021369.1981.10864743)

75 Lambert M., Kremer S., Anke H. *Antimicrobial, phytotoxic, nematicidal, cytotoxic, and mutagenic activities of 1-hydroxypyrene, the initial metabolite in pyrene metabolism by the basidiomycete Crinipellis stipitaria.* Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1995, 55: 25-257. (doi: 10.1007/BF00203017)

76 Mayer A., Anke H., Sterner O. *Omphalotin, a new cyclic peptide with potent nematicidal activity from Omphalotus olearius I. Fermentation and biological activity*. Nat. Prod. Lett., 1997, 10: 25-32. (doi: 10.1080/10575639708043691)

77 Dong J.Y., Li X.P., Li L., Li G.H., Liu Y.J., Zhang K.Q. *Preliminary results on nematicidal activity from culture filtrates of Basidiomycetes against the pine wood nematode, Bursaphelenchus xylophilus (Aphelenchoididae)*. Ann. Microbiol., 2006, 56: 163-166. (doi: 10.1007/BF03174999)

К.Г.МУСТАФИН[1], Н.А. БИСЬКО[2], Ж.Б. СУЛЕЙМЕНОВА[3,1*], А.С. ЖАКИПБЕКОВА[1], Ж.Б. НАРМУРАТОВА[4], Г.К. ЖУМАГАЛИЕВА[1], А.К. КАЛИЕВА[5], Г.Б. АДМАНОВА[5]
[1] «Антиген» ғылыми-өндірістік кәсіпорны, Алматы, Қазақстан
[2]Н.Г. Холодный атындағы ботаника институты, Киев, Украина
[3]Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы, Алматы, Қазақстан
[4]Қ. Сәтбаев атындағы Қазақ ұлттық техникалық зерттеу университеті, Алматы, Қазақстан
[5]Қ.Жұбанов атындағы Ақтөбе өңірлік университеті, Ақтөбе, Қазақстан
*e-mail: msyban@mail.ru

БАЗИДИОМИЦЕТТЕР – БИОБАҚЫЛАУДЫҢ ПОТЕНЦИАЛДЫ АГЕНТТЕРІ

Түйін

Ауыл шаруашылығында өсімдік ауруларымен күресу үшін экологиялық таза биологиялық препараттарға шұғыл қажеттілік бар. Осыған байланысты макромицеттер үлкен қызығушылық тудырады, өйткені олар табиғи экожүйелерде олардың тағамдық әмбебаптығы мен өсімдіктермен әртүрлі өзара әрекеттесуінің арқасында маңызды рөл атқарады. Базидиомицеттер әртүрлі биологиялық белсенді заттардың бай көзі болып табылады. Олар түзетін екіншілік метаболиттер микробқа қарсы, ісікке қарсы және антиоксиданттық қасиеттерге ие.Бұл шолу базидиомицеттердің этиологиясы әртүрлі өсімдік ауруларымен және арамшөптермен күресуде тиімді жаңа перспективті экологиялық таза фитотоксикалық және фитостимуляторлық препараттарды жасаудың негізі ретіндегі әлеуетті рөлін қарастырады.

Кілтті сөздер: жоғары саңырауқұлақтар, биопестицидтер, фитоуыттылық, фитостимуляция.

МРНТИ: 62.09.39

К.Г.МУСТАФИН[1], Н.А. БИСЬКО[2], Ж.Б. СУЛЕЙМЕНОВА[3,1*], А.С. ЖАКИПБЕКОВА[1], Ж.Б. НАРМУРАТОВА[4], Г.К. ЖУМАГАЛИЕВА[1], А.К. КАЛИЕВА[5], Г.Б. АДМАНОВА[5]
[1]Научно-производственное предприятие «Антиген», Алматы, Казахстан
[2]Институт ботаники имени Н.Г. Холодного, Киев, Украина
[3]Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии, Алматы, Казахстан
[4]Казахский национальный исследовательский технический университет им. К. Сатпаева, Алматы, Казахстан
[5]Актюбинский региональный университет имени К. Жубанова, Актобе, Казахстан
*e-mail: msyban@mail.ru

БАЗИДИОМИЦЕТЫ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ АГЕНТЫ БИОКОНТРОЛЯ

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.05

Аннотация

В сельском хозяйстве существует острая потребность в экологически чистых биопрепаратах для борьбы с болезнями растений. В этом отношении макромицеты представляют большой интерес поскольку они играют важную роль в природных экосистемах благодаря их универсальности в питании и разнообразному взаимодействию с растениями. Базидиомицеты являются богатым источником различных биологически активных веществ. Образуемые ими вторичные метаболиты обладают противомикробными, противоопухолевыми и антиоксидантными свойствами. Настоящий обзор посвящен потенциальной роли базидиомицетов в создании новых перспективных экологически чистых фитотоксичных и фитостимулирующих препаратов различного спектра действия, эффективных в борьбе с болезнями растений различной этиологии и сорняками.

Ключевые слова: высшие грибы, биопестициды, фитотоксичность, фитостимуляция.

В настоящее время химические средства защиты растений широко используются для борьбы с болезнями и вредителями сельскохозяйственных культур [1]. Повсеместное примененяемые химические средства защиты растений оказывают негативное влияние на человека и животных, в связи с чем они считаются экологически небезопасными [2]. В связи с этим необходимо использование биологических средств защиты растений, главной особенностью которых является безопасность для человека, окружающей среды, животных и других представителей биоценоза. В большинстве случаев в состав биопрепаратов входят живые микроорганизмы: бактерии, грибы, вирусы, которые могут продуцировать природные токсины, антибиотики и стимуляторы роста [3].

На протяжении тысячелетий фермеры изобретали технологии, чтобы сделать свои засеянные поля более однородными с экологической точки зрения с целью повышения урожайности, включая обработку почвы, контролируемое орошение и применение удобрений и пестицидов. За последние 100 лет широкомасштабная механизация посевных и уборочных работ еще больше увеличила однородность окружающей среды, присутствующую в агроэкосистемах [4, 5]. Однородная генетическая и физическая среда агроэкосистем создала условия, способствующие появлению новых патогенов сельскохозяйственных культур, которые эволюционируют быстрее и являются более опасными по сравнению со своими «дикими» предками. Повышенная густота посадки растений и генетическая однородность популяций хозяев в таких агроэкосистемах облегчают передачу возбудителя по сравнению с природными экосистемами, что способствует повышению вирулентности возбудителя [6]. Более того, эти факторы также увеличивают размер популяции патогенов, обеспечивая их большое генетическое разнообразие за счет увеличения общего количества мутаций [7].

Все это привело к неуклонному росту разнообразия вредителей и патогенов, и

появлению новых штаммов – возбудителей болезней с/х культур [8]. В связи с этим, ученые всего мира постоянно ищут альтернативные безопасные и эффективные пути для борьбы с патогенами и вредителями растений. В этом отношении большой интерес представляют базидиальные грибы в связи с их широким спектром лекарственных свойств, легкой доступностью и нетоксичностью для нецелевых организмов [9].

В настоящее время известно около 140 000 видов базидиомицетов, среди которых около 660 видов обладают лечебными свойствами [10]. Они синтезируют вещества разного химического строения, в том числе алкалоиды, терпеноиды, фенольные соединения, флаваноиды и многие другие, имеющие множество ценных свойств [11]. По своей классификации базидиальные грибы представляют собой класс высших грибов с хорошо развитым многоклеточным мицелием, достигающим большого разнообразия и сложности строения. Из дикорастущих базидиомицетов были выделены соединения, которые ингибировали рост бактерий, вирусов и грибов (таблица 1), а также обнаружили нематоцидные и инсектицидные свойства [12-25].

Таблица 1 – Активные соединения, выделенные из разных видов базидиальных грибов

Гриб	Активные соединения	Возбудитель
Ganoderma lucidum	ганодермин	*Physalospora piricola; Botytis cinerea*
Pleurotus ostreatus	плеуростин	*Botryosphaeria berengeriana*
Pleurotus eryngii	эрингин	*Mycosphaerella arachidicola*
Lyophyllum shimeji	Противогрибковый белок mLAP	*Physalospora piricola*
Lyophyllum shimeji	лиофиллин	*Physalospora piricola*
Albatrellus dispansus	грифолин	*Alternaria alternate*; *Pyricularia oryzae*; *Rhizoctonia solani*; *Sclerotina sclerotiorum*; *Fusarium graminearum; Botytis cinerea; Gaeumannomyces graminis*; *Gloesporium fructigenum*
Hypsizigus marmoreus	гипсин	*Botryosphaeria berengeriana*; *Botytis cinerea*; *Mycosphaerella arachidicola*

Грибные болезни растений

Грибы могут вызывать серьезное поражение растений поскольку они образуют споры, которые являются источником заражения других растений. Время между заражением и образованием спор может составлять всего несколько дней [26]. Споры, если они смачиваемые, могут распространяться в виде инокулята высокой плотности вместе с водой [27]. Более того, споры могут продуцировать фитотоксичные соединения [28].

Патогены растений могут выводить питательные вещества из растения путем выработки или индукции регуляторов роста. Так, фитопатогены рода *Colletotrichum* вызывают антракнозы и корневые гнили различных культур, таких как земляника, крыжовник и т.д. [29, 30]. Значительные различия возникают в культуре и диапазоне растений-хозяев, при этом некоторые штаммы способны поражать многие виды растений, тогда как другие, ограничены лишь одним видом [31, 32]. Рис, являющийся основной культурой в экономике многих стран, поражается аскомицетом *Pyricularia oryzae, Magnaporthe grisea*, вызывая пирикуляриоз, что приводит к ежегодной потере урожая на 10-30% [33]. Другие виды злаков также поражаются *P. oryzae, Eleusine coracana* или подобными видами [34, 35].

Некоторые грибы вырабатывают сильные микотоксины. Так, токсины фумонизина впервые были обнаружены в Южной Африке. Они были выделены из возбудителей фузариоза *Gibberella fujikuroi* и *Fusarium moniliforme*, выращенных на кукурузе, а наиболее активное соединение было обозначено как фумонизин B1 (FB1) [36]. FB1

является аналогом сфинганина, который как в растительных, так и в животных клетках ингибирует синтез сфинголипидов, вызывая накопление сфингоидных оснований [37].

Базидиальные грибы как потенциальные агенты биоконтроля

Активность высших грибов против фитопатогенных грибов

Противогрибковый препарат грифолин, выделенный из базидиального гриба *Albatrellus dispansus*, в исследованиях *in vitro* оказался эффективным против ряда фитопатогенных грибов [38]. Феллинсин А, выделенный из *Phellinus sp*. подавлял рост *Gloeosporium orbiculare, Pyricularia grisea, Thanatephorus cucumeris, Aspergillus fumigatus* и *Trichophyton mentagrophytes* [39].

Основной фунгицид, повсеместно используемый в агрохимии, был получен из гриба сосновой шишки *Strobilurus tenacellus* [40]. Стробилурины представляют собой класс фунгицидных соединений, которые экстрагируются из мицелия *S. tenacellus* (рисунок 1).

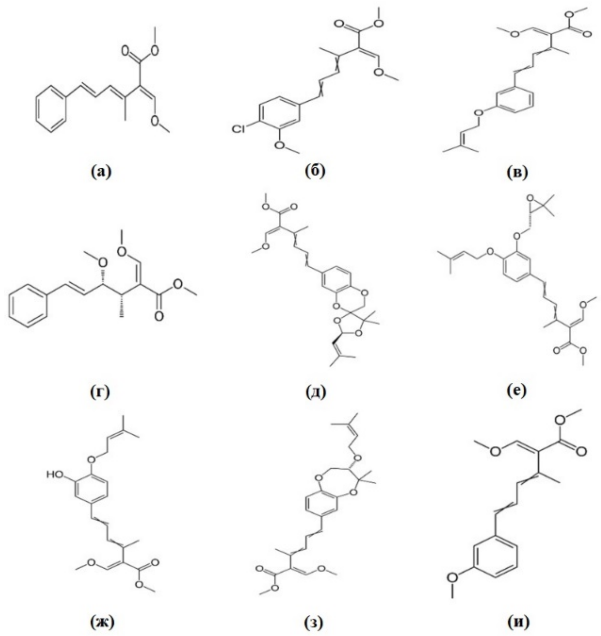


Рисунок 1 – Стробилурины высших грибов ((а) - стробурин А; (б) – стробурин В; (в) - стробурин С; (г) - удемансин В; (д) - стробурин Е; (е) - стробурин D; (ж, з) - стробурин F; (и) - стробурин Н)

Стробилурины А (рисунок 1, а) и В (рисунок 1, б), обладающие высокой фунгицидной активностью, подавляют дыхание дрожжей и других мицелиальных грибов [41]. Из-за широкого спектра действия и практической безопасности для окружающей среды стробилурины считаются наиболее существенной группой фунгицидов, которые можно отнести к биофунгицидам, так как они имеют природное происхождение.

Стробилурины являются сайт-специфическими (ингибирование митохондриального дыхания) и трансламинарными (системными) соединениями, которые обеспечивают биологический контроль грибов *Oomycota, Ascomycota, Basidiomycota* и *Deuteromycota*. (Е)-β-метоксиакрилаты стробилурина С (рисунок 1, в) и удемансина В (рисунок 1, г), выделенные из *Xerula pudens* ингибируют многие виды фитопатогенных грибов. Как и стробилурины А и В, они также ингибируют дыхание грибов [42]. Стробилурин Е (рисунок 1, д) - еще одно противогрибковое соединение класса (Е)-β-метоксиакрилатов, экстрагированное из гриба *Crepidotus fulvotomentosus*. Было установлено, что помимо ингибирования дыхания грибов он вызывает деформацию клеток [43]. Стробилурин D (рисунок 1, е) экстрагирован из базидиомицета *Merismodes anomala*; он содержит цитостатические и противогрибковые антибиотики класса (Е)-β-метоксиакрилатов. Этот стробилурин ингибирует многие грибы и, как и стробилурины А и В, также является

мощным ингибитором митохондриального дыхания [43, 44]. Другие стробилурины F (рисунок1, ж), G (рисунок 1, з) и H (рисунок 1, и), полученные из культуральной жидкости гриба *Bolinea lutea*, ингибируют *Aspergillus fumigatus, Botrytis cinerea, Microsporum canis* и *Sporothrix schenckii*. Эти соединения также ингибируют дыхание грибов.

Ганодермин, выделенный из гриба *G. lucidum,* подавлял рост фитопатогенных грибов *Botrytis cinerea, F. oxyporum* и *Peyronellaea arachidicolla* [1]. Плеврострин, противогрибковый пептид, размером примерно в два раза меньше ганодермина, выделенный из вешенки *P. ostreatus*, обладал ингибирующим действием в отношении грибов *Fusaerium oxysporum, Mycosphaerella arachidicola* и *Physalospora piricola* [45].

Активность высших грибов против фитопатогенных бактерий

Известно, что вторичные метаболиты, выделенные из различных базидиомицетов, проявляют выраженные антибактериальные свойства [46-49]. Представители порядков *Ganodermatales, Poriales, Agaricales* и *Stereales* демонстрируют антибактериальную активность против разных видов фитопатогенных бактерий и могут стать основой для разработки новых антибиотиков [50]. Было установлено, что 15 экстрактов базидиомицетов имеют антибактериальную активность от умеренной до высокой. Из них 11 полностью ингибировали рост бактерий, а 4 демонстрировали частичное ингибирование бактериального увядания картофеля, вызванного *Ralstonia solanacearum* [51].

Экстракты из гриба *Clytocybe geotropa* (говорушка подогнутая) обнаружили широкий диапазон ингибирования в отношении *R. solanacearum, Erwinia carotovora subsp. carotovora P. syringae pv. syringae, X. campestris pv. vesicatoria* и *Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus* (возбудитель кольцевой гнили картофеля). Установлено, что очищенный белок клитоципин из *C. geotropa* ингибирует заболевание, вызванное *Clavibacter michiganensis* [52]. Фунгицид стробилурин Ф 500 повышает устойчивость табака к возбудителю бактериальной рябухи *Pseudomonas syringae pv. tabaci* [53]. Копринол, выделенный из *Coprinus sp*., показал ингибирующую активность в отношении большинства фитопатогенов [54].

Активность высших грибов против фитопатогенных вирусов

Соединения, полученные из высших грибов и обладающие активностью против фитопатогенных вирусов можно разделить на два основных класса: модификаторы биологического ответа и ингибиторы вирусов [55]. Влияние полисахаридов базидиомицетов было исследовано на моделях вирусов человека и животных [56]. Установлено, что штаммы *Ganoderma lucidum* и *G. applanatum* способны ингибировать вирус табачной мозаики в концентрации 1000 мкг/мл [57]. Фильтрат из культуральной жидкости трутовика *Fomes fomentarius* эффективен в отношении вируса табачной мозаики [58]. Водные экстракты плодовых тел *Agaricus brasiliensis* и *Lentinula edodes* также обнаружили противовирусную активность в отношении вируса табачной мозаики [59].

Активность высших грибов против нематод

На сегодняшний день описано более 4100 видов нематод, которые оказывают отрицательное влияние на экономически важные сельскохозяйственные культуры. Ущерб, причиняемый растительными нематодами, оценивается в 12,3% (157 миллиардов долларов США) во всем мире [60]. Полную степень поражения нематодами невозможно оценить в полной мере, поскольку сельхозпроизводители зачастую не знают об их присутствии, так как симптомы поражения нематодой у растений неспецифичны, что затрудняет диагностику [61, 62]. Исследователи во всем мире проявляют все больший интерес к уменьшению использования химических средств против немадод [63-65]. Недавнее исследование показало, что некоторые виды съедобных базидиомицетов, такие как виды *Pleurotus*, обладают нематоцидной активностью благодаря выработке токсина, который способен подавлять движение нематод [66]. Такая биологическая активность может быть результатом механизма самозащиты грибов, который действует против нематод-мицелиофагов [67]. Другие исследования показали, что *P. ostreatus* продуцирует

токсин, подобный пероксидам, который подавляет движение нематод и впоследствии разрушает их, достигая 95% смертности свободноживущих нематод *Panagrellus redivivus* (взрослые особи) и фитопатогенных нематод *Bursaphelenchus xylophilus* [68]. Другое исследование показало, что *P. eryngii* вызывает 50% смертность фитопатогенной нематоды *Heterodera schantii*, вызывающей увядание сахарного тростника и других с/х культур. В целом, нематоцидная активность, проявляемая различными штаммами *P. eryngii* колеблется в пределах 4,8–99,6%.

На нематоцидный эффект базидиомицетов оказывают влияние такие факторы как температура, внутренние генетические характеристики каждого штамма и внутривидовые различия между нематодами [69]. У некоторых мертвых личинок нематод был обнаружен грибной мицелиий внутри тела, в связи с чем было сделано предположение, что гибель личинок была следствием инвазии грибного мицелия. Так, штамм *Coprinus comatus* вызвал поражение свободноживущей нематоды *Panagrellus redivivus* и галловой нематоды *Meloidogyne arenaria* [70]. Было установлено механическое повреждение свободноживущей нематоды *P. redivivus* через 8 часов после заражения мицелием *C. comatus*, что привело к иммобилизации 90% нематод и последующей их гибели после инкубации при 24°C. Штаммы съедобных базидиальных грибов *Pleurotus ostreatus* ECS-1123 и ECS-0152, *P. eryngii* ECS-1290 и ECS-1291, *P. cornucopiae* ECS-1328 и ECS-1330, *Lentinula edodes* ECS-0401 также проявляли высокую нематоцидную активность (от 82% до 99% смертности) [71]. Более того, в литературе имеются данные об использовании биоактивных соединений из люминесцентных базидиомицетов *Neonothopanus nambi* для борьбы с галловой нематодой *Meloidogyne incognita*, паразитирующей на корнях растений. Результаты исследований показали, что концентрация 500 мг/л высокотоксична для *M. incognita*, вызывая 100% смертность в течение 30 минут [71].

Жирные кислоты, такие как S-кориоловая или линолевая кислоты, выделенные из *Pleurotus pulmonarius*, проявляли нематоцидное действие против сапрофитной нематоды *Caenorhabditis elegans* [72]. Нематоцидный монотерпен 1,2-дигидроксиминтлактон, выделенный из базидиального гриба *Cheimonophyllum candidissimum* проявлял нематоцидное действие против свободноживущей почвенной нематоды *Caenorhabditis elegans* и гербицидное действие против *Setaria italica* и *Lepidium sativum* [73]. Новые сесквитерпены хеймонофилоны и хемонофилалы (cheimonophyllons и cheimonophyllal) были выделены из дереворазрушающего базидиомицета *Cheimonophyllum candidissimum* и проявляли нематоцидную активность в отношении почвенной нематоды *C. elegans* [74]. Фуральдегиды 5-пентил-2-фуральдегид и 5(4-пентенил)-2-фуральдегид, выделенные из *Irpex lacteus*, вызывающего белую гниль древесины проявляли нематоцидную активность против листовой рисовой нематоды *Aphelencoides besseyi* [75]. Нематоцидный циклический пептид омфалотин, выделенный из биомассы гриба омфалота маслинового *Omphalotus olearius*, и 1-гидроксипирен, полученный из кринипиллеса шероховатого *Crinipellis stipitaria* обнаружили сильную нематоцидную активность против *C. elegans* [76]. Фильтраты культуральной жидкости базидиальных грибов *Amauroderma macer Laccaria tortilis* и *Tylopilus striatulus* проявляли высокую нематоцидную активность в отношении сосновой нематоды *Bursaphelenchus xylophilus* [77].

Таким образом, благодаря наличию в мицелии и культуральной жидкости базидиальных грибов соединений, обладающих различной биологической активностью, данные объекты весьма привлекательны для использования их в защите растений. Поиск новых соединений с фитопротекторными и фитотоксическими свойствами для борьбы с болезнями растений и сорняками является чрезвычайно актуальной проблемой, имеющей большое научное, практическое и социальное значение. Чистые культуры макромицетов, как продуценты разнообразных соединений с различным спектром действия, могут стать перспективным источником новых экологически чистых биопрепаратов для сельского хозяйства.

Финансирование

Данное исследование финансировалось Комитетом науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (грант № AP19674676).

Литература:

1 Sivanandhan S., Khusro A., Paulraj M.G., Ignacimuthu S., AL-Dhabi N.A. *Biocontrol Properties of Basidiomycetes: An Overview*. J Fungi (Basel), 2017, 3(1): 2. (doi: 10.3390/jof3010002)

2 Bhattacharjee R., Dey U. *An overview of fungal and bacterial biopesticides to control plant pathogens/diseases*. Afr. J. Microbiol. Res, 2014, 8: 1749–1762. (DOI: 10.5897/AJMR2013.6356)

3 Gillespie A. *Conservation, Biodiversity and International Law. Edward Elgar Publishing.* Chelteham, New Zealand, 2013, 1–579. (https://doi.org/10.1093/oso/9780198819516.003.0007)

4 Benton T.G., Vickery J.A., Wilson J.D. *Farmland biodiversity: is habitat heterogeneity the key*? Trends Ecol. Evol., 2003, 18: 182–188. (doi: 10.1016/S0169-5347(03)00011-9)

5 McDonald B.A., Stukenbrock E.H. *Rapid emergence of pathogens in agro-ecosystems: global threats to agricultural sustainability and food security*. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci, 2016, 371(1709): 20160026. (doi: 10.1098/rstb.2016.0026)

6 Read A.F. The evolution of virulence. Trends Microbiol, 2016, 2: 73–76. (doi: 10.1016/0966-842X(94)90537-1)

7 Stukenbrock E.H., Bataillon T., Dutheil J.Y., Hansen T.T., Li R., Zala M., McDonald B.A., Wang J., Schierup M.H. *The making of a new pathogen: insights from comparative population genomics of the domesticated wheat pathogen Mycosphaerella graminicola and its wild sister species.* Genome Res., 2011, 21: 2157–2166. (doi: 10.1101/gr.118851.110)

8 Gilbert G.S., Parker I.M. *Rapid evolution in a plant-pathogen interaction and the consequences for introduced host species*. Evol Appl., 2010, 3(2): 144-56. (doi: 10.1111/j.1752-4571.2009.00107.x)

9 Jo W.S., Hossain M.A., Park S.C. *Toxicological profiles of poisonous, edible, and medicinal mushrooms.* Mycobiology, 2014, 42: 215–220. (doi: 10.5941/MYCO.2014.42.3.215)

10 Wasser S.P. A Book Review: *The Fungal Pharmacy: Medicinal Mushrooms of Western Canada*. Int. J. Med. Mushrooms, 2008, 10: 97-100. (doi: 10.1615/IntJMedMushr.v10.i1.130.)

11 Wasser S.P. *Current findings, future trends, and unsolved problems in studies of medicinal mushrooms.* Antimicrob. Agents Chemother, 2011, 89: 1323-1332. (doi: 10.1007/s00253-010-3067-4)

12 Anke T. *Basidiomycetes: A source for new bioactive secondary metabolites.* In: Bushell ME, Gräfe H (eds) Bioactive metabolites from microorganisms. Prog. Ind. Microbiol., 1989, 27: 51-66. (https://doi.org/10.1002/jobm.3620300709)

13 Gowrie S.U., Chathurdevi G., Rani K. *Evaluation of bioactive potential of basidiocarp extracts of Ganoderma lucidum.* Int. J. Pharm. Res. Allied Sci., 2014, 3: 36-46 (https://www.researchgate.net/publication/341030087_Evaluation_of_Bioactive_Potential_of_Basidiocarp_Extracts_of_Ganoderma_lucidum)

14 Kolundžić M., Grozdanić N.Đ., Dodevska M., Milenković M., Sisto F., Miani A., Farronato G., Kundaković T. *Antibacterial and cytotoxic activities of wild mushroom Fomes fomentarius* (L.) Fr., Polyporaceae. Ind. Crops. Prod., 2016, 79: 110-115. (https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.10.030)

15 Ren L., Hemar Y., Perera C.O., Lewis G., Krissansen G.W., Buchanan P.K. *Antibacterial and antioxidant activities of aqueous extracts of eight edible mushrooms.* Bioact. Carbohydr. Diet. Fibre., 2014, 3: 41-51. (doi: 10.1016/j.bcdf.2014.01.003)

16 Santos D.N., de Souza L.L., de Oliveira C.A., Silva E.R., de Oliveira A.L. *Arginase inhibition, antibacterial and antioxidant activities of Pitanga seed (Eugenia uniflora L.) extracts from sustainable technologies of high pressure extraction.* Food Biosci., 2015, 12: 93–99. (doi: 10.1016/j.fbio.2015.09.001)

17 Wang H., Ng T. *Ganodermin, an antifungal protein from fruiting bodies of the medicinal mushroom Ganoderma lucidum*. Peptides, 2006, 27: 27-30. (doi: 10.1016/j.peptides.2005.06.009)

18 Chu K., Xia L., Ng T. *Pleurostrin, an antifungal peptide from the oyster mushroom.* Peptides, 2005; 26: 2098-2103. (doi: 10.1016/j.peptides.2005.04.010)

19 Sajeena A., Marimuthu T. *Efficacy, stability and persistence of Ganosol, a Ganoderma based fungicide against plant pathogens*. J. Plant Prot. Sci., 2013, 5: 17-25. (https://scholar.google.com/citations?view_op=view_citation&hl=en&user=1dJ2VRUAAAAJ&citation_for_view=1dJ2VRUAAAAJ:YsMSGLbcyi4C)

20 Lam S., Ng T. *First simultaneous isolation of a ribosome inactivating protein and an antifungal protein from a mushroom (Lyophyllum shimeji) together with evidence for synergism of their antifungal effects.* Arch. Biochem. Biophys., 2001, 393: 271-280. (doi: 10.1006/abbi.2001.2506)

21 Wang H., Ng T. *Eryngin, a novel antifungal peptide from fruiting bodies of the edible mushroom Pleurotus eryngii.* Peptides, 2004, 25: 1-5. (doi: 10.1016/j.peptides.2003.11.014.)

22 Wasser S.P., Weis A.L. *Therapeutic effects of substances occurring in higher Basidiomycetes mushrooms: A modern perspective*. Crit. Rev. Immunol., 1999, 19: 65–96. (https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9987601/)

23 Faccin L.C., Benati F., Rincão V.P., Mantovani M.S., Soares S.A., Gonzaga M.L., Nozawa C., Carvalho L.R. *Antiviral activity of aqueous and ethanol extracts and of an isolated polysaccharide from Agaricus brasiliensis against poliovirus type 1*. Lett. Appl. Microbiol., 2007, 45: 24-28. (doi: 10.1111/j.1472-765X.2007.02153.x)

24 Sun H., Zhao C.G., Tong X., Qi Y.P. *A lectin with mycelia differentiation and antiphytovirus activities from the edible mushroom Agrocybe aegerita.* J. Biochem. Mol. Biol., 2003, 36: 214-222. (doi: 10.5483/BMBRep.2003.36.2.214)

25 Wang M., Triguéros V., Paquereau L., Chavant L., Fournier D. *Proteins as active compounds involved in insecticidal activity of mushroom fruitbodies.* J. Econ. Entomol., 2002, 95: 603-607. (doi: 10.1603/0022-0493-95.3.603)

26 Richard N.S. *Introduction to Plant Pathology*. John Wiley & Sons, 2006. 1-50.

27 Knogge W. *Fungal infection of plants.* Plant Cell., 1996, 8: 1711–1722. (doi: 10.1105/tpc.8.10.1711)

28 Bronson C.R. *The genetics of phytotoxin production by plant pathogenic fungi.* Experientia, 1991; 47: 771-776. (doi: 10.1007/BF01922456)

29 Shi Xin-Chi, Wang Su-Yan, Duan Xu-Chu, Wang Yao-Zhou, Liu Feng-Quan, Laborda P. *Biocontrol strategies for the management of Colletotrichum species in postharvest fruits.* Crop Prot., 2021, 141: 105454. https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105454

30 Martínez-Culebras P.V., Barrio E., García M.D., Querol A. *Identification of Colletotrichum species responsible for anthracnose of strawberry based on the internal transcribed spacers of the ribosomal region*. FEMS Micr. Lett., 2000, 189: 97-101. https://doi.org/10.1016/S0378-1097(00)00260-3.

31 Hayden H.P.K., Aitken E., Irwin J. *Genetic-relationships as assessed by molecular markers and cross-infection among strains of Colletotrichum gloeosporioides*. Aust. J. Bot., 1994, 42: 9-18. (doi: 10.1071/BT9940009)

32 Talbot N.J. *On the trail of a cereal killer: Exploring the biology of Magnaporthe grisea*. Annu. Rev. Microbiol., 2003, 57: 177-202. (doi: 10.1146/annurev.micro.57.030502.090957)

33 Thinlay X., Finckh M.R., Bordeos A.C., Zeigler R.S. *Effects and possible causes of an unprecedented rice blast epidemic on the traditional farming system of Bhutan.* Agric. Ecosyst. Environ, 2000, 78: 237-248. (doi: 10.1016/S0167-8809(99)00129-2)

34 Prabhu A.S., Filippi M.C., Castro N. *Pathogenic variation among isolates of Pyricularia oryzae affecting rice, wheat, and grasses in Brazil*. Int. J. Pest Manag., 1992, 38: 367-371. (https://doi.org/10.1080/09670879209371729)

35 Hubert J., Mabagala R.B., Mamiro D.P. *Efficacy of selected plant extracts against Pyricularia grisea, causal agent of rice blast disease.* Am. J. Plant Sci., 2015, 6: 602-611. (doi: 10.4236/ajps.2015.65065)

36 Gelderblom W.C., Jaskiewicz K., Marasas W.F., Thiel P.G., Horak R.M., Vleggaar R., Kriek N.P. *Fumonisins – Novel mycotoxins with cancer-promoting activity produced by Fusarium moniliforme.* Appl. Environ. Microbiol., 1988, 54: 1806-1811. (https://doi.org/10.1128/aem.54.7.1806-1811.1988)

37 Madden L., Nutter J.F. *Modeling crop losses at the field scale*. Can. J. Plant Pathol. 1995, 17: 124-137. (doi: 10.1080/07060669509500703)

38 Luo D.Q., Shao H.J., Zhu H.J., Liu J.K. *Activity in vitro and in vivo against plant pathogenic fungi of grifolin isolated from the basidiomycete Albatrellus dispansus*. Z. Naturforsch. C J. Biosci., 2005, 60: 50-56. (doi: 10.1515/znc-2005-1-210)

39 Hwang E.I., Yun B.S., Kim Y.K., Kwon B.M., Kim H.G., Lee H.B., Jeong W.J., Kim S.U. *Phellinsin A, a novel chitin synthases inhibitor produced by Phellinus sp. PL3*. J. Antibiot., 2000, 53: 903-911. (doi: 10.7164/antibiotics.53.903)

40 Robles-Hernández L., Gonzalez-Franco A.C., Soto-Parra J.M., Montes-Domínguez F. *Review of agricultural and medicinal applications of basidiomycete mushrooms.* Tecnociencia Chihuah., 2008, 2: 95-107. (DOI: https://doi.org/10.54167/tch.v2i2.1387)

41 Anke T., Oberwinkler F., Steglich W., Schramm G. *The strobilurins-new antifungal antibiotics from the basidiomycete Strobilurus tenacellus.* J. Antibiot., 1977, 30: 806-810. (doi: 10.7164/antibiotics.30.806)

42 Anke T., Besl H., Mocek U., Steglich W. *Antibiotics from basidiomycetes. XVIII. Strobilurin C and Oudemansin B, two new antifungal metabolites from Xerula species (Agaricales*). J. Antibiot., 1983, 36: 661-666. (doi: 10.7164/antibiotics.36.661)

43 Weber W., Anke T., Steffan B., Steglich W. *Antibiotics from basidiomycetes. XXXII. Strobilurin E: A new cytostatic and antifungal (E)-BETA-methoxyacrylate antibiotic from Crepidotus fulvotomentosus*. Peck. J. Antibiot., 1990, 43: 207-212. (doi: 10.7164/antibiotics.43.207)

44 Imtiaj A., Jayasinghe C., Lee G.W., Lee T.S. *Antibacterial and antifungal activities of Stereum ostrea, an inedible wild mushroom.* Mycobiology, 2007, 35: 210-214. (doi: 10.4489/MYCO.2007.35.4.210)

45 Chu K.T., Xia L., Ng T.B. *Pleurostrin, an antifungal peptide from the oyster mushroom.* Peptides, 2005, 26(11): 2098-2103. https://doi.org/10.1016/j.peptides.2005.04.010.

46 Wang Y., Bao L., Yang X., Li L., Li S., Gao H., Yao X.S., Wen H., Liu H.W. Bioactive sesquiterpenoids from the solid culture of the edible mushroom *Flammulina velutipes* growing on cooked rice. *Food Chem.*, 2012, 132: 1346-1353. (doi: 10.1016/j.foodchem.2011.11.117)

47 Fu L.Q., Guo X.S., Liu X., He H.L., Wang Y.L., Yang Y.S. *Synthesis and antibacterial activity of C-2 (S)-substituted pleuromutilin derivatives.* Chin. Chem. Lett., 2010, 21: 507-510. (doi: 10.1016/j.cclet.2010.01.001)

48 Saddiqe Z., Naeem I., Maimoona A. *A review of the antibacterial activity of Hypericum perforatum* L. J. Ethnopharmacol, 2010, 131: 511-521. (doi: 10.1016/j.jep.2010.07.034)

49 Barros L., Baptista P., Estevinho L.M., Ferreira I.C. *Effect of fruiting body maturity stage on chemical composition and antimicrobial activity of Lactarius sp. mushrooms.* J. Agric. Food. Chem., 2007, 55: 8766–8771. (doi: 10.1021/jf071435+)

50 Alves M.J., Ferreira I.C., Dias J., Teixeira V., Martins A., Pintado M. *A review on antimicrobial activity of mushroom (Basidiomycetes) extracts and isolated compounds.* Planta Med. 2012, 78: 1707-1718. (doi: 10.1055/s-0032-1315370.)

51 Erjavec J., Ravnikar M., Brzin J., Grebenc T., Blejec A., Gosak M.Ž., Sabotič J., Kos J., Dreo T. *Antibacterial activity of wild mushroom extracts on bacterial wilt pathogen Ralstonia solanacearum.* Plant Dis., 2016, 100: 453-464. (doi: 10.1094/PDIS-08-14-0812-RE)

52 Dreo T., Zelko M., Skubic J., Brzin J., Ravnikar M. *Antibacterial activity of proteinaceous extracts of higher basidiomycetes mushrooms against plant pathogenic bacteria*. Int. J. Med. Mushrooms., 2007, 9: 226-237. (https://doi.org/10.1615/IntJMedMushr.v9.i34.60)

53 Herms S., Seehaus K., Koehle H., Conrath U. *A strobilurin fungicide enhances the resistance of tobacco against tobacco mosaic virus and Pseudomonas syringae pvtabaci*. Plant Physiol., 2002, 130: 120-127. (doi: 10.1104/pp.004432)

54 Johansson M., Sterner O., Labischinski H., Anke T. *Coprinol, a new antibiotic cuparane from a Coprinus species. Z. Naturforsch.* C J. Biosci., 2001, 56: 31-34. (doi: 10.1515/znc-2001-1-205)

55 Brandt C.R., Piraino F. *Mushroom antivirals*. Recent Res. Dev. Antimicrob. Agents Chemother., 2000, 4: 11-26. (https://doi.org/10.1515/znc-2001-1-205)

56 Gao Y., Zhou S., Huang M., Xu A. *Antibacterial and antiviral value of the genus Ganoderma P. Karst. species (Aphyllophoromycetideae): A review*. Int. J. Med. Mushrooms, 2003, 5. (doi: 10.1615/InterJMedicMush.v5.i3.20)

57 Kovalenko O., Polishchuk O., Krupodorova T. *Screening of metabolites produced by strains of Ganoderma lucidum [Curt.: Fr] P. Karst and Ganoderma applanatum [Pirs.: Waller] Pat. for their activity against tobacco mosaic virus.* Bull. T. Shevchenko Nat. Univ. Kyiv. Ser. Biol., 2008, 51: 32-34. (https://www.researchgate.net/publication/258386611_Screening_of_metabolites_produced_by_strains_of_Ganoderma_lucidum_CurtFrP_Karst_and_Ganoderma_applanatum_PirsWallerPat_for_their_activity_against_tobacco_mosaic_virus)

58 Zjawiony J.K. *Biologically Active Compounds from Aphyllophorales (Polypore) Fungi*. J. Nat. Prod., 2004 67: 300-310. (doi: 10.1021/np030372w)

59 Di Piero R.M., Novaes Q.S., Pascholati S.F. *Effect of Agaricus brasiliensis and Lentinula edodes mushrooms on the infection of passionflower with Cowpea aphid-borne mosaic virus*. Braz. Arch. Biol. Technol., 2010 53: 269-278. (doi: 10.1590/S1516-89132010000200004)

60 Singh S., Singh B., Singh A.P. *Nematodes: a threat to sustainability of agriculture*. Procedia Environ. Sci., 2015, 29: 215-216. (doi: 10.1016/j.proenv.2015.07.270)

61 Jones J.T., Haegeman A., Danchin E.G., Gaur H. S., Helder J., Jones M.G. *Top 10 plant-parasitic nematodes in molecular plant pathology*. Mol. Plant Pathol., 2013, 14: 946-961. (doi: 10.1111/mpp.12057)

62 Siddique S., Grundler F.M. *Parasitic nematodes manipulate plant development to establish feeding sites.* Curr. Opin. Microbiol., 2018, 46: 102-108. (doi: 10.1016/j.mib.2018.09.004)

63 Haydock P.P., Woods S.R., Grove I.G., Hare M.C., Perry R.N., Moens M. *Plant Nematology*. Chemical control of nematodes, 2006, 392-410. (DOI: 10.1079/9781780641515.0459)

64 Akker S. *Plant–nematode interactions.* Curr. Opinion in Plant Biol., 2021, 62: 102035. (https://doi.org/10.1016/j.pbi.2021.102035)

65 Soltani T., Nejad R.F., Ahmadi A.R., Fayazi F. *Chemical control of root-knot nematode (Meloidogyne javanica) on olive in the greenhouse conditions*. J. Plant Pathol. Microbiol., 2013. (doi: 10.4172/2157-7471.1000183)

66 Comans-Pérez R., Aguilar-Marcelino L., Mendoza de Gives P., Sánchez J., López-Arellano M., Singh M. *In vitro lethal capability of ten strains of edible mushrooms against Haemonchus contortus (Nematoda) infective larvae [conference poster]*; Proceedings of the 8th International Conference on Mushroom Biology and Mushroom Products (ICMBMP8); New Delhi, India., 2014, 557-562

67 Luo H., Li X., Li G., Pan Y., Zhang K. *Acanthocytes of Stropharia rugosoannulata function as a nematode-attacking device.* Appl. Environ. Microbiol., 2006, 72: 2982-2987. (doi: 10.1128/AEM.72.4.2982-2987.2006)

68 Kwok O., Plattner R., Weisleder D., Wicklow D. *A nematicidal toxin from Pleurotus ostreatus NRRL 3526.* J. Chem. Ecol., 1992, 18: 127-136. (doi: 10.1007/BF00993748)

69 Palizi P., Goltapeh E., Pourjam E., Safaie N. *Potential of oyster mushrooms for the biocontrol of sugar beet nematode (Heterodera schachtii).* J. Plant Prot. Res., 2009, 49: 27-34. (doi: 10.2478/v10045-009-0004-6)

70 Mamiy Y. *Attraction of the pinewood nematode to mycelium of some wood-decay fungi*. Jpn. J. Nematol., 2006, 36: 1-9. (doi: 10.3725/jjn.36.1)

71 Bua-art S., Saksirirat W., Hiransalee A., Kanokmedhaku S., Lekphrom R. *Effect of bioactive compound from luminescent mushroom (Neonothopanus nambi Speg.) on root-knot nematode (Meloidogyne incognita Chitwood) and non-target organisms*. Khon Kaen Univ. Res. J., 2011, 16: 331-341. (http://resjournal.kku.ac.th).

72 Stadler M., Mayer A., Anke H., Sterner O. *Fatty acids and other compounds with nematicidal activity from cultures of Basidiomycetes.* Planta Med., 1994, 60: 128-132. (doi: 10.1055/s-2006-959433)

73 Lorenzen K., Anke T. *Basidiomycetes as source for new bioactive natural products*. Curr. Org. Chem., 1998, 2: 329-364.
https://books.google.kz/books?hl=ru&lr=&id=aI_3BDcYKXgC&oi=fnd&pg=PA329&ots=hvaBwuGLKh&sig=qjzMaEbrVLcHxRXplsLOcQDiTm0&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false

74 Hayashi M., Wada K., Munakata K. *New nematicidal metabolites from a fungus, Irpex lacteus.* Agric. Biol. Chem., 1981, 45: 1527-1529.
https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/00021369.1981.10864743

75 Lambert M., Kremer S., Anke H. *Antimicrobial, phytotoxic, nematicidal, cytotoxic, and mutagenic activities of 1-hydroxypyrene, the initial metabolite in pyrene metabolism by the basidiomycete Crinipellis stipitaria.* Bull. Environ. Contam. Toxicol., 1995, 55: 25-257. (doi: 10.1007/BF00203017)

76 Mayer A., Anke H., Sterner O. *Omphalotin, a new cyclic peptide with potent nematicidal activity from Omphalotus olearius I. Fermentation and biological activity*. Nat. Prod. Lett., 1997, 10: 25-32. (doi: 10.1080/10575639708043691)

77 Dong J.Y., Li X.P., Li L., Li G.H., Liu Y.J., Zhang K.Q. *Preliminary results on nematicidal activity from culture filtrates of Basidiomycetes against the pine wood nematode, Bursaphelenchus xylophilus (Aphelenchoididae)*. Ann. Microbiol., 2006, 56: 163-166. (doi: 10.1007/BF03174999)

IRSTI: 579.66

Z.Zh. TURLYBAYEVA[1]*, B.B. BAYMAKHANOVA[1], L.N. IBRAGIMOVA[1],
A.K. SADANOV[1], A.S. BALGIMBAYEVA[1], S.A. ORAZYMBET[1],
A.Zh. SULTANOVA[1], S.D. ZHANTLESSOVA[1], M.B. ERDENBEKOVA[1],
Sh.M. MIRALIMOVA[2]
[1]Research and Production Center of Microbiology and Virology, Almaty, Kazakhstan
[2]Institute of Microbiology of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan,
Tashkent, Uzbekistan
*e-mail: tzj2009@yandex.kz

ANTIFUNGAL PHARMACOTHERAPY IN THE MANAGEMENT OF VAGINAL CANDIDIASIS

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.06

Abstract

Fungal infections can significantly alter the normal microflora of the body. Long-term use of ineffective medications in the treatment of vaginal candidiasis leads to drug resistance of infectious agents, and their systemic absorption leads to metabolic disorders. The transition of the disease to chronic forms in some cases causes infertility or the need for termination of pregnancy. The article discusses the modern most effective and safest drugs based on the recommendations of attending physicians and patient reviews.

Keywords: vaginal candidiasis, resistance of microorganisms, polyene antibiotics, fungal infections.

Candida genus fungi, which are represented in small quantities in the normal vaginal microflora, under definite circumstances inhibit the growth of lactobacilli (lactic acid bacteria), actively multiply, causing characteristic clinical manifestations of vaginal candidiasis, and create conditions for the colonization of the vagina by pathogens [1]. For the treatment effectiveness of vaginal candidiasis, it is necessary to use an antifungal drug in combination with a drug complex for immunity optimization [2].

The very first mention of candidiasis lesions found in Hippocrates writings in the IV century BC (377 BC), but it contained information only about candidiasis of the oral cavity. Descriptions of local manifestations of candidiasis appeared in 1771 and 1784. But, yeast-like fungi were first discovered in vaginal candidiasis only in 1849, and fundamental studies of microscopic fungi of the genus Candida began only in the 20th century in Australia [3].

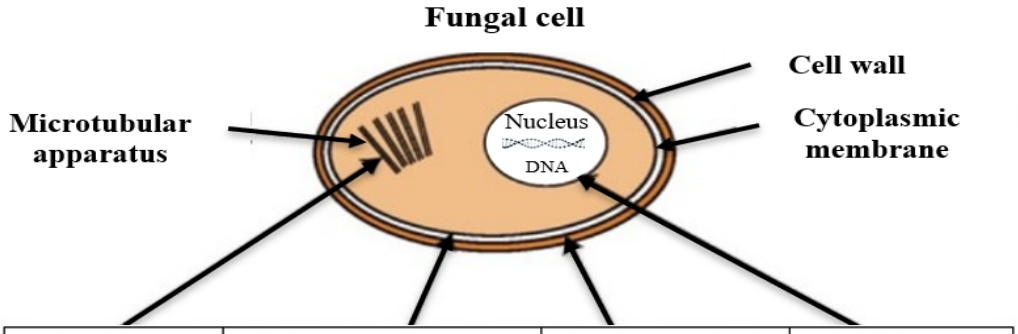
Due to the increase of fungal infections, it became necessary to develop intravenous and oral antifungal agents. The discovery by E. L. Hazen and R. Brown in 1950 of the first polyene macrolide antibiotic with antifungal action, nystatin, had important prospects for the modern era of antifungal therapy. Up to the mid-1990s, the searching for new effective antimicotics never stopped. In the 1960s, only two new antifungal drugs developed – miconazole and clotrimazole, which were proposed as local medicine agents in 1969. In the 1970s, the antifungal drug i.e. imidazole was inserted to medical practice, which has a wide range of activity against dermatophytes, candidiasis and other pathogens. In1974, a local antifungal agent, econazole, was developed. The introduction of ketoconazole in 1981 into medical practice made it possible to achieve the highest effectiveness in the treatment of fungal infections. For almost ten years, it has been the only oral agent for the treatment of systemic mycoses. However, the 70s and 80s of the 20th century had its discoveries, including, the studies of allylamines (naphthyphine), lipid forms of polyene antibiotics, fluconazole and precursors of echinocandins were started. In 1990, fluconazole was introduced into medical practice - the first broad-spectrum triazole, which, however, had the main disadvantages of imidazoles - poor solubility and lack of composition for

intravenous injection. After all the drugs named: antimycotics of the imidazole range and antimycotics of the triazole range.

In the middle of 1990s, a solubilizing filler hydroxypropyl-β-cyclodextrin (HP-βCD) was obtained, capable of enhancing the bioavailability of traconazole in the treatment of the oral cavity and in the case of intravenous administration. During this period, liposomal forms of polyenes – amphotericin B and nystatin - were being developed.

In the 2000s, for the first time in 40 years, it was appeared a new class of antifungal agents - echinocandins. The first representative of this class, caspofungin, inserted to the medicine sphere in 2001. Since 2001, the echinocandin class has been expanding as a result of the insertion of two new antifungal drugs - micafungin and anidulafungin, and the triazole class has been replenished with voriconazole and posaconazole with increased activity against fluconazole-resistant *Candida sp*. and filamentous mushrooms.

In clinical practice, antifungal drugs divides to 3 main groups: 1) drugs for the treatment of deep (systemic) mycoses; 2) drugs for the treatment of epidermophytia and trichophytia; 3) drugs for the treatment of candidiasis. Their main mode of action against fungal pathogens are shown in (Figure 1) [3].



Inhibitors mitosis	*Substances disrupting the structure and function of the cytoplasmic membrane*	*Inhibitors of cell wall synthesis*	*Inhibitors of DNA synthesis*
Griseofulvin	Allylamines Triazoles Imidazoles Polyene macrolides	Echinocandins	Flucytosine

Figure 1 - The main mode of action of antifungal agents [3].

The antimycotics of the imidazole range includes clotrimazole, ketoconazole, and so on.

Clotrimazole is an effective remedy for vaginal candidiasis. It is also available in the form of ointments, gels, pessary, tablets, capsules and solutions for external use. The mechanism of action of clotrimazole is to disrupt the synthesis of the main structural component of the fungal cell membrane (ergosterol), increase the permeability of the cell membrane. Under the influence of this drug, potassium and intracellular phosphorus compounds begin actively leave the cell. There is a decrease in the activity of oxidative and peroxidase enzymes, an increase in the intracellular concentration of hydrogen peroxide. The outcome of the ongoing processes is cell necrosis. This medicine forbidden to take in the first trimester of pregnancy, in the second and third trimesters – only after prior consultation with a doctor. Furthermore, it is necessary to approach its use with caution during breastfeeding [4].

One of the most spread antimycotics of the triazole range is fluconazole. It is available in the form of capsules for oral injection. In 2018, scientists from the Kulakov National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology published a paper whose results prove the effectiveness of fluconazole in the treatment of vulvovaginal candidiasis. Fluconazole

also inhibits the synthesis of ergosterol, increases the permeability of the cell wall and disrupts its growth [4].

Drugs for vaginal candidiasis treatment divides to following groups:

• polyenes (nystatin, levorin, pimafucin, amphotericin B);

• imidazoles (clotrimazole, ketoconazole, miconazole, gyno–pevaryl);

• triazoles (fluconazole, itraconazole);

•*combined drugs (polizhinaks, klion D, pimafucort, macmiror complex);

•*drugs of different groups (dafnedjin, polyvinylpyrrolidone iodate, griseofulvin, flucytosine, nitrofungin).

In the treatment of vaginal candidiasis, the effectiveness of clotrimazole is 70-82%, miconazole – 80%, ketoconazole – 68%, polizhinax – 85.5%, gyno–pevaril – 86.7%, dafnedjin – 93.5%, fluconazole – 93.3% [5-8]. However, the use of certain antifungal drugs (for example, fluconazole) contraindicated due to their possible teratogenic effects during gestation. The gestation period is the time interval from the first day of the last menstruation until the moment of cutting the umbilical cord of the baby. In recent years, pimafucin has been widely used to treat vaginal candidiasis during pregnancy. Natamycin binds sterols of cell membranes, disrupting their integrity and function, which leads to the death of microorganisms. Most yeast-like fungi, especially *Candida albicans*, are sensitive to natamycin, dermatophytes are less sensitive to this drug.

The active substance of pimafucin dosage forms is natamycin. It belongs to the group of polyene macrolide antibiotics, which include nystatin and amphotericin B. Natamycin was originally isolated from *Streptomyces natalensis*. Natamycin is a white crystalline powder, odorless and tasteless, which makes its use especially acceptable for patients. Natamycin is a very stable compound with pH values in the range of 4.5-9. In aqueous solutions, natamycin exhibits amphoteric properties; its isoelectric point is in the pH 6.5 region [9-11].

In the solid state, natamycin has a crystalline structure; in terms of its organoleptic properties, it is a tasteless and odorless white powder. Violation of the crystal structure of natamycin occurs at temperatures above 200 ° C, while temperatures below 120 ° C do not affect its antimycotic activity if the duration of its exposure does not exceed one hour. The suspension can be sterilized at a temperature of 116 °C for 30 minutes if it is used in ophthalmological practice for fungal infections. At the same time, the activity of the drug decreases only slightly. Neutral aqueous suspensions can be boiled for a short time. The latter is important when it is necessary to sterilize or autoclave media containing natamycin [10, 12].

Based on its structural formula, natamycin is poorly soluble in water and well—soluble in polar organic solvents. In particular, glacial acetic acid, methylpyrrolidone, dimethyl sulfoxide, glycerin and propylene glycol are good solvents for natamycin [10, 13, 11]. At the same time, natamycin is insoluble in higher alcohols, esters, aromatic and aliphatic hydrocarbons, ketones and various oils [10, 13].

In a dry state and in the form of an aqueous suspension, natamycin is a fairly stable compound — when stored in a dark place from +2 to +25°C for 2 years, no loss of antimycotic activity was noted [10, 13, 11]. In solutions, natamycin is stable at pH 5.0—9.0, but it is rapidly inactivated at extremely low and high values [10, 13, 14]. Also, rapid inactivation of natamycin occurs when exposed to ultraviolet radiation with a wavelength of 300-350 nm, as well as various oxidants [10, 14, 15]. The presence of antioxidants (e.g. chlorophyll, ascorbic acid, etc. P.) protects natamycin from inactivation to a certain extent [15]. These aspects dictate the need to store natamycin preparations in a dark, moisture-proof place; tablets for oral administration should be coated to prevent inactivation in the acidic environment of the stomach. When developing combined natamycin preparations, the physico-chemical properties of each of the components should be taken into account — for example, oxidants are incompatible with natamycin in the same dosage form.

Natamycin intended only for local therapy. The drug is not absorbed from the gastrointestinal tract, mucous membranes or skin. In toxicity studies, natamycin has low toxicity

when administered orally. The LD_{50} is 2.73 g/kg and 4.67 g/kg in male and female rats, respectively.

The breakdown products of natamycin are less toxic than the drug itself. Two-year follow-up of rats receiving 45-60 mg of natamycin per day with food showed a decrease in food intake and stunting of animals (from very slight to moderate). Using the example of two subsequent generations of rats, the effect of natamycin on their reproductive ability and lactation was not revealed, although in young animals whose mothers received natamycin with food, a decrease in body weight was noted compared with control animals [16].

It is very important that the drugs, when applied topically to the skin, do not have a sensitizing effect. Low molecular weight antibiotics have the properties of haptens, binding to a protein to form a true antigen. Since the natamycin molecule has only one reaction group, it has very little affinity for proteins and binds mainly to lipids. Hypersensitivity was not observed either in patients receiving gentamicin therapy [17] or in workers engaged in the production of the drug. When intradermal injection used or when provocative doses of natamycin were applied to 71 people, none of them showed hypersensitivity to the drug [18]. Allergic reactions were also absent during special tests (patch testing) in 102 patients with eczema. The use of natamycin did not cause contact dermatitis [19].

With prolonged cultivation of Candida albicans in the presence of natamycin in sub-inhibitory concentrations, daughter cells do not separate from parent cells, but clusters of cells form, and mycelium formation is prevented. Such cells are not pathogenic and, when injected intravenously to mice, cannot penetrate into tissues and are destroyed. Unlike other polyene antibiotics, the fungicidal activity of natamycin actually differs little from its fungistatic activity [20]. Such conclusions were made during preclinical trials of natamycin [21].

Extensive clinical trials of natamycin and the results of many already published clinical studies indicate the unique and valuable properties of this antifungal drug. The data obtained confirm that natamycin, which is part of the «Pimafucin»® preparation:

• has a wide range of antifungal activity, including both common pathogenic and more exotic microorganisms;

• has a rapid effect due to its fungicidal activity;

• safe, virtually has no contraindications, has a small number of side effects;

• it is used for fungal infections of the vagina;

«Pimafucin»® is considered to be an effective broad-spectrum drug used in general clinics and specialized clinics.

Important characteristics of the drug are the absence of resistant strains, as well as the absence of toxicity [21-23].

The massive production of the drug «Pimafucin»® began in the 2000s. It has been actively present on the market for more than 20 years. During this period, it significantly proved itself and is still one of the recommended ones for the treatment of antifungal diseases.

According to the reviews of patients and physicians, the disadvantages of the drug included a relatively high cost; low effectiveness in mixed vaginitis and bacterial vaginosis (i.e., when the cause of vaginal dysbiosis and inflammation are not only candida, but also other microorganisms); a long course of use, its inability to be a top-line drug in the treatment of candidiasis vulvovaginitis (not all patients are ready to complete the full course); frequent relapses of the disease: preservation of clinical and laboratory manifestations of candidiasis after the course of treatment; a feeling of discomfort (greasiness) after stopping the use of suppositories for a several days.

The advantages included a dosage form in the form of ointment for patients with fungal lesions of the glans of penis - with balanitis, balanoposthitis (a good therapeutic effect with minimal side effects) [24].

The staff of the Scientific and Production Center of Microbiology and Virology has developed a new drug in the form of vaginal suppositories called "KanProFem-AK"® intended for the treatment of vaginal candidiasis. Received a patent for a utility model of Pat. RK

No.5056. utility model patent / A.K. Sadanov et al.; publ. 09.10.2020. The drug contains the original patented antibiotic roseofungin as an active pharmaceutical substance [25].

Having carefully studied and analyzed the information received about medicines against vaginal candidiasis registered on the pharmaceutical market of the Republic of Kazakhstan, the most significant and in-demand among potential users and attending physicians were selected for comparison with the developed new original drug "KanProFem-AK"®,. For comparison, the following drugs were selected: Nystatin®, Pimafucin®, Primafungin®.

The active pharmaceutical ingredient Roseofungin is a polyene antibiotic (carbonyl-conjugated pentaene) with high antifungal activity against 39 species of pathogenic fungi. These include the most dangerous agents causing superficial and deep mycoses such as trichophytosis, microsporia, favus, candidiasis, cryptococcosis, sporotrichosis, chromomycosis, aspergillosis, and other fungal infections in humans. Resistance to it is practically not developed [26]. The strain producing the antibiotic Roseofungin is *Streptomyces roseoflavus var. roseofungini* AS-20.14 [27]. The medicinal substance has obtained registration certificate RK-LS-5 No. 023224 (included in the State Register of Medicinal Products of the Republic of Kazakhstan by Order of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan dated September 8, 2017, No. N010335).

High antifungal activity of the drug "KanProFem-AK"® has been established in relation to clinical strains of pathogens of vaginal candidiasis (15 strains of *Candida albicans*, *Candida krusei*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*) (figure 2). This allows for the expansion of the range of domestic pharmaceuticals for the effective treatment of candidal vulvovaginitis in women of any age category in the Republic of Kazakhstan and beyond.

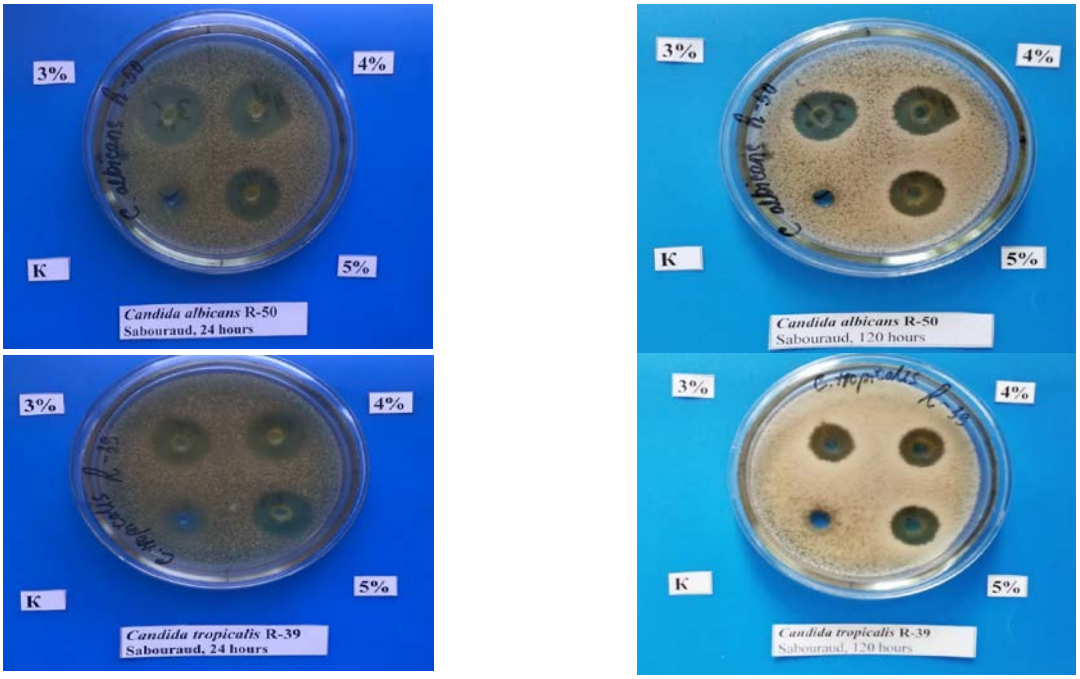


Figure 2 - testing of concentrations of the drug «KanProFem-AK»®.
Complete suppression of clinical strains of pathogens of vaginal candidiasis is observed:
24 hours; 120 hours

The pharmaceutical development of the medicinal product in the form of suppositories was conducted in accordance with international recommendations ICH Q8. Normative documentation was developed, and the validation of the analytical methods used was successfully carried out, aligning with the State Pharmacopoeia of the Republic of Kazakhstan and applicable national standards. Stability studies of the product was carried out, then scaling on the production site at “Industrial microbiology" LLP. An industrial protocol was developed,

and the validation of the technological process was successfully completed. The biological activity of the developed formulations of the new medicinal form of the drug was studied "*in vitro*" against clinical Candida strains. The optimal composition for the suppository was selected. The new original medicinal product, vaginal suppositories Roseofungin–AS®, is patented under the name "CanProFem-AK"®. Stability and bioequivalence of the new medicinal form were determined "*in vitro*" in comparison with analogs. A rational production technology for suppositories was developed, along with the technological scheme and manufacturing regulations.

Documentation for the pharmaceutical development of the new drug formulation has been prepared. Twelve variations of the most effective suppository compositions were selected (figure 3).



Figure 3 - The appearance of «KanProFem-AK»® suppositories of optimal composition

The production of experimental batches of suppositories was conducted according to the technological scheme and manufacturing regulations in accordance with the requirements of the international recommendations ICH Q9.

Standardization of the drug formulation (suppository) for the "CanProFem-AK"®. medication and validation of analytical methods were carried out in accordance with the requirements of the State Pharmacopeia of the Republic of Kazakhstan [28].

At the first stage of studying the biological activity of the developed formulations of the new drug «KanProFem-AK»®. in the form of suppositories, "in vitro" against clinical Candida strains, the optimal concentration of the antibiotic roseofungin in the suppositories was determined using the disc-diffusion method [29]. The research yielded successful results.

Compositions 1;2;10;11 with an antibiotic concentration of 2% were selected for bioequivalence studies over 48 hours compared to polyene analogs such as "Nystatin"®, "Pimafucin”®, "Primafungin"® in suppository form. The *Candida krusei R-47* strain proved to be the most sensitive to all polyene antibiotics. The action of the "Primafungin"® suppository was the least active. "Nystatin"® drug maintained consistent activity over 48 hours, with a decline starting at 72 hours. Composition 11 exhibited high growth suppression at a concentration of 2%. After the incubation period, zones of growth suppression were measured with an accuracy of 0.1 mm. Samples were tested in six repetitions.

Preclinical studies of the irritant effect on the skin and mucous membrane of the drug

"KanProFem-AK"®, vaginal suppositories, 100 mg, on experimental animals" in comparison with the drug "Pimafucin"®, vaginal suppositories (Italy).

The antifungal activity of «KanProFem-AK»®, vaginal suppositories, 100 mg, "in vitro" on a strain of *C.albicans* (ATCC 10231) by diffusion into agar was studied and a comparative analysis of its activity relative to the drug «Pimafucin»® vaginal suppositories 100 mg (Italy) was carried out.

Based on the obtained experimental data on the comparative study of the safety of the drug "KanProFem-AK"® relative to the drug "Pimafucin"® their comparable safety of use has been established.

Preclinical studies of the antifungal activity of the drug "KanProFem-AK"® in comparison with the activity of the drug "Pimafucin"® indicate that the study.

The Kazakhstani drug "CanProFem-AK"® is a domestic development of a new medicinal form of a medical product for the treatment of vaginal candidiasis based on the original antibiotic Roseofungin.

Funding

The work was carried out with the support of the Science Committee of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan (grant BR21882248 «Development and organization of original domestic medicines production according to GMP standards»).

References:

1 Silin K.A. Rasprostranenie i adgezivnaya aktivnost' gribov kandida. *Ehlektronnyj nauchnyj zhurnal APRIORI. Seriya: Estestvennye i tekhnicheskie nauki*, 2015: 4.

2 Sosnina A.S. Vaginalnii kandidoz (molochnitsa) - simptomi i lechenie, *Probolezni* , 2020 (https://probolezny.ru/vaginalnyy-kandidoz/)

3Karabanov I.S. Protivogribkovie preparati ot molochnitsi, *PharmZnanie*, 2023 (https://pharmznanie.ru/article/protivogribkovye-preparaty-ot-molochnitsy)

4 Marchenko Ye.A. Lekarstvennie sredstva dlya lecheniya vaginalnogo kandidoza, MedAboutrme, 2021 (https://medaboutme.ru /articles/lekarstvennye _sredstva_dlya_lecheniya _ vaginal nogo _kandidoza/)

5 Mahnovec E.N. Sovremennye predstavleniya o vul'vovaginal'nom kandidoze i ego terapiya GBOU VPO *«Novosibirskij gosudarstvennyj medicinskij universiteT» Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya* 1, 2013: 9-15.

6 Chaim V. Late miscarriage and intraamniotic candidiasis in a woman with a retained intrauterine contraceptive device. *Arch Gynecol Obstet*, 1993: 253(3) - 157-60.3. (doi: 10.1007/BF02767335. PMID: 8250605)

7 McCaig L.F., McNeil M.M. Trends in prescribing for vulvovaginal candidiasis in the United States. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*, 2005 Feb: 14(2) - 113-20 (doi: 10.1002/pds.960. PMID: 15386715).

8 Karaev Z.O. *Metodicheskie rekomendacii po klinicheskomu ispytaniyu antifungal'nykh preparatov*. Leningrad, 1989: 10-11.

9 Hamilton-Miller J.M. Chemistry and biology of the polyene macrolide antibiotics. *Bacteriol Rev.*,1973: 166-96.

10 Raab P.W. Natamycin (Pimaricin). Its properties and possibilities in medicine. *Georg Thieme Publishers*. Stuttgart, 1973: 134

11 Clark W.L., Shirk R.J., Kline E.F. Pimaricin, a new food fungistat. *In "microbial inhibitors in food". Alqvist & Wiksell*,Uppsala, 1964: 167—184.

12 Porter J.N., Wilhelm J.J., Tresner H.D. Method for the preferential isolation of actynomycetes from soil. *Appl Microbiol*,1960: 8: 174.

13 Struyk A.P., Hoette I., Drost G. Pimaricin, a new antifungal antibiotic. *Antibiot Ann* , 1957—1958: 878—884.

14 Dekker J., Ark P.A. Protection of the antibiotic pimaricin from oxidation and ultraviolet light bychlorophyllin and other compounds. *Antib Chemother,* 1959, 9: 327.

15 Posthuma J., Berends W. Energy transfer in aqueous solutions. *Biochim Biophys Acta,* 1965: 51: 392.

16 Levinskas, George J., William E. Ribelin, Boyd Shaffer C. Acute and chronic toxicity of pimaricin. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 8.1 (1966): 97-109.

17 Mosca M. *GItal Dermal*, 1978, 113: 611-618.

18 Malten K.E. *Brocades Pharma Report*, 1967.

19 Angelini G., Vena G.A., Meneghini C. L. *Allergic contact dermatitis to some medicaments. Contact Dermatitis* 12.5, 1985: 263-369.

20 Kotler-Brajtburg J. *Antimicrob Ag Chemother*, 1979 15: 716-722.

21 Brop B.V. *Bezopasnoe lechenie gribkovy`kh infekczij Yamanuchi*, 2004. (http://www.medserpuhov.ru /blizzard/RPP/M/Derma/pimafucin_pimafucort.pdf)

22 OOO Megasoft. FarmIndustriya, *informatsionnii portal*, 200-2024. (https://www.medprod.ru/producers/?id=103)

23 Ltd Astellas PharmaInc. Yamanuchi Pharmaceutical Co., (https://www.astellas.com /en/about/history-of-yamanouchi)

24 OOO «MedReiting» Pimafutsin, *informatsionnii portal, protabletki*, 20214-2024, (https://protabletky.ru/pimafucin/)

25 Sadanov A.K., Bogoyavlenskii A.P., Berezin V.E. i dr. *Sposob polucheniya antibiotika rozeofungin, obladayushchego protivogribkovoi i antivirusnoi aktivnostyu. Pat.RK№28306 Opubl.2014, Bil.№4* (https://kzpatents.com/6-ip28306-sposob-polucheniya-antibiotika-rozeofungin-obladayushhego-protivogribkovojj-i-antivirusnojj-aktivnostyu.html)

26 V Kazakhstane razrabotan protivogribkovii preparat «Rozeofungin -AS» , *informatsionnii portal*, Assotsiatsiya mezhdunarodnikh farmatsevticheskikh proizvoditelei v Respublike Kazakhstan (https://aipm.kz/ru/novosti-i-sobytiya/978-v-kazakhstane-razrabotan-protivogribkovyj-preparat-rozeofungin-as.html)

27 Sadanov A.K., Berezin V.E., Trenozhnikova L.P. *Shtamm Streptomyces roseoflavus v. roseofungini AS-20.14 - vysokoaktivnyj proizvodstvenno cennyj producent polienovogo antibiotika rozeofungin, Pat. RK № 31866.Opubl. 2017, Byul. №4.*

28 Dokumenti po Farmokopee Yevraziiskogo ekonomicheskogo soyuza (https://www.rceth.by/ru/PharmacopoeiaEAEC/DocumentsPharmacopoeiaEAEC)

29Opredelenie chuvstvitelnosti k antimikrobnim preparatam Disko-diffuzionnii metod EUCAST, 2020, 8 (http://old.antibiotics.ru/iacmac/ru/docs/eucast/eucast-disk-diffusion-manual-8.0-rus.pdf)

З.Ж. ТУРЛЫБАЕВА[1*], Б.Б. БАЙМАХАНОВА[1], Л.Н. ИБРАГИМОВА[1], А.К. САДАНОВ[1], А.С. БАЛГИМБАЕВА[1], С.А. ОРАЗЫМБЕТ[1], А.Ж. СУЛТАНОВА[1], С.Д. ЖАНТЛЕСОВА[1], М.Б. ЕРДЕНБЕКОВА[1], Ш.М. МИРАЛИМОВА[2]

[1]Микробиология және вирусология ғылыми- өндірістік орталығы, Алматы, Қазақстан

[2]Өзбекстан Республикасы Ғылым академиясының Микробиология институты, Ташкент, Өзбекстан

[*]e-mail: tzj2009@yandex.kz

ҚЫНАПТЫҚ КАНДИДОЗДЫ ЕМДЕУГЕ АРНАЛҒАН ЗЕҢГЕ ҚАРСЫ ДӘРІЛІК ЗАТТАР

Түйін

Жұқпалы ауру туғызатын зең саңырауқұлақтар ағзаның қалыпты микрофлорасын айтарлықтай өзгерте алады. Қынаптық кандидозды емдейтін тиімділігі төмен медициналық препараттарды ұзақ уақыт қолдану ағзаның емдік препараттарға тәуелді болып қалуына әкеліп соғады, ал олардың жүйелі түрде ағзаға сіңуі, ондағы зат алмасу процесстердің ауытқуына әкеледі. Кей жағдайларда аурулардың созылмалы түрлері белсіздікке шалдықтырса, кей жағдайларда жүктілікті тоқтатуға мәжбүр етеді. Берілген мақалада дәрігерлер ұсынатын және емделушілердің оң бағасына ие болған, заманау, емдеу дәрежесі айтарлықтай жоғары және барынша зиянсыз препараттар қарастырылған.

Кілтті сөздер: қынаптық кандидоз, микроорганизмдердің төзімділігі, полиенді антибиотиктер, зең инфекциялары.

МРНТИ: 579.66

З.Ж. ТУРЛЫБАЕВА[1*], Б.Б. БАЙМАХАНОВА[1], Л.Н. ИБРАГИМОВА[1], А.К. САДАНОВ[1], А.С. БАЛГИМБАЕВА[1], С.А. ОРАЗЫМБЕТ[1], А.Ж. СУЛТАНОВА[1], С.Д. ЖАНТЛЕСОВА[1], М.Б. ЕРДЕНБЕКОВА[1], Ш.М. МИРАЛИМОВА[2]
[1]Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии, Алматы, Казахстан
[2]Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент, Узбекистан
[*]e-mail: tzj2009@yandex.kz

ПРОТИВОГРИБКОВЫЕ ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ВАГИНАЛЬНОГО КАНДИДОЗА

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.06

Аннотация

Грибковые инфекции способны значительно изменять нормальную микрофлору организма. Длительное применение малоэффективных медицинских препаратов в лечении вагинального кандидоза приводит к лекарственной устойчивости возбудителей инфекции, а их системное всасывание - к процессам нарушения метаболизма. Переход заболевания в хронические формы в некоторых случаях вызывает бесплодие или к необходимости прерывания беременности. В статье рассмотрены современные наиболее эффективные и максимально безопасные препараты на основе рекомендаций лечащих врачей и отзывов пациентов.

Ключевые слова: вагинальный кандидоз, резистентность микроорганизмов, полиеновые антибиотики, грибковые инфекции.

Грибы рода *Candida*, которые в небольшом количестве представлены в нормальной микрофлоре влагалища, при определенных обстоятельствах подавляют рост лактобактерий (молочнокислых бактерий), активно размножаются, вызывая характерные клинические проявления вагинального кандидоза, и создают условия для заселения влагалища болезнетворными организмами [1]. Для результативности лечения вагинального кандидоза необходимо применение противогрибковых лекарственных средств в сочетании с комплексом препаратов, оптимизирующих иммунитет [2].

Самые первые упоминания о кандидозных поражениях были обнаружены у Гиппократа в IV в. до н.э. (377 г. до н.э.), однако там содержалась информация только о кандидозе ротовой полости. Описания местных проявлений кандидозов появились в 1771 и 1784 гг. При этом дрожжеподобные грибы впервые были обнаружены при вагинальном кандидозе только в 1849 г., а фундаментальные исследования микроскопических грибов рода *Candida* начались лишь в 20-м веке в Австралии [3] .

В связи с признанием факта увеличения распространения грибковых инфекций, возникла необходимость разработки внутривенных и оральных противогрибковых агентов. Открытие Е.Л. Хазеном и Р. Брауном в 1950 году первого полиенового макролидного антибиотика с противогрибковым действием, нистатина, имело важные перспективы для современной эпохи противогрибковой терапии. В период до середины 1990-х годов поиски в получении новых эффективных антимикотиков не прекращались. Так в 1960-х годах были разработаны только два новых противогрибковых препарата- «Миконазол» и «Клотримазол», которые предложены в качестве местных агентов в 1969 году. В 1970-е годы в лечебную практику введен противогрибковый препарат «Имидазол», обладающий широким спектром активности против дерматофитов, *Candida* и других возбудителей грибковых инфекций. В1974 году был разработан противогрибковый агент местного действия эконазол. Введение кетоконазола в 1981 году в медицинскую практику позволило добиться высокого эффекта в лечении грибковых инфекций. В течение почти десяти лет он был единственным пероральным агентом для лечения системных микозов. Однако 70-е и 80-е годы 20 века не были лишены открытий,

в том числе, в этот период начато исследование аллиламинов (нафтифина), липидных форм полиеновых антибиотиков, открыт флуконазол и предшественники эхинокандинов. В 1990 году в медицинскую практику введен флуконазол - первый триазол широкого спектра действия, который, однако, обладал основными недостатками имидазолов - плохой растворимостью и отсутствием состава для внутривенного введения. Их так и станут называть: антимикотики имидазольного ряда и антимикотики триазольного ряда.

В середине 1990-х был получен солюбилизирующий наполнитель гидроксипропил-β-циклодекстрин (HP-βCD), способный усиливать биодоступность траконазола при лечении полости рта и в случае внутривенного введения. В этот период разрабатываются липосомальные формы полиенов – амфотерицина В и нистатина.

В 2000-х годах, впервые за последние 40 лет, появляется новый класс противогрибковых агентов – эхинокандины. Первый представитель этого класса – каспофунгин введен в лечебную практику в 2001 году. С 2001 года класс эхинокандинов расширяется в результате внедрения двух новых противогрибковых препаратов - микафунгина и анидулафунгина, а класс триазолов пополняется вориконазолом и позаконазолом с повышенной активностью в отношении флуконазолустойчивых *Candida spp*. и нитчатых грибов.

В клинической практике противогрибковые препараты разделяют на 3 основные группы: 1) препараты для лечения глубоких (системных) микозов; 2) препараты для лечения эпидермофитий и трихофитий; 3) препараты для лечения кандидозов. Основные их механизмы действия против возбудителей грибковых заболеваний показаны на рисунке 1 [3] .

К антимикотикам имидазольного ряда можно отнести клотримазол, кетоконазол и другие.

Клотримазол – это средство, эффективное при вагинальном кандидозе. Оно выпускается в виде мазей, гелей, пессарий, таблеток, капсул, растворов для наружного применения. Механизм действия клотримазола заключается в нарушении синтеза основного структурного компонента клеточной мембраны грибов (эргостерола), повышении проницаемости клеточной мембраны. Под воздействием данного препарата из клетки начинают активно выходить калий и внутриклеточные соединения фосфора. Отмечается снижение активности окислительных и пероксидазных ферментов, повышение внутриклеточной концентрации перекиси водорода. Исходом происходящих процессов становится некроз клетки. Данное лекарственное средство запрещено принимать в первом триместре беременности, во втором и третьем триместре – только после предварительной консультации с врачом. Кроме этого, стоит с осторожностью подходить к его использованию в период грудного вскармливания [4].



Ингибиторы митоза	Средства, нарушающие структуру и функцию цитоплазматической мембраны	Ингибиторы синтеза клеточной стенки	Ингибиторы синтеза ДНК
Гризеофульвин	Аллиламины Триазолы Имидазолы Полиеновые макролиды	Эхинокардины	Флуцитозин

Рисунок 1 – Основные механизмы действия ряда противогрибковых средств [3]

Одним из самых известных антимикотиков триазольного ряда является флуконазол. Он выпускается в виде капсул для приема внутрь. В 2018 году ученые из Национального медицинского исследовательского центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова опубликовали работу, результаты которой доказывают эффективность флуконазола в лечении вульвовагинального кандидоза.

Флуконазол также способствует угнетению синтеза эргостерола, увеличивает проницаемость клеточной стенки и нарушает ее рост [4].

Препараты для лечения вагинального кандидоза подразделяют на следующие группы:

• полиены (нистатин, леворин, пимафуцин, амфотерицин В);

• имидазолы (клотримазол, кетоконазол, миконазол, гино–певарил);

• триазолы (флуконазол, итраконазол);

•комбинированные препараты (полижинакс, клион Д, пимафукорт, макмирор комплекс);

•препараты разных групп (дафнеджин, йодат поливинилпирролидон, гризеофульвин, флуцитозин, нитрофунгин).

При лечении вагинального кандидоза эффективность клотримазола составляет 70–82%, миконазола – 80%, кетоконазола – 68%, полижинакса – 85,5%, гино–певарила – 86,7%, дафнеджина – 93,5%, флуконазола – 93,3% [5-8]. Однако использование некоторых противогрибковых препаратов (например, флуконазола) ввиду их возможного тератогенного воздействия в период гестации противопоказано. Период гестации - это временной отрезок с первого дня последних месячных до момента перерезания пуповины младенца. В последние годы для лечения вагинального кандидоза при беременности стали широко применять пимафуцин. Натамицин, действующее вещество пимафуцина, связывает стеролы клеточных мембран, нарушая их целостность и функции, что приводит к гибели микроорганизмов.

К натамицину чувствительны большинство дрожжеподобных грибов, особенно *Candida albicans*, менее чувствительны к данному препарату дерматофиты. Натамицин принадлежит к группе полиеновых антибиотиков - макролидов, к которым относятся нистатин и амфотерицин В. Первоначально натамицин был выделен из *Streptomyces natalensis*. Натамицин представляет собой кристаллический порошок белого цвета, без запаха и вкуса, что делает его использование особенно приемлемым для

больных. Натамицин является очень стабильным соединением при значениях pH в пределах 4,5-9. В водных растворах натамицин проявляет амфотерные свойства; его изоэлектрическая точка находится в районе pH 6,5 [9-11].

В твердом состоянии натамицин имеет кристаллическую структуру; с точки зрения его органолептических свойств он представляет собой белый порошок без вкуса и запаха. Нарушение кристаллической структуры натамицина происходит при температуре свыше 200°C, при этом температура ниже 120°C не оказывает влияния на его антимикотическую активность, если длительность ее воздействия не превышает одного часа. Суспензию можно стерилизовать при температуре 116°C в течение 30 мин. в случае применения ее в офтальмологической практике при грибковых инфекциях. При этом активность препарата снижается лишь незначительно. Нейтральные водные суспензии можно подвергать кипячению в течение короткого времени. Последнее важно при необходимости стерилизации или автоклавирования сред, содержащих натамицин [10, 12].

Исходя из его структурной формулы, натамицин плохо растворим в воде и хорошо — в полярных органических растворителях. В частности, хорошими растворителями для натамицина являются ледяная уксусная кислота, метилпирролидон, диметилсульфоксид, глицерин и пропиленгликоль [10, 13, 11]. При этом натамицин не растворим в высших спиртах, эфирах, ароматических и алифатических углеводородах, кетонах и различных маслах [10, 13].

В сухом состоянии и в виде водной суспензии натамицин является достаточно стабильным соединением — при хранении в темном месте от +2 до +25°C в течение 2 лет потерь антимикотической активности не отмечалось [10, 13, 11]. В растворах натамицин стабилен при значениях pH 5,0—9,0, но быстро инактивируется при экстремально низких и высоких значениях [10, 13, 14]. Также быстрая инактивация натамицина происходит при воздействии ультрафиолета с длиной волны 300—350 нм, а также различных окислителей [10, 14, 15]. Наличие антиоксидантов (например, хлорофилла, аскорбиновой кислоты и т.п.) в определенной степени предохраняет натамицин от инактивации [15]. Указанные аспекты диктуют необходимость хранения препаратов натамицина в темном месте; таблетки для перорального приема должны быть покрыты оболочкой, чтобы предотвратить инактивацию в кислой среде желудка. При разработке комбинированных препаратов натамицина следует принимать во внимание физико-химические свойства каждого из компонентов — так, например, окислители несовместимы с натамицином в одной лекарственной форме.

Натамицин предназначен только для местной терапии. Препарат не всасывается из желудочно-кишечного тракта, слизистых оболочек или кожи. В исследованиях на токсичность натамицин при пероральном применении обладает низкой токсичностью. При этом LD_{50} составляет 2,73 г/кг и 4,67 г/кг у самцов и самок крыс, соответственно.

Продукты распада натамицина являются менее токсичными, чем сам препарат. При двухлетнем наблюдении за крысами, получавшими с пищей 45-60 мг натамицина в сутки, отмечены снижение потребления пищи и задержка роста животных (от совсем незначительной до умеренной). На примере двух последующих поколений крыс, не выявлено влияния натамицина на их репродуктивную способность и лактацию, хотя у молодых животных, матери которых получали вместе с пищей натамицин, отмечено уменьшение массы тела по сравнению с контрольными животными [16].

Очень важно, чтобы препараты при местном воздействии на кожные покровы не обладали сенсибилизирующим действием. Низкомолекулярные антибиотики обладают свойствами гаптенов, связываясь с белком с образованием истинного антигена. Поскольку молекула натамицина имеет только одну реакционную группу, она имеет очень небольшое сродство к белкам и связывается преимущественно с липидами. Повышенная чувствительность не наблюдалась ни у больных, получавших терапию натамицином [17], ни у специалистов, занятых в производстве препарата. При внутрикожном введении или

при нанесении на кожу провокационных доз натамицина 71 человеку ни у одного из них не было отмечено повышенной чувствительности к препарату [18]. Аллергические реакции отсутствовали также при проведении специальных проб (patch testing) у 102 больных с экземой. Применение натамицина не вызывало контактных дерматитов [19].

При длительном культивировании *Candida albicans* в присутствии натамицина в субингибирующих концентрациях не происходит отделение дочерних клеток от родительских, а образуются скопления клеток, предотвращается образование мицелия. Такие клетки не являются патогенными и при внутривенном введении мышам не могут проникать в ткани, и разрушаются. В отличие от других полиеновых антибиотиков фунгицидная активность натамицина фактически мало отличается от его фунгистатической активности [20]. Такие выводы были сделаны при проведении доклинических испытаний натамицина [21].

Широкие клинические испытания натамицина и результаты многих уже опубликованных клинических исследований свидетельствуют об уникальных и ценных свойствах этого противогрибкового препарата. Полученные данные подтверждают, что натамицин, входящий в состав препарата «Пимафуцин» ®:

• обладает широким спектром противогрибковой активности, включая как обычные патогенные, так и более экзотические микроорганизмы;

• оказывает быстрое действие, обусловленное его фунгицидной активностью;

• безопасен, фактически не имеет противопоказаний, обладает небольшим числом побочных эффектов;

• применяется при грибковых инфекциях вагины.

Считают, что «Пимафуцин»® является эффективным препаратом широкого спектра действия, применяемым в клиниках общего профиля и специализированных клиниках.

Важными характеристиками препарата являются отсутствие резистентных штаммов, а также отсутствие токсичности [21-23] .

Массовое производство препарата «Пимафуцин»® началось в 2000-х. Активно присутствует на рынке более 20 лет. В этот период он значительно проявил себя и до сих пор является одним из рекомендуемых для лечения противогрибковых заболеваний.

По отзывам пациентов и лечащих врачей к недостаткам препарата отнесли относительно высокую стоимость; малую эффективность при смешанных вагинитах и при бактериальном вагинозе (т.е., когда причиной возникновения дизбиоза во влагалище и воспаления являются не только кандиды, но и другие микроорганизмы); долгий курс применения, не способность быть препаратом первой линии при лечении кандидозного вульвовагинита (не все пациентки готовы завершить полный курс); частые рецидивы заболевания: сохранение клинических и лабораторных проявлений кандидоза после курса лечения; ощущение дискомфорта (жирности) после прекращения применения суппозиторий в течение несколько дней.

К плюсам отнесли лекарственную форму в виде мази для пациентов с грибковым поражением головки полового члена – при баланитах, баланопоститах (удовлетворительный терапевтический эффект при минимальных побочных явлениях) [24].

Сотрудниками Научно-производственного центра микробиологии и вирусологии разработан новый лекарственный препарат в форме вагинальных суппозиториев под названием «КанПроФем-АК»®, предназначенный для лечения вагинального кандидоза. Получен Патент на полезную модель Пат. РК №5056. utility model patent / А.К. Саданов и др.; опубл. 09.10.2020. Лекарственный препарат содержит в качестве активной фармацевтической субстанции оригинальный запатентованный антибиотик розеофунгин [25].

Тщательно изучив и проанализировав полученную информацию о лекарственных препаратах против вагинального кандидоза, зарегистированных на фармацевтиском рынке РК, отобраны наиболее значимые и востребованные среди потенциальных пользователей

и лечащих врачей для сравнения с разработанным новым оригинальным лекарственным препаратом «КанПроФем-АК»®. Для сравнения были отобраны препараты: «Нистатин»®, «Пимафуцин»®, «Примафунгин»®.

Активная фармацевтическая субстанция Розеофунгин является антибиотиком полиенового (карбонил-коньюгированного пентаенового) ряда, обладающий высокой противогрибковой активностью в отношении 39 видов патогенных грибов, которые включают наиболее опасные возбудители поверхностных и глубоких микозов – трихофитии, микроспории, фавуса, кандидозов, криптококкоза, споротрихоза, хромомикоза, аспергиллеза и других грибковых инфекций человека. К нему практически не развивается резистентность [26]. Штамм-продуцент антибиотика розеофунгина *Streptomyces roseoflavus var. roseofungini* AS-20.14 [27]. На лекарственную субстанцию получено регистрационное удостоверение РК-ЛС-5№023224 (включен в Государственный Реестр лекарственных средств Республики Казахстан Приказом МЗ РК от 08.09.2017 № N010335).

Установлена высокая антифунгальная активность препарата «КанПроФем-АК»® в отношении клинических штаммов возбудителей вагинального кандидоза (15 штаммов *Candida albicans, Candida krusei, Candida tropicalis, Candida glabrata, Candida parapsilosis*) (рисунок 2), что позволяет расширить номенклатуру отечественных лекарственных средств для эффективного лечения кандидозного вульвовагинита у женщин любой возрастной категории в Республике Казахстан и за его пределами.

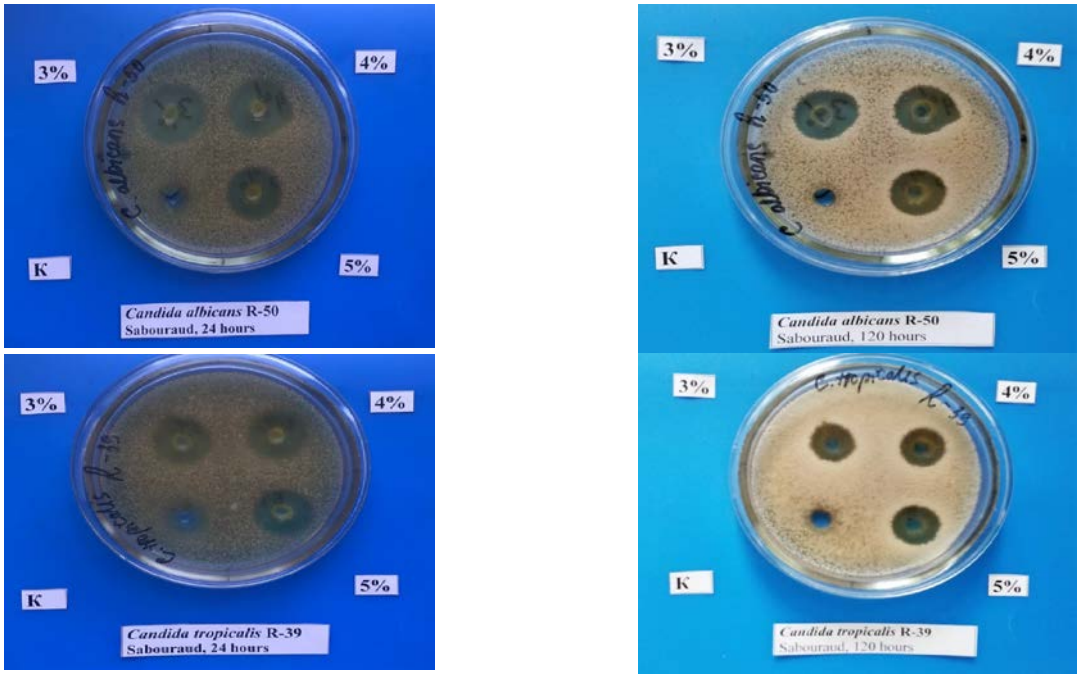


Рисунок 2 - отработка концентраций препарата «КанПроФем-АК»®.
Наблюдается полное подавление клинических штаммов возбудителей вагинального кандидоза: 24 часа; 120 часов.

Проведена фармацевтическая разработка лекарственного препарата в форме суппозиториев в соответствии с международными рекомендациями ICH Q8, разработана нормативная документация и успешно проведена валидация используемых аналитических методик, в соответствии с Государственной Фармакопеей Республики Казахстан, и действующими национальными стандартами, проведено изучение стабильности продукта, затем масштабирование на производственной площадке ТОО «Промышленная микробиология», разработан опытно-промышленный регламент, успешно проведена

валидация технологического процесса. Исследована биологическая активность разработанных составов новой лекарственной формы препарата *"in vitro"* в отношении клинических возбудителей кандидоза, подобран оптимальный состав суппозитория. Новый оригинальный лекарственный препарат вагинальные суппозитории Розеофунгин–АС® запатентован под названием «КанПроФем-АК» ®/ «CanProFem-АК» ®. Определены стабильность и биоэквивалентность новой лекарственной формы препарата *"in vitro"* в сравнении с аналогами. Разработана рациональная технология производства суппозиториев, технологическая схема и технологический регламент изготовления. Оформлена документация по фармацевтической разработке новой лекарственной формы препарата. Отобраны 12 вариантов наиболее эффективных составов суппозиторий (рисунок 3).

Изготовление опытных партий суппозиторий проводили согласно технологической схеме и технологическому регламенту изготовления, в соответствии с требованиями международных рекомендаций ICH Q9.

Стандартизацию лекарственной формы (суппозиторий) препарата «КанПроФем-АК»® и валидацию аналитических методик проводили в соответствии с требованиями Государственной Фармакопеи Республики Казахстан [28].

На первом этапе исследования биологической активности разработанных составов новой лекарственной формы препарата «КанПроФем-АК»® ,суппозиторий, «*in vitro*» в отношении клинических возбудителей кандидоза, проводили подбор оптимальной концентрации антибиотика розеофунгина в суппозиториях диско-диффузионным методом [29]. Были получены успешные результаты исследований.

Составы 1;2;10;11 с концентрацией антибиотика 2% были отобраны для исследования биоэквивалентности в течение 48 часов в сравнении с полиеновыми аналогами «Нистатин», «Пимафуцин», «Примафунгин» в форме суппозиториев. Штамм *Candida krusei R-47* наиболее чувствителен ко всем полиеновым антибиотикам. Действие суппозиторий «Примафунгин» было наименее активно. Постоянная активность на протяжении 48 часов оставалась у препарата «Нистатина». К 72 ч активность «Нистатина» начинает падать. Высокие показатели подавления роста тест-культур при концентрации 2% был у состава 11. После прекращения инкубации зоны подавления роста измеряли с точностью до 0,1 мм. Образцы тестировали в шести повторностях.

Проведены доклинические исследования раздражающего действия на кожу и на слизистую оболочку лекарственного препарата «КанПроФем-АК»®, суппозитории вагинальные, 100 мг, на экспериментальных животных» в сравнении с лекарственным препаратом «Пимафуцин»®, суппозитории вагинальные (Италия).

Изучена противогрибковая активность «КанПроФем-АК»®, суппозитории вагинальные, 100 мг, *"in vitro"* на штамме *C.albicans* (ATCC 10231) методом диффузии в агар и проведен сравнительный анализ его активности относительно лекарственного препарата «Пимафуцин»® суппозитории вагинальные 100 мг (Италия).

На основании полученных экспериментальных данных по сравнительному изучению безопасности лекарственного препарата «КанПроФем-АК»® относительно лекарственного препарата «Пимафуцин»® установлена их сопоставимая безопасность применения.

Доклинические исследования противогрибковой активности лекарственного препарата «КанПроФем-АК»® в сравнении с активностью препарата «Пимафуцин»®свидетельствует о том, что исследуемые препараты обладают практически одинаковой противогрибковой активностью в отношении штамма *Candida albicans* (ATCC 10231).



Рисунок 3 - Внешний вид суппозиториев «КанПроФем-АК»®
оптимального состава

По итогам иследовательских и экспериментальных данных получено заключение, что новый лекарственный препарат «КанПроФем-АК»®, суппозитории вагинальные, 100 мг, разработанный сотрудниками Научно-производственного центра микробиологии и вирусологии Республики Казахстан, обладает противогрибковой активностью в соответствии с заявленным спектром действия и имеет сопоставимую активность по сравнению с аналогичным препаратом «Пимафуцин»® суппозитории вагинальные, 100 мг, производства «Теммлер Италия С.р.Л.» Виа Деле Индустри, Италия.

Казахстанский препарат «КанПроФем-АК»® является отечественной разработкой новой лекарственной формы медицинского препарата для лечения вагинального кандидоза на основе оригинального антибиотика розеофунгин.

Финансирование

Работа выполнена при поддержке Комитета Науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (грант BR21882248 «Разработка и организация производства оригинальных отечественных лекарственных средств по стандартам GMP»).

Литература:

1 Silin K.A. Rasprostranenie i adgezivnaya aktivnost' gribov kandida. *Ehlektronnyj nauchnyj zhurnal APRIORI. Seriya: Estestvennye i tekhnicheskie nauki*, 2015: 4.

2 Соснина А.С. Вагинальный кандидоз (молочница) - симптомы и лечение, *Проболезни* , 2020 (https://probolezny.ru/vaginalnyy-kandidoz/)

3Карабанов И.С. Противогрибковые препараты от молочницы, *PharmZnanie*, 2023 (https://pharmznanie.ru/article/protivogribkovye-preparaty-ot-molochnitsy)

4 Марченко Е.А.Лекарственные средства для лечения вагинального кандидоза, MedAboutrme, 2021 (https://medaboutme.ru /articles/lekarstvennye _sredstva_dlya_lecheniya _ vaginal nogo _kandidoza/)

5E.N.Mahnovec Sovremennye predstavleniya o vul'vovaginal'nom kandidoze i ego terapiya GBOU VPO *«Novosibirskij gosudarstvennyj medicinskij universiteT» Klinicheskaya dermatologiya i venerologiya* 1, 2013: 9-15.

6 Chaim V. Late miscarriage and intraamniotic candidiasis in a woman with a retained intrauterine contraceptive device. *Arch Gynecol Obstet*, 1993: 253(3) - 157-60.3. (doi: 10.1007/BF02767335. PMID: 8250605)

7 McCaig L.F., McNeil M.M. Trends in prescribing for vulvovaginal candidiasis in the United States. *Pharmacoepidemiol Drug Saf*, 2005 Feb: 14(2) - 113-20 (doi: 10.1002/pds.960. PMID: 15386715)

8 Karaev Z.O. *Metodicheskie rekomendacii po klinicheskomu ispytaniyu antifungal'nykh preparatov*. Leningrad, 1989: 10-11.

9 Hamilton-Miller J.M. Chemistry and biology of the polyene macrolide antibiotics. *Bacteriol Rev.*,1973: 166-96.

10 Raab P.W. Natamycin (Pimaricin). Its properties and possibilities in medicine. *Georg Thieme Publishers*. Stuttgart, 1973: 134

11 Clark W.L., Shirk R.J., Kline E.F. Pimaricin, a new food fungistat. *In "microbial inhibitors in food". Alqvist & Wiksell*,Uppsala, 1964: 167—184.

12 Porter J.N., Wilhelm J.J., Tresner H.D. Method for the preferential isolation of actynomycetes from soil. *Appl Microbiol*,1960: 8: 174.

13 Struyk A.P., Hoette I., Drost G. Pimaricin, a new antifungal antibiotic. *Antibiot Ann* , 1957—1958: 878—884.

14 Dekker J., Ark P.A. Protection of the antibiotic pimaricin from oxidation and ultraviolet light bychlorophyllin and other compounds. *Antib Chemother*, 1959, 9: 327.

15 Posthuma J., Berends W. Energy transfer in aqueous solutions. *Biochim Biophys Acta*, 1965: 51: 392.

16 Levinskas, George J., William E. Ribelin, Boyd Shaffer C. Acute and chronic toxicity of pimaricin. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 8.1 (1966): 97-109.

17 Mosca M. *GItal Dermal*, 1978, 113: 611-618.

18 Malten K.E. *Brocades Pharma Report*, 1967.

19 Angelini G., Vena G.A., Meneghini C. L. *Allergic contact dermatitis to some medicaments. Contact Dermatitis* 12.5, 1985: 263-369.

20 Kotler-Brajtburg J. *Antimicrob Ag Chemother*, 1979 15: 716-722.

21 Броп Б.В Безопасное лечение грибковых инфекций *Яманучи*, 2004 (http: //www.medse rpuhov.ru /blizzard/RPP/M/Derma/pimafucin_pimafucort.pdf)

22 ООО Мегасофт ФармИндустрия*, информационный портал*, 200-2024 (https://www.me dprod.ru/producers/?id=103)

23Yamanuchi Pharmaceutical Co., Ltd Astellas PharmaInc. (https://www.astellas.com /en/about/history-of-yamanouchi)

24Пимафуцин, *информационный портал, протаблетки*, ООО «МедРейтинг» 20214-2024, (https://protabletky.ru/pimafucin/)

25Саданов А.К., Богоявленский А.П., Березин В.Э. *Способ получения антибиотика розеофунгин, обладающего противогрибковой и антивирусной активностью. Пат.РК№28306 Опубл.2014, Бил.№4.* (https://kzpatents.com/6-ip28306-sposob-polucheniya-antibiotika-rozeofungin-obladayushhego-protivogribkovojj-i-antivirusnojj-aktivnostyu.html)

26 В Казахстане разработан противогрибковый препарат «Розеофунгин -АС». *Информационный портал, Ассоциация международных фармацевтических производителей в Республике Казахстан.* (https://aipm.kz/ru/novosti-i-sobytiya/978-v-kazakhstane-razrabotan-protivogribkovyj-preparat-rozeofungin-as.html)

27 Sadanov A.K., Berezin V.E., Trenozhnikova L.P. *Shtamm Streptomyces roseoflavus v. roseofungini AS-20.14 - vysokoaktivnyj proizvodstvenno cennyj producent polienovogo antibiotika rozeofungin, Pat. RK № 31866.Opubl. 2017, Byul. №4.*

Документы по Фармокопее Евразийского экономического союза. (https://www.rceth.by/ru/ PharmacopoeiaEAEC/DocumentsPharmacopoeiaEAEC)

29Определение чувствительности к антимикробным препаратам Диско-диффузионный метод EUCAST, 2020: 8. (http://old.antibiotics.ru/iacmac/ru/docs/eucast/eucast-disk-diffusion-manual-8.0-rus.pdf)

IRSTI: 76.03.43, 34.27.51

A.D. MASSIRBAYEVA[1], S.D. ZHANTLESSOVA[1], M.B. YERDENBEKOVA[1],
T. DOOLOTKELDIEVA[2], A.K. SADANOV[1], B.B. BAIMAXANOVA[1], I.A. RATNIKOVA[1],
S.E. ORAZIMBET[1], E.J. SHORABAEV[1]
[1]Research and Production Center for Microbiology and Virology, Almaty, Kazakhstan
[2]Kyrgyz-Turkish Manas University, Bishkek, Kyrgyzstan
*e-mail: masirbaeva.aigerim@mail.ru

THE ROLE OF PROBIOTICS IN THE TREATMENT OF INTESTINAL INFECTIONS

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.07

Abstract

Numerous studies have proven the effectiveness of probiotics in the treatment and prevention of intestinal infections and many other diseases. The main mechanisms of action of probiotics are explained. The use of probiotics to improve gut health has been recommended for many years. Probiotics are traditionally defined as viable microorganisms that, when ingested, have a beneficial effect on the prevention and treatment of certain pathological conditions. The article analyzes the feasibility of using probiotics for the treatment of intestinal infections and other diseases. The properties of probiotics are characterized by the proven ability to treat intestinal infections, which characterizes probiotics as an immunotropic agent and distinguishes them from other immunostimulating, immunomodulatory drugs.

Keywords: probiotics, microflora, intestinal infections.

Probiotics are defined as living microorganisms that, when used, have obvious benefits for the health of the macroorganism or prevent certain painful conditions [1]. The use of probiotics should be based on carefully conducted double-blind, placebo-controlled clinical trials. Inflammation and infection in the human body are often accompanied by an imbalance of the intestinal microflora, which can cause chronic inflammatory processes and dysfunction of the intestinal barrier. Probiotic bacteria can counteract the inflammatory process by stabilizing the intestinal microbial environment and the normal functioning of the intestinal epithelial barrier, as well as enhancing the degradation of enteral antigens and altering their immunogenicity. Another explanation for the effect of stabilizing the intestine with probiotics may be an improvement in the immunological barrier of the intestine. Thus, modification of the intestinal flora in order to increase the predominance of specific non-pathogenic bacteria and, thus, changes in the intestinal environment can be used as an alternative to achieve preventive or therapeutic effects in intestinal infectious inflammatory conditions [2].

Different types of microorganisms have different effects on the gastrointestinal system, primarily due to their individual ability to attach and interact with intestinal epithelial and immune cells. Therefore, studies on the selection of probiotic microorganisms should be species-specific. Currently, criteria have been established for the selection of microorganisms included in probiotics (Table 1). [3]

The most thoroughly studied probiotic microorganisms include certain types of lactobacilli, bifidobacteria, streptococcus and yeast Saccharomyces. Probiotics can be taken either periodically for specific therapeutic or preventive indications, or regularly, on a daily basis, depending on the environment and the desired result. They can be prescribed as a medicine or dietary supplement, and can also be included in foods such as yogurt or cheese.

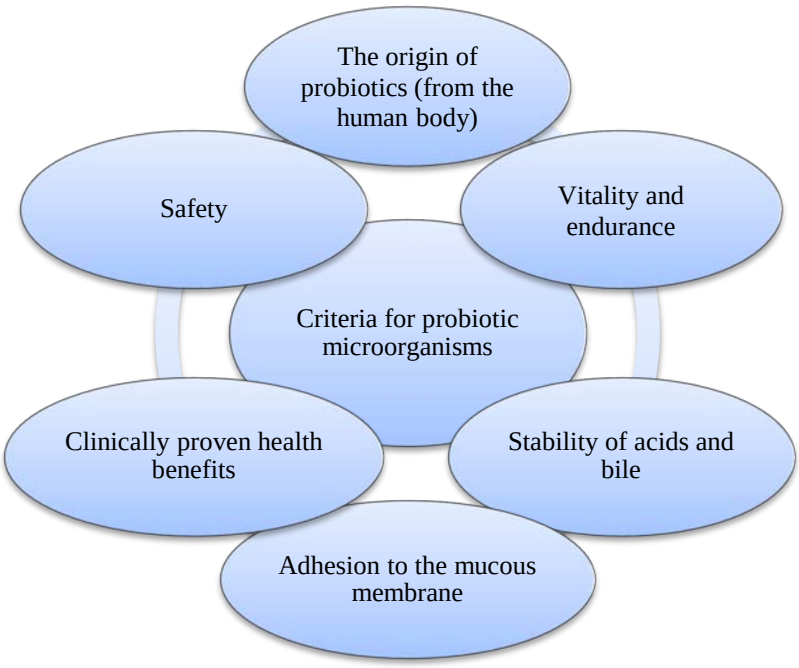


Figure 1- Criteria for probiotic microorganisms

Previously, the main conditions for the use of probiotics were considered to be non-pathogenicity and non-toxicity of microorganisms, as well as providing strains with favorable conditions in the body for food processing. In the future, the selection criteria were revised and expanded. Currently, to include healthy intestinal microflora or human mucous membranes as the main source of new probiotic strains, survival in the intestine, preservation of stability of composition and vital activity, and stability of acid and bile are also necessary.

The use of probiotics is complemented by the concept of prebiotics. Most of the prebiotics used are carbohydrate substrates that have the ability to stimulate and activate components of the normal intestinal microflora, which has a beneficial effect on the health of the macroorganism by altering the properties of the normal microflora.

The most thoroughly studied indications for the use of probiotics include the treatment or prevention of gastrointestinal infections. These include viral enteritis, some forms of bacterial enterocolitis, diarrhea caused by *Clostridium difficile*, bacterial toxigenic diarrhea, giardiasis, and non-specific or heterogeneous infections such as traveler's diarrhea and diarrhea associated with acquired human immunodeficiency syndrome (AIDS).[5]

Several studies have shown that Lactobacillus GG (LGG) reduces the duration and severity of viral diarrheal diseases [6 ,7].

It was found that *Bifidobacterium longum* and *Streptococcus thermophiles* reduce the incidence of hospital diarrhea when added to baby food in a hospital setting [8]. In this study, LGGS were prescribed to children at the onset of diarrheal disease, which led to a shorter duration of diarrhea, a lower likelihood of prolonged course, and faster discharge from the hospital [9].

In the research of Matsuzaki T. et al. *Lactobacillus casei Shirota*, first studied in Japan and found in the yogurt drink Yakult, has been shown to shorten the duration of rotavirus diarrhea when taken with standard medications [10]. Lactobacillus casei Shirota has also been tested in vitro and in animals for allergic reactions and diabetes. However, it is the only probiotic that has demonstrated clinical evidence in preventing recurrence of tumor formation in human studies of uterine and superficial bladder cancer [11]. There have been other suggestions that probiotics have a mechanism for reducing cancer risk. This was demonstrated by a study showing that the administration of LGG inhibits bacterial enzymes such as glucuronidase, which is involved in the synthesis of colon carcinogens [12]. Probiotics also seem to be effective in preventing viral

diarrhea. The rate of diarrhoeal diseases in kindergartens decreased in studies in both Finland and Brazil, when children were regularly injected with LGG [13]. A Peruvian study demonstrated a decrease in the incidence of diarrheal diseases in home-fed infants, but this effect was not observed in breastfed infants [14].

It has previously been proven that *Saccharomyces boulardii* is effective in the treatment of acute diarrhea in adults and when added to an oral rehydration solution for children [15]. It has also been used to treat infectious diarrhea associated with AIDS [16]. More recently, *L. reuteri* and *L. acidophilus* have been found to reduce the secretion of Cryptosporidium parvum oocytes from the intestine in mice with immunodeficiency [17]. LGG appears to be relatively ineffective in the treatment of bacterial diarrhea; however, Sepp et al. [18] demonstrated some efficacy in the treatment of children with shigellosis compared with treatment with trimethoprim-sulfamethoxazole. The dose-dependent effect of Lactobacillus reuteri on rotavirus diarrheal diseases has been shown. Other animal studies have been conducted with this bacterium to study intestinal infections, inflammation and immune response, but specific strains have not been identified, making it difficult to assess the reliability of the results for human health. Saccharomyces boulardii has been shown to be highly effective in the treatment of diarrhea associated with Clostridium difficile in a number of large, well-controlled clinical trials [19]. LGG appears to have comparable effects, although studies are preliminary at the moment [20].

Lactobacillus GG reduced the risk of antibiotic-related diarrhea in children by about 75% in two separate placebo-controlled studies conducted in the United States of America [21]. The preventive benefits in these studies were striking, especially in children treated with beta-lactam antibiotics such as amoxicillin. Saccharomyces boulardii has also demonstrated a beneficial effect in the prevention of antibiotic-related diarrhea in adults [22]. It is shown that as S. boulardii and LGG significantly reduce the risk of diarrhea in adults by about 50% [23].

Inflammatory diseases of the gastrointestinal tract have been studied to a much lesser extent, but they appear to be potential candidates for probiotic therapy. The obvious one is idiopathic inflammatory bowel disease, i.e. Crohn's disease or ulcerative colitis. In studies by Madsen KL et al. *Lactobacillus reuteri* has been found to normalize the appearance of lactobacilli of the colon in mice with an interleukin-10 gene deficiency, reducing the number of translocated bacteria and preventing colitis [24].

Lactobacillus plantarum 299v was found to reduce the severity of inflammatory changes in the intestine in experimental animals after administration of methotrexate [25]. These animal studies and individual reports on the benefits of certain probiotics, including *L. plantarum* 299v and LGG, have led to the development of clinical protocols [26].

The normal intestinal microflora is a metabolically active, but not yet fully explored, body defense center. The formation of a normal flora provides the host with the most serious antigenic load with a strong stimulating effect for the maturation of lymphoid tissue associated with the intestine. Although bacteria are distributed throughout the intestine, the main concentration of microorganisms and metabolic activity are found in the large intestine [27]. It is known that the oral cavity is home to a complex microflora consisting of facultative and strict anaerobes, including streptococci, bacteroids, lactobacilli and yeast. The upper parts of the intestine (stomach, duodenum and small intestine) have a sparse microflora with a content of up to 105 colony-forming units / ml.

Microbial colonization begins immediately after birth [27]. The vaginal and intestinal flora of the mother is a source of bacteria that colonize the intestines of the newborn. Colonization is also determined by contact with the environment. At this stage, the dominant strains are facultative anaerobes such as *Enterobacteria*, *E. coli* and *Lactobacilli*. Diet can have a significant effect on the composition and activity of the intestinal microflora. It is believed that breastfed infants are naturally dominated by bifidobacteria, while artificially fed infants have a more complex microflora profile similar to adults, with enterobacteria, lactobacilli, bacteroids, clostridium, bifidobacteria and streptococcus [28]. After weaning, the composition of the microflora gradually changes, becoming similar to the composition of the microflora of an adult.

The gastrointestinal barrier controls the transport of antigens in the intestine. The integrity of the intestinal mucosa protection depends on a number of factors both in the intestinal lumen and in the mucous membrane. As a rule, these factors limit colonization by pathogens, eliminate foreign antigens that have penetrated the mucous membrane, and regulate antigen-specific immune responses [29]. To cause infection or inflammation, the antigen must bypass the protective mechanisms of the intestine.

Most of the antigens encountered are already processed upon contact with the surface of the mucous membrane. Proteases of intestinal bacteria destroy the antigenic structure, which is an important step in introducing sensitivity to food antigens. Regulatory processes in the intestinal immune response occur in various lymphoid compartments of the intestine: mesenteric lymph nodes, Peyer's plaques, isolated lymphatic follicles and isolated T-lymphocytes in the epithelium and its own plate, as well as in secretory areas. Secretory IgA antibodies in the intestine are part of the overall immune system of the mucous membranes, which includes the respiratory tract, lacrimal, salivary and mammary glands. Consequently, the immune response initiated in the lymphoid tissue associated with the intestine can affect immune responses on other mucosal surfaces. Oral tolerance consists in immunological hyperactivity to intestinal antigens, which is a distinctive feature of intestinal immune regulation [30]. It is believed that the mechanisms of oral tolerance are applicable not only to food antigens, but also to the local microflora. Tolerance is mediated by suppression of the lymphocyte response and clonal deletion and/or anergy at the periphery. Two specific populations of regulatory lymphocytes have been identified: regulatory T lymphocytes and T helper cells [27]. They function by producing suppressive cytokines, including interleukin 10 and transforming growth factor. It has been suggested that one of the main mechanisms by which lymphoid tissue associated with the intestine maintains homeostasis is local regulation by cytokines. This homeostasis allows to maintain tolerance to the massive effects of antigens encountered by the intestinal tract: oral tolerance to food antigens and healthy interactions between the resident intestinal microflora and the epithelium. Homeostasis requires effective intestinal barrier functions and epithelial integrity [31].

The demonstration that antigen transport is enhanced in the absence of intestinal microflora indicates that intestinal microflora is an important component of the intestinal protective barrier. The initial formation of the composition of the intestinal microflora is considered a key factor determining the development of normal intestinal barrier functions [32]. By influencing the development of intestinal-associated lymphoid tissue at an early age, the intestinal microflora directs the regulation of systemic and local immune response, including hyperactivity to antigens derived from microorganisms and food products.

The role of intestinal microflora in inducing tolerance to oral administration of antigens has been studied in experimental mice deprived of natural microflora. Unlike control animals, these individuals had a decreased tendency to a systemic immune response, for example, the production of IgE antibodies, with oral administration of the antigen. The decrease in oral tolerance was the result of a lack of intestinal flora. The deviant IgE response could be corrected by restoring the microflora at the neonatal stage, but not at a later age [33]. Colonization was associated with the maturation of humoral immune mechanisms, especially circulating cells secreting IgA and IgM, which reflects the dependence of the regulation of the immune response of the mucous membrane on the normal intestinal microflora [34].

In some inflammatory conditions associated with the intestine, the interaction of a healthy host with microbes is disrupted, and inflammation is accompanied by an imbalance of the intestinal microflora in such a way that resident bacteria can induce an immune response.

Duchamp and his colleagues [35] have shown that healthy people are tolerant to their own microflora, and that such tolerance is impaired in patients with inflammatory bowel diseases. Changes in the intestinal microflora have been reported in patients with rheumatoid arthritis and allergic diseases, suggesting that the normal intestinal microflora is an ecosystem that reacts to inflammation in the intestine and other parts of the human body.

Preliminary data from human studies indicate a dependence on intestinal microflora and impaired regulation of the immune response to their antigenic structures in the development of inflammatory conditions associated with the intestine, ranging from allergies to autoimmune and inflammatory diseases [36].

Modification of the intestinal microflora is a relatively new method of treating gastrointestinal disorders. Probiotic therapy with proven health effects is a new approach. Ingestion of large amounts of viable bacteria requires a safety guarantee. Currently used probiotics are evaluated as safe for use in fermented foods, but in general, the safety assessment of microbiological food additives is not well developed [37].

Some studies suggest that the intestine is a source of diseases caused by bacteria that usually live in the intestinal lumen but sometimes translocate through the intestinal epithelium [38]. Since more adhesive strains have been selected for use as probiotics, the ability to survive in gastric conditions and adhere to the intestinal epithelium may entail a risk of translocation. Translocation may increase due to intestinal barrier dysfunction caused by inflammation. However, effective probiotics may have properties that counteract epithelial damage and therefore reduce the risk of translocation.

An acceptable source is the normal intestinal microflora of a healthy person. Probiotics are selected from representatives of the normal healthy intestinal microflora, most of which belong to lactobacilli or bifidobacteria. Bifidobacteria and lactic acid bacteria rarely cause diseases as a result of translocation, and their safety indicators in fermented dairy products, vegetables, and cereals are excellent. Their natural presence on all surfaces of human mucous membranes also indicates their safety.

Probiotics provide ample opportunities for the treatment of gastrointestinal diseases. Although the number of probiotic microorganisms studied is still small, research in this direction is actively underway, and it is likely that many new probiotics with various therapeutic benefits will soon be discovered. Obviously, their use should be regulated by carefully conducted double-blind, placebo-controlled clinical trials on specific types of organisms.

As knowledge about probiotics improves, more attention needs to be paid to properly ensuring the delivery of species-specific living organisms.

Recent studies have expanded the definition of probiotics, as it has been shown that genetically modified microbes and non-viable microbes can equally have such potential. However, normalization of the properties of an unbalanced local microflora by specific strains of healthy intestinal microflora is the justification for probiotic therapy. Oral administration of probiotics has been shown to strengthen various intestinal defenses: immune isolation, immune elimination, and immune regulation. Probiotics also stimulate the body's nonspecific resistance to microbial pathogens and thus help in their destruction. The current use of probiotics is to reduce the risk of diseases associated with intestinal barrier dysfunction. The probiotic properties of the strains vary; different bacteria or their modifications, as well as components, have certain areas of adhesion, immunological effects and different effects on healthy and inflamed mucous membranes. In the future, such specific properties of probiotics can be used in the development of preventive and therapeutic measures specific to specific diseases.

Funding

The work was carried out within the framework of program-targeted funding of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan (IRN BR21882248 «Development and organization of original domestic medicines production according to GMP standards» (2023-2025).

References:

1 Vanderhoof J.A. (ed) Probiotics, Prebiotics and Child Health: Where are We Going? *Journal of International Medical Research,* 2000, 95 : 1–27 (doi.org/10.1177/147323000403200201)

2 Kaila M., Isolauri E., Sepp E., et al. Fecal recovery of a human Lactobacillus strain (ATCC 53103) during dietary therapy of rotavirus diarrhea in infants. *Bioscience Microflora* 1998 V 17(2), 149-151. (jstage.jst.go.jp/article/bifidus1996/17/2/17_2_149/_pdf/-char/ja)

3 Rautanen T. E., Vesikari T. Management of acute diarrhea with low osmolarity oral rehydration solutions and Lactobacillus GG. *Arch Dis Child.* 1998 Aug; 79(2):157-60. (doi:10.1136/adc.79.2.157)

4 Ya-Ting Li, Hong Xu, Jian-Zhong Ye, Wen-Rui Wu, Ding Shi, Dai-Qiong Fang, Yang Liu, Lan-Juan Li Efficacy of Lactobacillus rhamnosus GG in treatment of acute pediatric diarrhea: A systematic review with meta-analysis. *World J Gastroenterol* . 2019 Sep 7;25(33):4999-5016. (doi:10.3748/wjg.v25.i33.4999.)

5 Oberhelman R.A., Gilman R.H., Sheen P., et al. A placebo-controlled trial of Lactobacillus GG to prevent diarrhea in undernourished Peruvian children. *J Pediatr* . 1999 Jan;134(1):15-20. (doi 10.1016/s0022-3476(99)70366-5)

6 Vanderhoof J.A. Probiotics and intestinal inflammatory disorders in infants and children. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2000 Feb 30 2:34-8 (doi: 10.1097/00005176-200000002-00006)

7 Guandalini S. Probiotics in the treatment of diarrheal disease in children. *Journal of Clinical Gastroenterology* 2011 November/December, 45:149-153 (doi.org/10.1097/mcg.0b013e3182257e98)

8 Saavedra J.M., Bauman NA, Oung I, et al. Feeding of Bifidobacterium bifidum and Streptococcus thermophilus to infants in hospital for prevention of diarrhea and shedding of rotavirus. *Lancet* 1994, 344:1046–1049. (doi.org/10.1016/s0140-6736(94)91708-6)

9 Guandalini S., Pensabene L., Zikri M.A., et al. Lactobacillus GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: a multicenter European trial. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 30(1): 54-60,. (doi.org/10.1097/00005176-200001000-00018)

10 Matsuzaki T. Immunomodulation by treatment with Lactobacillus casei strain Shirota. *International Journal of Food Microbiology* 1998 May 26, V 41(2):133-140 (doi.org/10.1016/s0168-1605(98)00046-4)

11 Aso Y., Akaza I.I., Kotake T., et al. Preventive effect of a Lactobacillus casei preparation on the recurrence of superficial bladder cancer in a doubleblind trial. *The BLP Study Group. Edur Urol* 1995, 27:104–109. (doi.org/10.1159/000475138)

12 Goldin B.R., Gualtieri L.J., Moore R.P. The effect of Lactobacillus GG on the initiation and promotion of DMH-induced intestinal tumors in the rat. *Nutr Cancer* 1996, 25:97–204. (doi.org/10.1080/01635589609514442)

13 Hatakka K., Savilahti E., Saxelin M., et al. Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: double blind, randomised trial. *BMJ* 2001; 322 (doi.org/10.1136/bmj.322.7298.1327)

14 Sheen P., Oberhelman R.A., Gilmari R.H., et al. Short report: a placebocontrolled study of Lactobacillus GG colonization in one- to three-year-old Peruvian children. *Am J Trop Med Hyg* 1995, 52:389–392. (doi.org/10.4269/ajtmh.1995.52.389)

15 Chapoy P. Treatment of acute infantile diarrhea: Controlled trial of Saccharomyces boulardii. *Ann Pediatr* (Paris) 1985, 32:561–563. (pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3896108/)

16 Saint-Marc T., Blehaut H., Touraine J.L. AIDS-related diarrhea: a double blind trial of Saccharomyces boulardii. *Semaine Des Hopitaux* 1995, 71:735–741. (pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11362510/)

17 Alak J.I., Wolf B.W., Mdurvwa E.G., et al. Supplementation of Lactobacillus reuteri or L. acidophilus reduced intestinal shedding of cryptosporidium parvum oocysts in immunodeficient C57BL/6 mice. *Cell Mol Biol* 1999, 45:855–863. (pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10541481/)

18 B. R. Goldin and S. L. Gorbach Developing Probiotics as Food and Drugs: Scientific and Regulatory Challenges. *Oxford University Press* Feb. 1, 2008, V46(2) 96-100 (jstor.org/stable/40307433)

19 McFarland L.V., Surawicz C.M., Greenberg R.N., et al. A randomized placebocontrolled trial of Saccharomyces boulardii in combination with standard antibiotics for Clostridium difficile disease. *JAMA* 1994, 271:1913–1918 (dx.doi.org/10.1001/jama.271.24.1913)

20 Gorbach S.L., Chang T-W, Goldin G. Successful treatment of relapsing Clostridium difficile colitis with Lactobacillus GG. *Lance*t 1987, 2:1519. (doi.org/10.1016/s0140-6736(87)92646-8)

21 Vanderhoof J.A., Whitney D.B., Antonson D.L., et al. Lactobacillus GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. *The Journal of Pediatrics* 1999, 135:564–568. (doi.org/10.1016/s0022-3476(99)70053-3)

22 McFarland L.V., Surawicz C.M., Greenberg R.N., et al.Prevention of β-lactamassociated diarrhea by Saccharomyces boulardii compared with placebo. *Am J Gastroenterol* 1995, 90:439–448. (pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7872284)

23 Kollaritsch H.H., Kremsner P.., Wiedermann G, et al.Prevention of traveler's diarrhea: comparison of different non-antibiotic preparations. *Trav Med Int* 1989, 9–17. (epistemonikos.org/en/documents/48dcb727175962d03a2d93c03aaac160633c6e3a)

24 Madsen K.L., Doyle J.S., Jewell L.D., et al. Lactobacillus species prevents colitis in interleukin 10 gene-deficient mice. *Gastroenterology* 1999, 116:1107–1114. (doi.org/10.1016/s0016-5085(99)70013-2)

25 Pedone C.A., Bernabeu A.O., Postaire E.R., et al. The effect of supplementation with milk fermented by Lactobacillus casei (strain DN-114 001) on acute diarrhea in children attending day care centers. *Int J Clin Pract* 1999, 53:179–184. (pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10665128/)

26 Di Benedetto L.; Raia V.; Pastore A.; Albano F.; Spagnuolo M.; De Vizia B.; Guarino A. Lactobacillus casei strain GG and adjunctive treatment to children with cystic fibrosis. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition* 1998, 26:542. (journals.lww.com/jpgn/fulltext/1998/05000/lactobacillus_casei_strain_gg_as_adjunctive.33.aspx)

27 Benno Ju., Micuoka T. Razvitie mikroflory kishechnika u cheloveka i zhivotnyh. *Russkij Medicinskij Zhurnal «RMZh»* 1986; 5:13-25. (rmj.ru/articles/gastroenterologiya/Znachenie_probiotikov_i_prebiotikov_v_regulyacii_kishechnoy_mikroflory/)

28 N.I. Ursova. Probioticheskie shtammy laktobacill kak faktor kompleksnoj terapii i profilaktiki raznyh sostojanij i zabolevanij u detej. *Farmateka* 2014; 11: 61-7. (pharmateca.ru/ru/archive/article/29823)

29 Metel'skij S.T. Izuchenie pishhevarenija i vsasyvanija v klinike. *Poliklinika* 2014 1 3-9. (elibrary.ru/item.asp?id=21631534)

30 Vajner H.L., Van Ris E.P. Tolerantnost' slizistoj obolochki. *Immunoleptik* 1999;69:3–4. (ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1867676/pdf/v050piii54.pdf)

31 Tynkkynen S, Singh K, Varmanen P: Vancomycin resistance factor in Lactobacillus rhamnosus GG in relation to enterococcal Vancomycin resistance (van) genes. *Int J Food Microbiol* 1998, 41:195–204. (doi.org/10.1016/s0168-1605(98)00051-8)

32 Huper L.V., Vong M.H., Telin A. i dr. Molekuljarnyj analiz vzaimootnoshenij kommensal'nyh mikroorganizmov-hozjaev v kishechnike. *Nauka* 2001;291:881–4. (doi.org/10.1126/science.291.5505.881)

33 Naidu AS, Bidlack WR, Clemens RA: Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Crit Rev Food Sci Nutr* 1999, 38:13–126. (doi.org/10.1080/10408699991279187)

34 . Grenlund M.M., Lehtonen O.P., Jeerola E. i dr. Narushenija kishechnoj mikrobioty u detej, rozhdennyh putem kesareva. *Neonatologija: novosti, mnenija, obuchenie*. 2021. 9(2): 24-32. (https://doi.org/10.33029/2308-2402-2021-9-2-24-32)

35 . Djushman R., Kajzer I., German Je. i dr. Tolerantnost' sushhestvuet k rezidentnoj kishechnoj flore, no narushaetsja pri aktivnom vospalenii kishechnika zabolevanie (VZK). *Klinicheskij opyt Immunol* 1995; 102: 448-55. (doi.org/10.1111/j.1365-2249.1995.tb03836.x)

36 Kaila M, Isolauri E, Soppi E, et al.: Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human Lactobacillus strain. *Pediatr Res* 1992, 32:141–144. (doi.org/10.1203/00006450-199208000-00002)

37 Jung LK: Lactobacillus GG augments the immune response to typhoid vaccination: a double-blinded, placebo-controlled study. *FASEB* J 1999, 13: A872. (eurekamag.com/research/035/205/035205630.php)

38 MacFie J, O'Boyle C, Mitchell C, et al. Gut origin of sepsis: a prospective study investigating associations between bacterial translocation, gastric microflora, and septic morbidity. *Gut* 1999;45:223–8 (doi.org/10.1136/gut.45.2.223)

А.Д. МАСИРБАЕВА[1], С.Д. ЖАНТЛЕСОВА[1], М.Б. ЕРДЕНБЕКОВА[1],
Т. ДООЛОТКЕЛЬДИЕВА[2], А.К. САДАНОВ[1], Б.Б. БАЙМАХАНОВА[1],
И.А. РАТНИКОВА[1], С.Э. ОРАЗЫМБЕТ[1], Е.Ж. ШОРАБАЕВ[1]
[1]Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы, Алматы, Қазақстан
[2]Қырғыз-Түрік Университеті Манас, Бішкек, Қырғызстан
*e-mail: masirbaeva.aigerim@mail.ru

ПРОБИОТИКТЕРДІҢ ІШЕК ИНФЕКЦИЯЛАРЫН ЕМДЕУДЕГІ РӨЛІ

Түйін

Көптеген зерттеулер пробиотиктердің ішек инфекцияларын және басқа да көптеген ауруларды емдеуде және алдын алуда тиімділігін дәлелденді. Пробиотиктердің негізгі әсер ету механизмдері түсіндірілді. Ішектің денсаулығын жақсарту үшін пробиотиктерді қолдану көптеген жылдар бойы ұсынылып келеді. Пробиотиктер дәстүрлі түрде өміршең микроорганизмдер ретінде анықталады, оларды ішке қабылданған кезде белгілі бір патологиялық жағдайлардың алдын алуға және емдеуге пайдалы әсер етеді. Мақалада ішек инфекцияларын және басқа ауруларды емдеу үшін пробиотиктерді қолданудың орындылығын талдайды. Пробиотиктердің қасиеттері пробиотиктерді иммунотропты агент ретінде сипаттайтын және оларды басқа иммуностимуляторлық, иммуномодуляциялық препараттардан ажыратын ішек инфекцияларын емдеудің дәлелденген қабілетімен сипатталады.

Кілтті сөздер: пробиотиктер, микрофлора, ішек инфекциялары.

МРНТИ :76.03.43, 34.27.51

А.Д. МАСИРБАЕВА[1], С.Д. ЖАНТЛЕСОВА[1], М.Б. ЕРДЕНБЕКОВА[1],
Т. ДООЛОТКЕЛЬДИЕВА[2], А.К. САДАНОВ[1], Б.Б. БАЙМАХАНОВА[1],
И.А. РАТНИКОВА[1],С.Э. ОРАЗЫМБЕТ[1], Е.Ж. ШОРАБАЕВ[1]
[1]Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии, Алматы, Казахстан
[2]Кыргызко-Турецкий Университет Манас, Бишкек, Кыргызстан
*e-mail: masirbaeva.aigerim@mail.ru

РОЛЬ ПРОБИОТИКОВ В ЛЕЧЕНИИ КИШЕЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.07

Аннотация

Многочисленные исследования доказали эффективность пробиотиков в лечении и профилактике кишечных инфекций и многих других заболеваний. Выяснены основные механизмы действия пробиотиков. Использование пробиотиков для улучшения здоровья кишечника предлагалось уже много лет. Пробиотики традиционно определяются как жизнеспособные микроорганизмы, которые при приеме внутрь оказывают благоприятное воздействие на профилактику и лечение конкретных патологических состояний. В обзоре анализируется целесообразность применения пробиотиков для лечения кишечных инфекций и других заболеваний. Описываются свойства пробиотиков с доказанной способностью лечения кишечных инфекций, которые характеризуют пробиотики как иммунотропные средства и отличают их от других иммуностимулирующих, иммуномодулирующих препаратов.

Ключевые слова: пробиотики, микрофлора, кишечные инфекции.

Пробиотики определяются как живые микроорганизмы, которые при применении оказывают очевидную пользу для здоровья макроорганизма или предотвращают определенные болезненные состояния [1]. Использование пробиотиков должно основываться на тщательно проведенных двойных слепых плацебо-контролируемых клинических исследованиях. Воспаления и инфекции в организме человека часто

сопровождаются дисбалансом кишечной микрофлоры, что может вызывать хронические воспалительные процессы и дисфункции кишечного барьера. Пробиотические бактерии могут противодействовать воспалительному процессу, стабилизируя микробную среду кишечника и нормальное функционирование эпителиального барьера кишечника, а также усиливая деградацию энтеральных антигенов и изменяя их иммуногенность. Другим объяснением эффекта стабилизации кишечника с помощью пробиотиков может быть улучшение иммунологического барьера кишечника. Таким образом, модификация кишечной флоры с целью увеличения преобладания специфических непатогенных бактерий и, таким образом, изменения кишечной среды может быть использована в качестве альтернативы для достижения профилактических или терапевтических эффектов при кишечных инфекционных воспалительных состояниях [2].

Различные виды микроорганизмов оказывают неодинаковое воздействие на желудочно-кишечную систему, в первую очередь, из-за их индивидуальной способности прикрепляться и взаимодействовать с эпителиальными и иммунными клетками кишечника. Следовательно, исследования по подбору пробиотических микроорганизмов должны быть видоспецифичны. В настоящее время установлены критерии для отбора микроорганизмов, входящих в состав пробиотиков (рисунок 1) [3].

К наиболее тщательно изученным пробиотическим микроорганизмам относятся определенные виды лактобактерий, бифидобактерий, стрептококков и дрожжей *Saccharomyces*. Пробиотики можно принимать либо периодически по конкретным терапевтическим или профилактическим показаниям, либо регулярно, на ежедневной основе, в зависимости от окружающей среды и желаемого результата. Они могут назначаться в качестве лекарственного средства или пищевой добавки, а также могут быть включены в состав пищевых продуктов, таких как йогурт или сыр.



Рисунок 1- Критерии отбора пробиотических микроорганизмов

Ранее главными условиями применения пробиотиков считались непатогенность и нетоксичность микроорганизмов, а также обеспечение штаммам благоприятных условий в организме для обработки пищевых продуктов. В дальнейшем критерии отбора были пересмотрены и расширены. В настоящее время для того, чтобы включить здоровую микрофлору кишечника или слизистых оболочек человека в качестве основного источника новых пробиотических штаммов также необходимы выживаемость в

кишечнике, сохранение стабильности состава и жизнедеятельности, стабильность кислоты и желчи.

Применение пробиотиков дополнено понятием пребиотиков. В большинстве своем используемые пребиотики - это углеводные субстраты, обладающие способностью стимулировать и активизировать компоненты нормальной микрофлоры кишечника, что оказывает благотворное влияние на здоровье макроорганизма путем изменения свойств нормальной микрофлоры.

Наиболее тщательно изученными показаниями к применению пробиотиков являются лечение или профилактика желудочно-кишечных инфекций. К ним относятся вирусный энтерит, некоторые формы бактериального энтероколита, диарея, вызванная *Clostridium difficile*, бактериальная токсигенная диарея, лямблиоз и неспецифические или гетерогенные инфекции, такие как диарея путешественников и диарея, связанная с синдромом приобретенного иммунодефицита человека (СПИД) [5].

В нескольких исследованиях было показано, что *Lactobacillus* GG (LGG) сокращает продолжительность и тяжесть вирусных диарейных заболеваний [6 ,7].

Было обнаружено, что *Bifidobacterium longum* и *Streptococcus thermophiles* снижают частоту госпитальной диареи при добавлении в детское питание в условиях стационара [8]. В этом исследовании LGG назначались детям в начале диарейного заболевания, что приводило к более короткой продолжительности диареи, меньшей вероятности длительного течения и более быстрой выписке из больницы [9].

В исследованиях Matsuzaki T. et al. показано, что *Lactobacillus casei Shirota*, впервые изученная в Японии и обнаруженная в йогуртовом напитке Yakult, сокращает продолжительность ротавирусной диареи при приеме вместе со стандартными лекарственными средствами [10]. *Lactobacillus casei Shirota* также прошла тестирование in vitro и на животных на аллергические реакции и диабет. Однако это единственный пробиотик, который продемонстрировал клинические доказательства в предотвращении рецидива опухолевого образования в ходе исследования рака матки и поверхностного мочевого пузыря на людях [11]. Были и другие предположения о том, что пробиотики обладают механизмом снижения риска развития рака. Это было продемонстрировано исследованием, показавшим, что введение LGG ингибирует бактериальные ферменты, такие как глюкуронидаза, которая участвует в синтезе канцерогенов толстой кишки [12]. Пробиотики также, по-видимому, эффективны в профилактике вирусной диареи. Уровень диарейных заболеваний в детских садах снизился в исследованиях как в Финляндии, так и Бразилии, когда детям регулярно вводили LGG [13]. А Перуанское исследование продемонстрировало снижение частоты диарейных заболеваний у малышей, находящихся на домашнем искусственном вскармливании, тогда как у младенцев, находящихся на грудном вскармливании, этот эффект не наблюдался [14].

Ранее было доказано, что *Saccharomyces boulardii* эффективен при лечении острой диареи у взрослых и при добавлении в раствор для пероральной регидратации для детей [15]. Он также использовался для лечения инфекционной диареи, связанной со СПИДом [16]. Совсем недавно было выявлено, что *L. reuteri* и *L. acidophilus* уменьшают выделение ооцитов *Cryptosporidium parvum* из кишечника у мышей с иммунодефицитом [17]. LGG представляется относительно неэффективным при лечении бактериальной диареи; однако *Sepp* et al. [18] продемонстрировали некоторую эффективность при лечении детей с шигеллезом по сравнению с лечением с помощью триметоприм-сульфаметоксазола. Показано дозозависимое воздействие *Lactobacillus reuteri* на ротавирусные диарейные заболевания. С этой бактерией были проведены другие исследования на животных по изучению кишечных инфекций, воспаления и иммунного ответа, но конкретные штаммы не были идентифицированы, что затрудняет оценку достоверности результатов для здоровья человека. Было показано, что *Saccharomyces boulardii* весьма эффективен при лечении диареи, ассоциированной с *Clostridium difficile*, в ряде крупных хорошо контролируемых клинических исследований [19]. LGG, по-видимому, обладает

сопоставимыми эффектами, хотя на данный момент исследования являются предварительными [20].

Lactobacillus GG снижал риск диареи у детей примерно на 75%, связанной с приемом антибиотиков, в двух отдельных плацебо-контролируемых исследованиях, проведенных в Соединенных Штатах Америки [21]. Профилактические преимущества в этих исследованиях были поразительными, особенно у детей, получавших бета-лактамные антибиотики, такие как амоксициллин. *Saccharomyces boulardii* также продемонстрировал благоприятный эффект в профилактике диареи, связанной с антибиотиками, у взрослых [22]. Показано, что как *S. boulardii*, так и *LGG,* значительно снижают риск развития диареи у взрослых, примерно на 50% [23].

Воспалительные заболевания желудочно-кишечного тракта изучены в гораздо меньшей степени, но, по-видимому, являются потенциальными кандидатами для пробиотической терапии. Очевидным является идиопатическое воспалительное заболевание кишечника, то есть болезнь Крона или язвенный колит. В исследованиях Madsen KL et al. установлено, что *Lactobacillus reuteri* нормализует вид лактобацилл толстой кишки у мышей с дефицитом гена интерлейкина-10, уменьшая количество транслоцированных бактерий и предотвращая колит [24].

Обнаружено, что *Lactobacillus plantarum* 299v уменьшает выраженность воспалительных изменений в кишечнике у экспериментальных животных после введения метотрексата [25]. Эти исследования на животных и отдельные сообщения о пользе некоторых пробиотиков, включая *L. plantarum* 299v и LGG, привели к разработке клинических протоколов [26].

Нормальная микрофлора кишечника является метаболически активным, но пока еще не до конца исследованным, центром защиты организма. Формирование нормальной флоры обеспечивает хозяину наиболее серьезную антигенную нагрузку с сильным стимулирующим эффектом для созревания лимфоидной ткани, ассоциированной с кишечником. Хотя бактерии распределены по всему кишечнику, основная концентрация микроорганизмов и метаболическая активность обнаруживаются в толстом кишечнике [27]. Известно, что в ротовой полости обитает сложная микрофлора, состоящая из факультативных и строгих анаэробов, включая стрептококки, бактероиды, лактобациллы и дрожжи. Верхние отделы кишечника (желудок, двенадцатиперстная кишка и тонкая кишка) имеют разреженную микрофлору с содержанием до 10^5 колониеобразующих единиц/мл.

Микробная колонизация начинается сразу после рождения [27]. Вагинальная и кишечная флора матери является источником бактерий, колонизирующих кишечник новорожденного. Колонизация также определяется контактом с окружающей средой. На этой стадии доминирующими штаммами являются факультативные анаэробы, такие как энтеробактерии, кишечная палочка и лактобациллы. Диета может оказывать существенное влияние на состав и активность микрофлоры кишечника. Считается, что у младенцев, находящихся на грудном вскармливании, естественным образом преобладают бифидобактерии, в то время как младенцы, находящиеся на искусственном вскармливании, имеют более сложный профиль микрофлоры, сходный со взрослой, с энтеробактериями, лактобациллами, бактероидами, клостридиями, бифидобактериями и стрептококками [28]. После отлучения от груди состав микрофлоры постепенно меняется, становясь похожим на состав микрофлоры взрослого человека.

Желудочно-кишечный барьер контролирует транспорт антигенов в кишечнике. Целостность защиты слизистой оболочки кишечника зависит от ряда факторов как в просвете кишечника, так и в слизистой оболочке. Как правило, эти факторы ограничивают колонизацию патогенами, устраняют чужеродные антигены, проникшие в слизистую оболочку, и регулируют антиген специфические иммунные реакции [29]. Чтобы вызвать инфекцию или воспаление, антиген должен обойти защитные механизмы кишечника.

Большинство встречающихся антигенов уже перерабатываются при контакте с поверхностью слизистой оболочки. Протеазы кишечных бактерий разрушают антигенную структуру, что является важным шагом во внедрении чувствительности к пищевым антигенам. Регуляторные процессы в иммунном ответе кишечника происходят в различных лимфоидных компартментах кишечника: брыжеечных лимфатических узлах, пейеровых бляшках, изолированных лимфатических фолликулах и изолированных Т-лимфоцитах в эпителии и собственной пластинке, а также в секреторных участках. Секреторный IgA антитела в кишечнике являются частью общей иммунной системы слизистых оболочек, которая включает дыхательные пути, слезные, слюнные и молочные железы. Следовательно, иммунный ответ, инициируемый в лимфоидной ткани, связанной с кишечником, может влиять на иммунные реакции на других поверхностях слизистой оболочки. Пероральная толерантность заключается в иммунологической гипореактивности к антигенам, встречающимся кишечным путем, что является отличительным признаком иммунной регуляции кишечника [30]. Считается, что механизмы пероральной толерантности применимы не только к пищевым антигенам, но и к местной микрофлоре. Толерантность опосредуется подавлением реакции лимфоцитов и клональной делецией и/или анергией на периферии. Были идентифицированы две специфические популяции регуляторных лимфоцитов: регуляторные Т-лимфоциты и Т-хелперные клетки [27]. Они функционируют путем выработки супрессивных цитокинов, включая интерлейкин 10 и трансформирующий фактор роста. Было высказано предположение, что одним из основных механизмов, с помощью которого лимфоидная ткань, связанная с кишечником, поддерживает гомеостаз, является локальная регуляция цитокинами. Этот гомеостаз позволяет поддерживать толерантность к массированному воздействию антигенов, с которым сталкивается кишечный тракт: пероральная толерантность к пищевым антигенам и здоровые взаимодействия между резидентной микрофлорой кишечника и эпителием. Гомеостаз требует эффективных барьерных функций кишечника и целостности эпителия [31].

Демонстрация того, что в отсутствие кишечной микрофлоры транспорт антигенов усиливается, указывает на то, что кишечная микрофлора является важным компонентом защитного барьера кишечника. Первоначальное формирование состава кишечной микрофлоры считается ключевым фактором, определяющим развитие нормальных барьерных функций кишечника [32]. Влияя на развитие ассоциированной с кишечником лимфоидной ткани в раннем возрасте, микрофлора кишечника направляет регуляцию системного и местного иммунного ответа, включая гипореактивность к антигенам, полученным из микроорганизмов, и пищевым продуктам.

Роль кишечной микрофлоры в индукции толерантности к пероральному введению антигенов была исследована у подопытных мышей, лишенных естественной микрофлоры. В отличие от контрольных животных, у этих особей снижалась склонность к системному иммунному ответу, например выработке антител IgE, при пероральном введении антигена. Снижение переносимости при приеме внутрь было результатом отсутствия кишечной флоры. Отклоняющийся IgE-ответ можно было скорректировать путем восстановления микрофлоры на неонатальном этапе, но не в более позднем возрасте [33]. Колонизация была связана с созреванием гуморальных иммунных механизмов, особенно циркулирующих клетки, секретирующие IgA и IgM,6 что отражает зависимость регуляции иммунного ответа слизистой оболочки от нормальной микрофлоры кишечника. [34].

При некоторых воспалительных состояниях, связанных с кишечником, нарушается взаимодействие здорового хозяина с микробами, и воспаление сопровождается дисбалансом кишечной микрофлоры таким образом, что резидентные бактерии могут индуцировать иммунный ответ.

Дюшман и его коллеги [35] показали, что здоровые люди толерантны к своей собственной микрофлоре, и что такая толерантность нарушается у пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника. Сообщается об изменении микрофлоры

кишечника у пациентов с ревматоидным артритом и аллергическими заболеваниями, подразумевается, что нормальная микрофлора кишечника представляет собой экосистему, реагирующую на воспаление в кишечнике и других частях человеческого организма.

Предварительные данные исследований на людях указывают на зависимость от микрофлоры кишечника и нарушения регуляции иммунного ответа на их антигенные структуры в развитии воспалительных состояний, связанных с кишечником, начиная от аллергии и заканчивая аутоиммунными и воспалительными заболеваниями [36].

Модификация микрофлоры кишечника является относительно новым методом лечения желудочно-кишечных расстройств. Пробиотическая терапия с доказанным воздействием на здоровье является новым подходом. Прием большого количества жизнеспособных бактерий требует гарантии безопасности. Применяемые в настоящее время пробиотики оценены как безопасные для использования в ферментированных пищевых продуктах, но в целом оценка безопасности микробиологических пищевых добавок разработана недостаточно хорошо [37].

Некоторые исследования предполагают, что кишечник является источником заболеваний, вызываемых бактериями, обычно обитающими в просвете кишечника, но иногда транслоцирующими через кишечный эпителий [38]. Поскольку для использования в качестве пробиотиков было отобрано больше адгезивных штаммов, способность выживать в желудочных условиях и прилипать к кишечному эпителию может повлечь за собой риск транслокации. Транслокация может усиливаться из-за дисфункции кишечного барьера, вызванной воспалением. Однако эффективные пробиотики могут обладать свойствами, которые противодействуют повреждению эпителия и, следовательно, снижают риск транслокации.

Приемлемым источником является нормальная микрофлора кишечника здорового человека. Пробиотики отбираются из представителей нормальной здоровой микрофлоры кишечника, большинство из которых принадлежат к лактобактериям или бифидобактериям. Бифидобактерии и молочнокислые бактерии редко вызывают заболевания в результате транслокации, и их показатели безопасности в кисломолочных продуктах, овощах и злаках превосходны. Их естественное присутствие на всех поверхностях слизистых оболочек человека также свидетельствует об их безопасности.

Пробиотики предоставляют широкие возможности для лечения желудочно-кишечных заболеваний. Хотя количество изученных пробиотических микроорганизмов еще невелико, исследования в этом направлении активно проводятся, и вполне вероятно, что скоро будет открыто много новых пробиотиков с различными терапевтическими преимуществами. Очевидно, что их использование должно регулироваться тщательно проведенными двойными слепыми плацебо-контролируемыми клиническими исследованиями на конкретных видах организмов.

По мере совершенствования знаний о пробиотиках необходимо уделять больше внимания правильному обеспечению доставки живых организмов, специфичных для конкретного вида.

Недавние исследования расширили определение пробиотиков, поскольку было показано, что генетически модифицированные микробы и нежизнеспособные микробы могут в равной степени обладать таким потенциалом. Однако нормализация свойств несбалансированной местной микрофлоры специфическими штаммами здоровой микрофлоры кишечника является обоснованием пробиотической терапии. Было показано, что пероральное введение пробиотиков способствует укреплению различных линий защиты кишечника: иммунную изоляцию, иммунную элиминацию и иммунную регуляцию. Пробиотики также стимулируют неспецифическую резистентность организма к микробным патогенам и, таким образом, помогают в их уничтожении. Применение пробиотиков в настоящее время заключается в снижении риска заболеваний, связанных с дисфункцией кишечного барьера. Пробиотические свойства штаммов различаются; разные бактерии или их модификации, а также компоненты имеют определенные участки

прилипания, иммунологические эффекты и различное действие на здоровую и воспаленную слизистую оболочку. В будущем такие специфические свойства пробиотиков могут быть использованы при разработке профилактических и терапевтических мероприятий, характерных для конкретных заболеваний.

Финансирование

Работа выполнена в рамках программно-целевого финансирования Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (ИРН BR21882248 «Разработка и организация производства оригинальных отечественных лекарственных средств по стандартам GMP» (2023-2025 гг.).

Литература:

1 Vanderhoof J.A. (ed) Probiotics, Prebiotics and Child Health: Where are We Going? *Journal of International Medical Research,* 2000, 95 : 1–27 (doi.org/10.1177/147323000403200201)

2 Kaila M., Isolauri E., Sepp E., et al. Fecal recovery of a human Lactobacillus strain (ATCC 53103) during dietary therapy of rotavirus diarrhea in infants. *Bioscience Microflora* 1998 V 17(2), 149-151. (jstage.jst.go.jp/article/bifidus1996/17/2/17_2_149/_pdf/-char/ja)

3 Rautanen T., Isolauri E., Vesikari T. Management of acute diarrhea with low osmolarity oral rehydration solutions and Lactobacillus GG. *Arch Dis Child.* 1998 Aug; 79(2):157-60. (doi:10.1136/adc.79.2.157)

4 Ya-Ting Li, Hong Xu, Jian-Zhong Ye, Wen-Rui Wu, Ding Shi, Dai-Qiong Fang, Yang Liu, Lan-Juan Li Efficacy of Lactobacillus rhamnosus GG in treatment of acute pediatric diarrhea: A systematic review with meta-analysis. *World J Gastroenterol* . 2019 Sep 7;25(33):4999-5016. (doi:10.3748/wjg.v25.i33.4999.)

5 Oberhelman R.A., Gilman R.H., Sheen P., et al. A placebo-controlled trial of Lactobacillus GG to prevent diarrhea in undernourished Peruvian children. *J Pediatr* . 1999 Jan;134(1):15-20. (doi 10.1016/s0022-3476(99)70366-5)

6 Vanderhoof J.A. Probiotics and intestinal inflammatory disorders in infants and children. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2000 Feb 30 2:34-8 (doi: 10.1097/00005176-200000002-00006)

7 Guandalini S. Probiotics in the treatment of diarrheal disease in children. *Journal of Clinical Gastroenterology* 2011 November/December, 45:149-153 (doi.org/10.1097/mcg.0b013e3182257e98)

8 Saavedra J.M., Bauman N.A., Oung I, et al. Feeding of Bifidobacterium bifidum and Streptococcus thermophilus to infants in hospital for prevention of diarrhea and shedding of rotavirus. *Lancet* 1994, 344:1046–1049. (doi.org/10.1016/s0140-6736(94)91708-6)

9 Guandalini S., Pensabene L., Zikri M.A., et al. Lactobacillus GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: a multicenter European trial. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 30(1): 54-60,. (doi.org/10.1097/00005176-200001000-00018)

10 Matsuzaki T. Immunomodulation by treatment with Lactobacillus casei strain Shirota. *International Journal of Food Microbiology* 1998 May 26, V 41(2):133-140 (doi.org/10.1016/s0168-1605(98)00046-4)

11 Aso Y., Akaza I.I., Kotake T., et al. Preventive effect of a Lactobacillus casei preparation on the recurrence of superficial bladder cancer in a doubleblind trial. *The BLP Study Group. Edur Urol* 1995, 27:104–109. (doi.org/10.1159/000475138)

12 Goldin B.R., Gualtieri L.J., Moore R.P. The effect of Lactobacillus GG on the initiation and promotion of DMH-induced intestinal tumors in the rat. *Nutr Cancer* 1996, 25:97–204. (doi.org/10.1080/01635589609514442)

13 Hatakka K., Savilahti E., Saxelin M., et al. Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: double blind, randomised trial. *BMJ* 2001; 322 (doi.org/10.1136/bmj.322.7298.1327)

14 Sheen P., Oberhelman R.A., Gilmari R.H., et al. Short report: a placebocontrolled study of Lactobacillus GG colonization in one- to three-year-old Peruvian children. *Am J Trop Med Hyg* 1995, 52:389–392. (doi.org/10.4269/ajtmh.1995.52.389)

15 Chapoy P. Treatment of acute infantile diarrhea: Controlled trial of Saccharomyces boulardii. *Ann Pediatr* (Paris) 1985, 32:561–563. (pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3896108/)

16 Saint-Marc T., Blehaut H., Touraine J.L. AIDS-related diarrhea: a double blind trial of Saccharomyces boulardii. *Semaine Des Hopitaux* 1995, 71:735–741. (pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11362510/)

17 Alak J.I., Wolf B.W., Mdurvwa E.G., et al. Supplementation of Lactobacillus reuteri or L. acidophilus reduced intestinal shedding of cryptosporidium parvum oocysts in immunodeficient C57BL/6 mice. *Cell Mol Biol* 1999, 45:855–863. (pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10541481/)

18 B. R. Goldin and S. L. Gorbach Developing Probiotics as Food and Drugs: Scientific and Regulatory Challenges. *Oxford University Press* Feb. 1, 2008, V46(2) 96-100 (jstor.org/stable/40307433)

19 McFarland L.V., Surawicz C.M.., Greenberg R.N., et al. A randomized placebocontrolled trial of Saccharomyces boulardii in combination with standard antibiotics for Clostridium difficile disease. *JAMA* 1994, 271:1913–1918 (dx.doi.org/10.1001/jama.271.24.1913)

20 Gorbach S.L., Chang T-W, Goldin G. Successful treatment of relapsing Clostridium difficile colitis with Lactobacillus GG. *Lance*t 1987, 2:1519. (doi.org/10.1016/s0140-6736(87)92646-8)

21 Vanderhoof J.A., Whitney D.B., Antonson D.L., et al.: Lactobacillus GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. *The Journal of Pediatrics* 1999, 135:564–568. (doi.org/10.1016/s0022-3476(99)70053-3)

22 McFarland L.V., Surawicz C.M., Greenberg R.N., et al.: Prevention of β-lactamassociated diarrhea by Saccharomyces boulardii compared with placebo. *Am J Gastroenterol* 1995, 90:439–448. (pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7872284)

23 Kollaritsch H.H., Kremsner P., Wiedermann G., et al.: Prevention of traveler's diarrhea: comparison of different non-antibiotic preparations. *Trav Med Int* 1989, 9–17. (epistemonikos.org/en/documents/48dcb727175962d03a2d93c03aaac160633c6e3a)

24 Madsen K.L., Doyle J.S., Jewell L.D., et al.: Lactobacillus species prevents colitis in interleukin 10 gene-deficient mice. *Gastroenterology* 1999, 116:1107–1114. (doi.org/10.1016/s0016-5085(99)70013-2)

25 Pedone C.A., Bernabeu A.O.., Postaire E.R., et al. The effect of supplementation with milk fermented by Lactobacillus casei (strain DN-114 001) on acute diarrhea in children attending day care centers. *Int J Clin Pract* 1999, 53:179–184. (pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10665128/)

26 Di Benedetto L.; Raia V.; Pastore A.; Albano F.; Spagnuolo M.; De Vizia B.; Guarino A. Lactobacillus casei strain GG and adjunctive treatment to children with cystic fibrosis. *Journal of Pediatric Gastroenterology & Nutrition* 1998, 26:542. (journals.lww.com/jpgn/fulltext/1998/05000/lactobacillus_casei_strain_gg_as_adjunctive.33.aspx)

27 Бенно Ю., Мицуока Т. Развитие микрофлоры кишечника у человека и животных. *Русский Медицинский Журнал «РМЖ»* 1986; 5:13-25. (rmj.ru/articles/gastroenterologiya/Znachenie_probiotikov_i_prebiotikov_v_regulyacii_kishechnoy_mikroflory/)

28 Н.И. Урсова. Пробиотические штаммы лактобацилл как фактор комплексной терапии и профилактики разных состояний и заболеваний у детей. *Фарматека* 2014; 11: 61-7. (pharmateca.ru/ru/archive/article/29823)

29 Метельский С.Т. Изучение пищеварения и всасывания в клинике. *Поликлиника* 2014 1 3-9. (elibrary.ru/item.asp?id=21631534)

30 Вайнер Х.Л., Ван Рис Е.П. Толерантность слизистой оболочки. Иммунолептик 1999;69:3–4. (ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1867676/pdf/v050piii54.pdf)

31 Tynkkynen S, Singh K, Varmanen P: Vancomycin resistance factor in Lactobacillus rhamnosus GG in relation to enterococcal Vancomycin resistance (van) genes. *Int J Food Microbiol* 1998, 41:195–204. (doi.org/10.1016/s0168-1605(98)00051-8)

32 Хупер Л.В., Вонг М.Х., Телин А. и др. Молекулярный анализ взаимоотношений комменсальных микроорганизмов-хозяев в кишечнике. *Наука* 2001;291:881–4. (doi.org/10.1126/science.291.5505.881)

33 Naidu A.S., Bidlack W.R., Clemens R.A.: Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Crit Rev Food Sci Nutr* 1999, 38:13–126. (doi.org/10.1080/10408699991279187)

34 Гренлунд М.М., Лехтонен О.П., Эерола Е. и др. Нарушения кишечной микробиоты у детей, рожденных путем кесарева. *Неонатология: новости, мнения, обучение*. 2021. 9(2): 24-32. (https://doi.org/10.33029/2308-2402-2021-9-2-24-32)

35 Дюшман Р., Кайзер И., Герман Э. и др. Толерантность существует к резидентной кишечной флоре, но нарушается при активном воспалении кишечника заболевание (ВЗК). *Клинический опыт Immunol* 1995; 102: 448-55. (doi.org/10.1111/j.1365-2249.1995.tb03836.x)

36 Kaila M., Isolauri E., Soppi E., et al. Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human Lactobacillus strain. *Pediatr Res* 1992, 32:141–144. (doi.org/10.1203/00006450-199208000-00002)

37 Jung L.K. Lactobacillus GG augments the immune response to typhoid vaccination: a double-blinded, placebo-controlled study. *FASEB* J 1999, 13: A872. (eurekamag.com/research/035/205/035205630.php)

38 MacFie J., O'Boyle C., Mitchell C., et al. Gut origin of sepsis: a prospective study investigating associations between bacterial translocation, gastric microflora, and septic morbidity. *Gut* 1999;45:223–8 (doi.org/10.1136/gut.45.2.223)

IRSTI: 34.35.17

S.T. DAUGALIYEVA[1*], A.T. DAUGALIYEVA[2], S. PELETTO[3], A.E. YELUBAYEVA[1], K.T. AMIROVA[1], A. KAPAR[1], A.I. ABITI[1]
[1]Research and Production Center for Microbiology and Virology, Almaty, Kazakhstan
[2]Kazakh Research Institute for livestock and Fodder Production, Almaty, Kazakhstan
[3]Experimental Institute for Animal Prevention of Piedmont, Liguria and Valle d'Aosta, via Bologna, Turin, Italy
*e-mail: saule.daugalieva@mail.ru

DETERMINATION OF THE FLORAL COMPOSITION OF HONEY BY METHODS OF PALYNOLOGICAL ANALYSIS AND METABARCODING OF ECOLOGICAL DNA

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.08

Abstract

Global climate change on Earth has a significant impact on various populations of living organisms. In recent years, bee populations have been declining in all countries of the world. The main reasons for this phenomenon: the use of chemicals in crop production, urbanization and sowing of vast territories with monocultures, the widespread use of GMO plants, climate change, pathogens and bee diseases.

Determining the botanical composition of honey is an urgent task in the study of bee ecology. Data in the form of taxonomic characteristics of the floral composition of honey can be used to develop measures to protect bee populations, determine the medicinal value, improve the quality and production of honey. The traditional approach to studying the plant composition of honey is palynological analysis of pollen based on microscopic examination, which is labor-intensive, time-consuming and requires special palynological knowledge. The development of next-generation sequencing methods has made it possible to use the amplicon metabarcoding method to determine the floral composition of honey at the gene level. The article describes methods for determining the botanical composition of honey using the classical palynological method and using metabarcoding of environmental DNA of honey, and describes their advantages and disadvantages.

Keywords: honey, bees, metabarcoding, palynological analysis.

The rapid decline of bee populations and the associated impacts on plant biodiversity is a global problem. According to the World Bee Fund, in the United States over the past decades the number of bee colonies has decreased from 6 to 4.5 million (30-35% of bee colonies die out every year), in Russia - from 4.3 to 3.09 million [1]. In Europe, 20% of bee families are lost every year; the situation is similar in Latin America and China [2]. The number of honey bees is also declining in Kazakhstan. According to statistics, one Kazakhstani eats only 10 grams of honey per month. This is 20 times less than what residents of the European Union consume [3].

According to the UN, bees are disappearing 8 times faster than other animals, and if this trend continues, then by 2035 there will be no bees left on the planet. The death of bees could lead to the extinction of thousands of plant species, which could lead to starvation of people. The range of plant products for people and livestock will decrease. The food will become monotonous.

Beekeeping, being a branch of agriculture, provides humanity with one third of the food consumed. The problem of the disappearance of bees is of great social importance, since the decline in the bee population poses a threat to the food security of mankind. According to the Food and Agriculture Organization of the United Nations, production of pollination-dependent crops has increased by 300% over the past 50 years. About 85% of plants grown by humans and 90% of wild ones need pollination. Lack of pollination can lead to a decrease in plant diversity. Maintaining bee populations is necessary to preserve plant biodiversity and feed for people and

animals. In addition to honey, bees produce products used in various industries. Preservation of bees is necessary for healthcare, cosmetics industry, food production, etc. Beekeeping is a source of income for many people, especially in rural areas. Understanding which plants pollinators use is important for planning conservation efforts by providing appropriate floral resources to prevent bee loss.

The reasons for the decline in the bee population are: pesticides, climate change, landscape of crops (seeding areas under monoculture, ornamental and GMO plants), pathogens and parasites of bees [4]. Since 2000, the phenomenon of “bee colony destruction syndrome” has been observed, when bees leave the hives en masse and do not return, that is, worker honeybees leave the hives forever, leaving behind queens, food supplies and nurse bees [5]. The reasons for this phenomenon have not yet been clarified still.

One of the factors in the decline in the number of wild and cultivated bees is the lack of floral resources and poor nutrition. Sowing monocultures makes the diet of bees poorer and more monotonous [6]. The landscape of arable crops that we need for food production causes restrictions on the nutrition of bees [7]. Urbanization and development of suburban areas are robbing bees of their foraging areas. The main part of ornamental plants in urban and suburban areas cannot serve as a food source for bees [8].

Honeybees and bee products are bioindicators of pollutants, such as heavy metals and pesticides, and allow us to track changes in agricultural intensification, productivity, and ecology [9]. Quantitative and qualitative assessment of plant species that are eaten by bees gives an idea of the state of their nutrition and patterns of use of the surrounding landscape to preserve their population [10].

A generally accepted method for determining the plant composition of honey is microscopic analysis of pollen or palynological analysis. Palynological analysis is a research method that allows to determine the taxonomic affiliation of plants based on the morphological characteristics of pollen grains. Melisopalynological analysis studies the composition of pollen in honey and allows to reliably diagnose the botanical and geographical origin of honey and other bee products [11-14]. The effectiveness of palynological analysis is due to the large number of pollen grains with characteristic features in honey samples, which makes it possible to determine the taxonomic affiliation of the plants from which the honey was obtained. The undoubted advantage of the method is its low cost and the use of a minimum amount of equipment (centrifuge, microscope). The disadvantage of the method is that some plant species have similar pollen grain morphology, which makes accurate botanical identification difficult. In addition, traditional approaches based on microscopic observation of pollen are labor-intensive, time-consuming, and lack practitioners with specialized knowledge in palynology [15,16].

One of the alternative solutions to this issue is the use of DNA metabarcoding method. The DNA used to study the floral composition of honey is classified as environmental DNA. eDNA is genetic material isolated from environmental samples [17]. The use of eDNA to study the genetic structure of populations allows one to reconstruct their history, assess their current state, and predict future prospects, which is necessary for planning environmental measures [18]. Environmental DNA of honey contains traces of DNA from food plants, bee bacteria and hive pathogens. Analysis of eDNA of honey makes it possible to determine the plant biodiversity of honey and the influence of ecosystems on its composition [19 - 23].

The proliferation of NGS (next generation sequencing) has facilitated the use of metabarcoding to study the taxonomic composition of samples based on unique DNA sequences [15]. For example, to determine the taxonomic composition of the bacterial community, the 16S ribosomal gene is used as a genetic marker [24]. To assess plant diversity, the plastid genes ribulose bisphosphate carboxylase (rbcL) and maturase K (matK), the chloroplast marker trnL and ITS are used. The universality of rbcL primers is 100%, and matK – 35% [25]. The rbcL barcode is effective in identifying the botanical origin of honey with a probability of 99 to 100% [26]. The use of a combination of ITS2 and rbcL markers provides a reliable determination of the geographical origin of honey [27].

Identification of nectar-bearing plants also can be used to determine species falsification of honey, which is difficult to detect. By the plant composition of honey, can determine the type, authenticity, quality and origin of honey. An experimental study of 85 monofloral honey samples showed that 72 were consistent with the label claims and 13 were not [28]. Tomonori Matsuzawa et al., in an eDNA analysis of 14 types of honey sold in supermarkets, found discrepancies between the plants listed on the labels and the species whose DNA was most prominent in the sample [29]. When comparing 75 samples of honey from apiaries and store-bought honey using bacterial 16S gene metabarcoding, differences in alpha and beta diversity of microbial communities were found. In particular, contaminant bacteria dominated the microbiota of store-bought honey samples, while lactic acid bacteria predominated in samples from apiaries [29].

The advantage of the metabarcoding method is the larger sample size and the detection of pollen present in low quantities. Metabarcoding allows for more and more reliable identification of plant taxa [20,30,31]. Thanks to metabarcoding, it is possible to find out the geographical origin and bacterial composition of honey, and to conduct a comparative analysis of the food supply of bees of different populations [26,32,33]. The disadvantage of this method is the high cost, labor-intensive sample preparation, and the need for data processing using special programs.

Thus, we can conclude that both palynological and molecular genetic methods make it possible to determine the floral composition of honey, but metabarcoding of individual genes provides more accurate and reliable information.

Conclusion

Studying the decline in bee populations in nature is a pressing environmental problem. One of the methods for solving this issue is to determine the botanical composition of honey. It is necessary for assessing the food preferences of bees, the efficiency of plant pollination, and monitoring climate change. Thanks to knowledge of the foraging preferences of bees and analysis of their decline, recommendations can be made for crop rotation in bee habitats.

The main methods for determining the biodiversity of honey are classical palynological analysis, and well as more modern DNA metabarcoding analysis, based on the determination of molecular genetic markers of the present plants in honey. Multilocus metabarcoding using a combination of ITS2 and rbcL is a reliable method for determining the floral composition and geographic origin of honey, as it can detect DNA from rare pollen grains and identify plants down to the species level.

Funding

The work was carried out with financial support from the Science Committee of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan (grant No. AP19676294).

References:

1 V mire vymirajut pchjoly. Kak jeto povlijaet na chelovechestvo i chto mozhno sdelat'? (https://sberegiplanetu.ru/publications/v-mire-vymiraiut-pchely-kak-eto-povliiaet-nachelo vechestvo-i-chto-mozhno-sdelat)

2 Pchelinyj kollaps. (http:// www.futurible.space/ru/winners/96/)

3 Chislennost' medonosnyh pchjol sokrashhaetsja v Kazahstane. (https://24.kz/ru/tv-projects/agrolife/item/566646-chislennost-medonosnykh-pchjol-krash chaetsya-v-kazakhstane-agrolife)

4 Subotic S., Boddicker A.M., Nguyen V.M., Rivers J., Briles C.E., Mosier A.C. Honey bee microbiome associated with different hive and sample types over a honey production season. *PLOS ONE*, 2019, 8 (doi.org/10.1371/journal.pone.0223834)

5 Kimberly A. Colony Collapse Disorder and Its Impact on the Economy. March 4, 2021. (https://www.thebalancemoney.com/bee-colony-collapse-disorder-facts-and-economic-impact-3305815)

6 Clair A., Zhang G, Dolezal A.G., O'Neal M.E., and Toth A.L. Diversified Farming in a Monoculture Landscape: Effects on Honey Bee Health and Wild Bee Communities. *Environmental*

Entomology, 2020, 49(3): 753–764 (doi:10.1093/ee/nvaa031)

7 Silliman M.R., Schürch R., Malone S., Taylor S.V., Couvillon M.J. Row crop fields provide mid-summer forage for honey bees. *Ecology and Evolution*, 2022, 12:8979 (doi.org/10.1002/ece3.8979)

8 Sponsler D.B., Grozinger C.M., Richardson R.T., Nurse A., Brough D., Patch H.M., Stoner K.A. A screening-level assessment of the pollinator-attractiveness of ornamental nursery stock using a honey bee foraging assay. *Scientific Reports*, 2020,10:831 (doi.org/10.1038/s41598-020-57858-2)

9 Papa G., Maier R., Durazzo A., Lucarini M., Karabagias I.K., Plutino M., Bianchetto E., Aromolo R., Pignatti G., Ambrogio A., Pellecchia M. and Negri I. The Honey Bee Apis mellifera: An Insect at the Interface between Human and Ecosystem Health. *Biology*, 2022, 11:233 (doi.org/10.3390/biology11020233)

10 Oliver A.E., Newbold L.K., Gweon H.S., Read D.S., Woodcock B.A., Pywell R.F. Integration of DNA extraction, metabarcoding and an informatics pipeline to underpin a national citizen science honey monitoring scheme. *MethodsX*, 2021, 8:101303. (doi.org/10.1016/j.mex.2021.101303)

11 Jamwal R. and Mattu V.K. Melissopalynological Determination of Pollen Density and Botanical Origin of Autumn Honeys of Kullu Hills, Himachal Pradesh, India. *Indian Journal of Agricultural Research*, 2022, 56(4):381-388. (doi: 10.18805/IJARe.A-5605)

12 Shakoori Z., Mehrabian A., Minai D., Salmanpour F., Khajoei N.F. Assessing the quality of bee honey on the basis of melissopalynology as well as chemical analysis. *PLoS ONE*, 2023,18(8):289702 (doi.org/ 10.1371/journal.pone.0289702)

13 Pospiech M., Javurková Z., Hrabec P., Cížková H., Titera D., Štarha P., Ljasovská S., Kružík V., Podskalská T., Bednár J. et al. Physico-Chemical and Melissopalynological Characterization of Czech Honey. *Appl. Sci*. 2021, 11:4989 (doi.org/10.3390/app11114989)

14 Tulu D., Aleme M., Mengistu G., Bogale A., Bezabeh A., Mendesil E. Melissopalynological analysis and floral spectra of *Apis mellifera scutellata* Lepeletier bees in different agroecologies of southwest Ethiopia. *Heliyon*, 2023, 9:16047 (doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16047)

15 Laha R.C., De Mandal S., Ralte L., Ralte L., Kumar N.S., Gurusubramanian G., Satishkumar R., Mugasimangalam R. and Laha N. *AMB Express*, 2017, 7:132. (doi 10.1186/s13568-017-0429-7)

16 Bell K.L., de Vere N., Keller A., Richardson R.T., Gous A., Burgess K.S., and Brosi B.J. Pollen DNA barcoding: current applications and future Prospects. *Genome*, 2016, 59: 629–640 (doi.org/10.1139/gen-2015-0200)

17 Thomsen P.F., Willerslev E. Environmental DNA – an emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological Conservation*, 2015, 183:4-18 (doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.019)

18 Pinahina D.V., Chekunova E.M. DNK okruzhajushhej sredy: istorija izuchenija, sovremennye i perspektivnye napravlenija v fundamental'nyh i prikladnyh issledovanijah. Ecological genetics, 2020, 18(4) (doi.org/10.17816/ecogen25900)

19 Matsuzawa T., Kohsaka R. and Uchiyama Y. Application of Environmental DNA: Honey Bee behavior and Ecosystems for Sustainable Beekeeping. *IntechOpen*, 2020, 5 (doi: 10.5772/intechopen.92717 www.intechopen.com/chapters/72529)

20 Milla L., Sniderman K., Lines R., Mousavi-Derazmahalleh M., Encinas-Viso F. Pollen DNA metabarcoding identifies regional provenance and high plant diversity in Australian honey. *Ecology and Evolution*, 2021, 11: 8683 – 8698 (doi: 10.1002/ece3.7679)

21 Dolezal A.G., St. Clair A.L., Ge Zhang, Toth A.L. and O'Neal M.E. Native habitat mitigates feast–famine conditions faced by honey bees in an agricultural landscape. *PNAS*, 2019, December 10, vol. 116, 50:25147–25155 (doi/10.1073/pnas.1912801116)

22 Richardson R.T., Lin C.H., Sponsler D.B., Quijia J.O., Goodell K., and Johnson R.M. Application of ITS2 Metabarcoding to Determine the Provenance of Pollen Collected by Honey Bees in an Agroecosystem. *Application in Plant Biocseienec*, 2015, January (doi.org/10.3732/apps.1400066)

23 Potter C., de Vere N., Jones L.E., Ford C.R., Hegarty M.J., Hodder K.H., Diaz A., Franklin E. Pollen metabarcoding reveals broad and species-specific resource use by urban bees. *PeerJ*, 2019.7:5999 (doi 10.7717/peerj.5999)

24 Daugalieva S.T., Daugalieva A.T., Ashanin A.I., Errali B.B. Vlijanie raciona na produktivnost' bychkov kazahskoj belogolovoj porody i koncentraciju arhej v mikrobiome zheludochno-kishechnogo trakta. Mikrobiologija zhəne virusologija, 2023, №1 (40) (doi: 10.53729/MV-AS.2023.01.15)

25 Maloukh L., Kumarappan A., Jarrar M., Salehi J., El-wakil H., Rajya L.T. Discriminatory power of rbcL barcode locus for authentication of some of United Arab Emirates (UAE) native plants. *Biotech*,

2017, 7:144 (doi 10.1007/s13205-017-07-461)

26 Murthy M.K., Khandayataray P., Ralte L., Laha R. and Samal D. Identification of plant species in multi flower honey by using Ribulose-Bisphosphate carboxylase gene (RBC L) coding region as barcode marker, Mizoram, Northeast India: An Indo: Burma hotspot region. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 2019, 7(3): 1475-1483. P-ISSN: 2349-6800. https://www.entomol journal. com/archives/2019/vol7issue3/PartY/7-3-264-389.pdf

27 Khansaritoreh E., Salmaki Y., Ramezani E., Azirani T.A., Keller A., Neumann K., Alizadeh K., Zarre S., Beckh G., Behling H. Employing DNA metabarcoding to determine the geographical origin of honey. *Heliyon*, 2020, 6 (doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05596)

28 Beltramo C., Cerutti F., Brusa F., Mogliotti P., Garrone A., Squadrone S., Acutis P.L., Peletto S. Exploring the botanical composition of polyfloral and monofloral honeys through DNA metabarcoding. *Food Control*, 2021, 128:108175 (doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108175)

29 Balzana S., Carraroa L., Merlantia R., Lucatelloa L., Capolongoa F., Fontanaa F., Novellia E., Larini I., Vitulo N., Cardazzo B. Microbial metabarcoding highlights different bacterial and fungal populations in honey samples from local beekeepers and market in northeastern Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 2020, 334:108806 (doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108806)

30 Hawkins J., de Vere N., Griffith A., Ford C.R., Allainguillaume J., Hegarty M.J., Baillie L., Adams-Groom B. Using DNA Metabarcoding to Identify the Floral Composition of Honey: A New Tool for Investigating Honey Bee Foraging Preferences. *PLOS ONE*, 2015, August 26 (doi:10.1371/journal.pone.0134735)

31 Milla L., Schmidt-Lebuhn A., Bovill J., Encinas-Viso F. Monitoring of honey bee floral resources with pollen DNA metabarcoding as a complementary tool to vegetation surveys. *Ecological Solutions and Evidence*, 2022, 3:12120 (doi.org/10.1002/2688-8319.12120)

32 Wirta H., Abrego N., Miller K., Roslin T. and Vesterinen E. DNA traces the origin of honey by identifying plants, bacteria and fungi. *Scientifc Reports*, 2021, 11:4798 (doi.org/10.1038/s41598-021-84174-0)

33 Namin S.M., Kim M.J., Son M. & Jung C. Honey DNA metabarcoding revealed foraging resource partitioning between Korean native and introduced honey bees (Hymenoptera Apidae). *Scientifc Reports*, 2022, 12:14394 (doi.org/10.1038/s41598-022-18465-5)

С.Т. ДӘУҒАЛИЕВА[1*], А.Т. ДӘУҒАЛИЕВА[2], С. ПЕЛЕТТО[3], А.Е. ЕЛУБАЕВА[1], Қ.Т. ӘМІРОВА[1], А. ҚАПАР [1], А.И. ӘБІТІ[1]

[1]Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы, Алматы, Казахстан

[2]Қазақ мал шаруашылығы және жемшөп өндірісі ғылыми-зерттеу институты, Алматы, Қазақстан

[3]Пьемонт, Лигурия және Валле-д'Аоста жануарларының алдын алу эксперименттік институты, Болонья, Турин, Италия

[*]e-mail: saule.daugalieva@mail.ru

ЭКОЛОГИЯЛЫҚ ДНҚ-НЫ ПАЛИНОЛОГИЯЛЫҚ ТАЛДАУ ЖӘНЕ МЕТАБАРКОДТАУ АРҚЫЛЫ БАЛДЫҢ ФЛОРАЛЫҚ ҚҰРАМЫН АНЫҚТАУ

Түйін

Жер бетіндегі жаһандық климаттың өзгеруі тірі организмдердің әртүрлі популяцияларына айтарлықтай әсер етеді. Соңғы жылдары әлемнің барлық елдерінде ара популяциясы азайып келеді. Бұл құбылыстың негізгі себептері: өсімдік шаруашылығында химиялық заттарды қолдану, мономәдениеттері бар кең-байтақ аумақтарды урбанизациялау және егу, гендік модификацияланған ағза (ГМА) өсімдіктерін кеңінен пайдалану, климаттың өзгеруі, ауру қоздырғыштары мен ара аурулары. Балдың ботаникалық құрамын анықтау ара экологиясын зерттеудің өзекті мәселесі болып табылады. Балдың флоралық құрамының таксономиялық сипаттамасы түріндегі мәліметтерді ара популяциясын қорғау, емдік құндылығын анықтау, балдың сапасы мен өнімін жақсарту шараларын әзірлеу үшін пайдалануға болады. Балдың өсімдік құрамын зерттеудің дәстүрлі тәсілі - микроскопиялық зерттеуге негізделген тозаңды палинологиялық талдау, ол көп еңбекті, көп уақытты қажет етеді және арнайы палинологиялық

білімді қажет етеді. Келесі ұрпақты секвенирлеу әдістерінің дамуы гендік деңгейде балдың флоралық құрамын анықтау үшін ампликондық метабаркодтау әдісін қолдануға мүмкіндік берді. Мақалада балдың ботаникалық құрамын классикалық палинологиялық әдіспен және балдың экологиялық ДНҚ метабаркодтауымен анықтау әдістері сипатталып, олардың артықшылықтары мен кемшіліктері сипатталған.

Кілтті сөздер: бал, аралар, метабаркодтау, палинологиялық талдау.

МРНТИ: 34.35.17

С.Т. ДАУГАЛИЕВА[1*], А.Т. ДАУГАЛИЕВА[2], S. PELETTO[3], А.Е. ЕЛУБАЕВА[1], Қ.Т. ӘМІРОВА[1], А. КАПАР[1], А.И. ӘБІТІ[1]

[1]Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии, Алматы, Казахстан

[2]Казахский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства, Алматы, Казахстан

[3]Экспериментальный зоопрофилактический институт Пьемонта, Лигурии и Валле д'Аоста, и Болоньи, Турин, Италия

[*]e-mail: saule.daugalieva@mail.ru

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЛОРАЛЬНОГО СОСТАВА МЕДА МЕТОДАМИ ПАЛИНОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА И МЕТАБАРКОДИРОВАНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ ДНК

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.08

Аннотация

Глобальное изменение климата на Земле оказывает существенное влияние на различные популяции живых организмов. В последние годы во всех странах мира наблюдается уменьшение популяции пчел. Основные причины этого явления: использование химических веществ в растениеводстве, урбанизация и засев монокультурами огромных территорий, широкое распространение ГМО растений, изменение климата, патогены и болезни пчел.

Определение ботанического состава меда является актуальной задачей в изучении экологии пчел. Данные, в виде таксономической характеристики флорального состава меда, могут быть использованы для разработки мероприятий по охране популяций пчел, определения лечебной ценности, повышения качества и производства меда. Традиционным подходом изучения растительного состава меда является палинологический анализ пыльцы на основе микроскопического исследования, который является трудоемким, требует много времени и специальных палинологических знаний. Развитие методов секвенирования нового поколения позволило использовать метод метабаркодирования ампликонов для определения флорального состава меда на генном уровне. В статье приводится описание методов определения ботанического состава меда классическим палинологическим методом и с помощью метабаркодирования экологической ДНК меда, описаны их преимущества и недостатки.

Ключевые слова: мед, пчелы, метабаркодирование, палинологический анализ.

Стремительное сокращение популяций пчел и связанное с этим воздействие на биоразнообразие растений является глобальной проблемой. Согласно данным Всемирного фонда защиты пчел в США за последние десятилетия количество пчелиных семей уменьшилось с 6 до 4,5 млн (каждый год вымирает 30-35% пчелиных колоний), в России — с 4,3 до 3,09 млн [1]. В Европе каждый год теряют 20% пчелиных семейств, аналогичная ситуация в Латинской Америке, Китае [2]. Численность медоносных пчёл сокращается и в Казахстане. По статистике один казахстанец съедает всего 10 граммов мёда в месяц. Это в 20 раз меньше, чем потребляют жители Евросоюза [3].

По данным ООН, пчелы исчезают в 8 раз быстрее, чем остальные животные, и если эта тенденция сохранится, то к 2035 году их на планете не останется. Гибель пчел может

привести к исчезновению тысячи видов растений, что может привести к нехватке продовольствия. Уменьшится ассортимент растительных продуктов для людей и скота. Пища станет однообразной.

Пчеловодство, являясь отраслью сельского хозяйства, обеспечивает человечество одной третью потребляемой пищи. Проблема исчезновения пчел имеет огромное социальное значение, так как сокращение популяции пчел представляет собой угрозу продовольственной безопасности человечества. Согласно данным Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН, за последние 50 лет объём производства сельскохозяйственных культур, зависящих от опыления, увеличился на 300%. В опылении нуждаются около 85% растений, выращиваемых человеком, и 90% диких. Недостаток опыления может привести к снижению ассортимента растений. Поддержание популяций пчел необходимо для сохранения биоразнообразия растений, питания людей и животных. Помимо меда, пчелы производят продукты, используемые в различных отраслях. Сохранение пчел необходимо для здравоохранения, косметической промышленности, пищевых производств и др. Пчеловодство является источником дохода многих людей, особенно в сельской местности. Понимание того, какие растения используют опылители, важно для планирования природоохранных мероприятий путем предоставления соответствующих цветочных ресурсов для предотвращения потери пчел.

Причинами снижения популяции пчел являются: пестициды, изменение климата, ландшафта посевных культур (засев площадей под монокультурные, декоративные и ГМО растения), патогены и паразиты пчел [4]. С 2000 года отмечается феномен «синдрома разрушения пчелиных семей», когда пчелы массово покидают ульи и не возвращаются, то есть рабочие особи медоносных пчёл навсегда покидают ульи, оставляя там маток, запасы еды и пчёл-кормилиц [5]. Причины этого явления не выяснены до сих пор.

Одним из факторов снижения численности диких и культурных пчел является нехватка цветочных ресурсов и неполноценное питание. Посев монокультур делает рацион пчел беднее, однообразнее [6]. Ландшафт пахотных культур, необходимый нам для производства продуктов питания, вызывает ограничения в питании пчел [7]. Урбанизация и застройка пригородных зон отнимает у пчел территории для добычи кормов. Основная часть декоративных растений в городской и пригородных зонах не может служить кормовой базой для пчел [8].

Медоносные пчелы и продукты пчеловодства являются биоиндикаторами загрязняющих веществ, таких как тяжелые металлы и пестициды, позволяют отследить, как меняется интенсификация земледелия, урожайность, экология [9]. Количественная и качественная оценка видов растений, которые поедаются пчелами, дает представление о состоянии их питания, моделях использования окружающего ландшафта для сохранения их популяции [10].

Общепринятой методикой определения растительного состава меда является микроскопический анализ пыльцы или палинологический анализ. Палинологический анализ – метод исследования, который позволяет определить таксономическую принадлежность растений по характерным морфологическим признакам пыльцевых зерен. Мелисопалинологический анализ изучает состав пыльцы в меде и позволяет достоверно диагностировать ботаническое и географическое происхождение мёда и других продуктов пчеловодства [11-14]. Эффективность палинологического анализа обусловлена большим количеством пыльцевых зерен с характерными особенностями в образцах меда, что позволяет определить таксономическую принадлежность растений, из которых был получен мед. Несомненным достоинством метода является низкая стоимость и использование минимального количества оборудования (центрифуга, микроскоп). Недостатком метода является то, что некоторые виды растений имеют сходную морфологию пыльцевых зёрен, что затрудняет точную ботаническую идентификацию. Кроме того, традиционные подходы, основанные на микроскопическом наблюдении пыльцы, являются трудоемкими, занимают много времени, а также наблюдается дефицит

специалистов-практиков со специальными знаниями в области палинологии [15,16].

Одним из альтернативных решений этого вопроса является применение метода ДНК метабаркодирования. ДНК, используемая для изучения флорального состава меда относится к экологической ДНК или environmental DNA. eDNA — генетический материал, выделяемый из проб внешней среды [17]. Использование eDNA для изучения генетической структуры популяций позволяет реконструировать их историю, оценить текущее состояние, прогнозировать будущие перспективы, что необходимо для планирования природоохранных мероприятий [18]. Экологическая ДНК меда содержит следы ДНК кормовых растений, бактерий пчел и патогенов ульев. Анализ эДНК меда позволяет определить растительное биоразнообразие меда и влияние экосистем на его состав [19 - 23].

Распространение NGS (секвенирования нового поколения) способствовало использованию метабаркодирования для изучения таксономическое состава образцов по уникальными последовательностям ДНК [15]. Так, например для определения таксономического состава бактериального сообщества в качестве генетического маркера используется 16S рибосомальный ген [24]. Для оценки разнообразия растений используют пластидные гены рибулозобисфосфаткарбоксилазы (rbcL) и матуразы К (matK), хлоропластный маркер trnL и ITS. Универсальность праймеров rbcL составляет 100%, а matK – 35% [25]. Штрих-код rbcL эффективен для идентификации ботанического происхождения меда с вероятностью от 99 до 100% [26]. Использование комбинации ITS2 и rbcL маркеров обеспечивает надежное определение географического происхождения меда [27].

Идентификация нектароносных растений может быть использована и для определения видовой фальсификации меда, которую трудно обнаружить. По растительному составу меда можно определить вид, подлинность, качество и происхождение меда. Экспериментальное исследование 85 монофлорных образцов меда, показало, что 72 соответствовали заявлению на этикетке, а 13 - нет [28]. Tomonori Matsuzawa и др. при проведении анализа эДНК 14 видов меда, продаваемого в супермаркетах, установили случаи несоответствия между растениями, указанными на этикетках, и видами, чья ДНК была наиболее заметной в образце [29]. При сравнении 75 образцов меда из пасек и магазинного образца методом метабаркодирования 16S гена бактерий были обнаружены различия в альфа- и бета-разнообразии микробных сообществ. В частности, контаминантные бактерии доминировали в микробиоте образцов магазинного меда, в то время как в образцах из пасек преобладали молочнокислые бактерии [29].

Преимуществом метода метабаркодирования является больший размер выборки и обнаружение пыльцы, присутствующей в малых количествах. Метабаркодирование позволяет больше и достовернее идентифицировать растительные таксоны [20,30,31]. Благодаря метабаркодированию можно узнать географическое происхождение и бактериальный состав меда, провести сравнительный анализ кормовой базы пчел разных популяций [26,32,33]. Недостатком данного метода остается дороговизна, трудоемкость пробоподготовки, необходимость обработки данных с помощью специальных программ.

Таким образом, можно заключить, что оба метода: и палинологический и молекулярно-генетический позволяют определить флоральный состав меда, но метабаркодирование отдельных генов дает более точную и достоверную информацию.

Заключение

Изучение сокращения популяции пчел в природе является актуальной экологической проблемой. Одним из методов решения этого вопроса является определение ботанического состава меда. Оно необходимо для оценки кормовых предпочтений пчел, эффективности опыления растений, мониторинга изменения климата. Благодаря знаниям о кормовых предпочтениях пчел и анализа сокращения их численности, можно дать

рекомендации по севообороту растений в местах обитания пчел.

Основными методами определения биоразнообразия меда являются классический палинологический анализ, а также более современный анализ метабаркодирования ДНК, основанный на определении молекулярно-генетических маркеров присутствующих растений. Мультилокусное метабаркодирование с использованием комбинации ITS2 и rbcL является надежным методом определения флорального состава и географического происхождения меда, поскольку он может обнаруживать ДНК из редких пыльцевых зерен и идентифицировать растения вплоть до уровня вида.

Финансирование

Работа выполнена при финансовой поддержке Комитета науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (грант №AP19676294).

Литература:

1 В мире вымирают пчёлы. Как это повлияет на человечество и что можно сделать? (https://sberegiplanetu.ru/publications/v-mire-vymiraiut-pchely-kak-eto-povliiaet-nachelo vechestvo-i-chto-mozhno-sdelat)

2 Пчелиный коллапс. (http:// www.futurible.space/ru/winners/96/)

3 Численность медоносных пчёл сокращается в Казахстане. (https://24.kz/ru/tv-projects/agrolife/item/566646-chislennost-medonosnykh-pchjol-krashc haetsya-v-kazakhstane-agrolife)

4 Subotic S., Boddicker A.M., Nguyen V.M., Rivers J., Briles C.E., Mosier A.C. Honey bee microbiome associated with different hive and sample types over a honey production season. *PLOS ONE*, 2019, 8 (doi.org/10.1371/journal.pone.0223834)

7 Kimberly A. Colony Collapse Disorder and Its Impact on the Economy. March 4, 2021. (https://www.thebalancemoney.com/bee-colony-collapse-disorder-facts-and-economic-impact-3305815)

8 Clair A., Zhang G, Dolezal A.G., O'Neal M.E., and Toth A.L. Diversified Farming in a Monoculture Landscape: Effects on Honey Bee Health and Wild Bee Communities. *Environmental Entomology*, 2020, 49(3): 753–764 (doi:10.1093/ee/nvaa031)

7 Silliman M.R., Schürch R., Malone S., Taylor S.V., Couvillon M.J. Row crop fields provide mid-summer forage for honey bees. *Ecology and Evolution*, 2022, 12:8979 (doi.org/10.1002/ece3.8979)

8 Sponsler D.B., Grozinger C.M., Richardson R.T., Nurse A., Brough D., Patch H.M., Stoner K.A. A screening-level assessment of the pollinator-attractiveness of ornamental nursery stock using a honey bee foraging assay. *Scientific Reports*, 2020,10:831 (doi.org/10.1038/s41598-020-57858-2)

9 Papa G., Maier R., Durazzo A., Lucarini M., Karabagias I.K., Plutino M., Bianchetto E., Aromolo R., Pignatti G., Ambrogio A., Pellecchia M. and Negri I. The Honey Bee Apis mellifera: An Insect at the Interface between Human and Ecosystem Health. *Biology*, 2022, 11:233 (doi.org/10.3390/biology11020233)

10 Oliver A.E., Newbold L.K., Gweon H.S., Read D.S., Woodcock B.A., Pywell R.F. Integration of DNA extraction, metabarcoding and an informatics pipeline to underpin a national citizen science honey monitoring scheme. *MethodsX*, 2021, 8:101303. (doi.org/10.1016/j.mex.2021.101303)

11 Jamwal R. and Mattu V.K. Melissopalynological Determination of Pollen Density and Botanical Origin of Autumn Honeys of Kullu Hills, Himachal Pradesh, India. *Indian Journal of Agricultural Research*, 2022, 56(4):381-388. (doi: 10.18805/IJARe.A-5605)

12 Shakoori Z., Mehrabian A., Minai D., Salmanpour F., Khajoei N.F. Assessing the quality of bee honey on the basis of melissopalynology as well as chemical analysis. *PLoS ONE*, 2023,18(8):289702 (doi.org/ 10.1371/journal.pone.0289702)

13 Pospiech M., Javurková Z., Hrabec P., Cížková H., Titera D., Štarha P., Ljasovská S., Kružík V., Podskalská T., Bednár J. et al. Physico-Chemical and Melissopalynological Characterization of Czech Honey. *Appl. Sci*. 2021, 11:4989 (doi.org/10.3390/app11114989)

14 Tulu D., Aleme M., Mengistu G., Bogale A., Bezabeh A., Mendesil E. Melissopalynological analysis and floral spectra of *Apis mellifera scutellata* Lepeletier bees in different agroecologies of southwest Ethiopia. *Heliyon*, 2023, 9:16047 (doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e16047)

15 Laha R.C., De Mandal S., Ralte L., Ralte L., Kumar N.S., Gurusubramanian G., Satishkumar R., Mugasimangalam R. and Laha N. *AMB Express*, 2017, 7:132. (doi 10.1186/s13568-017-0429-7)

16 Bell K.L., de Vere N., Keller A., Richardson R.T., Gous A., Burgess K.S., and Brosi B.J. Pollen DNA barcoding: current applications and future Prospects. *Genome*, 2016, 59: 629–640 (doi.org/10.1139/gen-2015-0200)

17 Thomsen P.F., Willerslev E. Environmental DNA – an emerging tool in conservation for monitoring past and present biodiversity. *Biological Conservation*, 2015, 183:4-18 (doi.org/10.1016/j.biocon.2014.11.019)

18 Пинахина Д.В., Чекунова Е.М. ДНК окружающей среды: история изучения, современные и перспективные направления в фундаментальных и прикладных исследованиях. *Ecological genetics*, 2020, 18(4) (doi: https://doi.org/10.17816/ecogen25900)

19 Matsuzawa T., Kohsaka R. and Uchiyama Y. Application of Environmental DNA: Honey Bee behavior and Ecosystems for Sustainable Beekeeping. *IntechOpen*, 2020, 5 (doi: 10.5772/intechopen.92717 www.intechopen.com/chapters/72529)

20 Milla L., Sniderman K., Lines R., Mousavi-Derazmahalleh M., Encinas-Viso F. Pollen DNA metabarcoding identifies regional provenance and high plant diversity in Australian honey. *Ecology and Evolution*, 2021, 11: 8683 – 8698 (doi: 10.1002/ece3.7679)

21 Dolezal A.G., St. Clair A.L., Ge Zhang, Toth A.L. and O'Neal M.E. Native habitat mitigates feast–famine conditions faced by honey bees in an agricultural landscape. *PNAS*, 2019, December 10, vol. 116, 50:25147–25155 (doi/10.1073/pnas.1912801116)

22 Richardson R.T., Lin C.H., Sponsler D.B., Quijia J.O., Goodell K., and Johnson R.M. Application of ITS2 Metabarcoding to Determine the Provenance of Pollen Collected by Honey Bees in an Agroecosystem. *Application in Plant Biocseienec*, 2015, January (doi.org/10.3732/apps.1400066)

23 Potter C., de Vere N., Jones L.E., Ford C.R., Hegarty M.J., Hodder K.H., Diaz A., Franklin E. Pollen metabarcoding reveals broad and species-specific resource use by urban bees. *PeerJ*, 2019.7:5999 (doi 10.7717/peerj.5999)

24 Даугалиева С.Т., Даугалиева А.Т., Ашанин А.И., Ерғали Б.Б. Влияние рациона на продуктивность бычков казахской белоголовой породы и концентрацию архей в микробиоме желудочно-кишечного тракта. *Микробиология және вирусология*, 2023, №1 (40) (doi: 10.53729/MV-AS.2023.01.15)

25 Maloukh L., Kumarappan A., Jarrar M., Salehi J., El-wakil H., Rajya L.T. Discriminatory power of rbcL barcode locus for authentication of some of United Arab Emirates (UAE) native plants. *Biotech*, 2017, 7:144 (doi 10.1007/s13205-017-07-461)

26 Murthy M.K., Khandayataray P., Ralte L., Laha R. and Samal D. Identification of plant species in multi flower honey by using Ribulose-Bisphosphate carboxylase gene (RBC L) coding region as barcode marker, Mizoram, Northeast India: An Indo: Burma hotspot region. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 2019, 7(3): 1475-1483. P-ISSN: 2349-6800. https://www.entomol journal. com/archives/2019/vol7issue3/PartY/7-3-264-389.pdf

27 Khansaritoreh E., Salmaki Y., Ramezani E., Azirani T.A., Keller A., Neumann K., Alizadeh K., Zarre S., Beckh G., Behling H. Employing DNA metabarcoding to determine the geographical origin of honey. *Heliyon*, 2020, 6 (doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e05596)

28 Beltramo C., Cerutti F., Brusa F., Mogliotti P., Garrone A., Squadrone S., Acutis P.L., Peletto S. Exploring the botanical composition of polyfloral and monofloral honeys through DNA metabarcoding. *Food Control*, 2021, 128:108175 (doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108175)

29 Balzana S., Carraroa L., Merlantia R., Lucatelloa L., Capolongoa F., Fontanaa F., Novellia E., Larini I., Vitulo N., Cardazzo B. Microbial metabarcoding highlights different bacterial and fungal populations in honey samples from local beekeepers and market in northeastern Italy. *International Journal of Food Microbiology*, 2020, 334:108806 (doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2020.108806)

30 Hawkins J., de Vere N., Griffith A., Ford C.R., Allainguillaume J., Hegarty M.J., Baillie L., Adams-Groom B. Using DNA Metabarcoding to Identify the Floral Composition of Honey: A New Tool for Investigating Honey Bee Foraging Preferences. *PLOS ONE*, 2015, August 26 (doi:10.1371/journal.pone.0134735)

31 Milla L., Schmidt-Lebuhn A., Bovill J., Encinas-Viso F. Monitoring of honey bee floral resources with pollen DNA metabarcoding as a complementary tool to vegetation surveys. *Ecological Solutions and Evidence*, 2022, 3:12120 (doi.org/10.1002/2688-8319.12120)

32 Wirta H., Abrego N., Miller K., Roslin T. and Vesterinen E. DNA traces the origin of honey by identifying plants, bacteria and fungi. *Scientifc Reports*, 2021, 11:4798 (doi.org/10.1038/s41598-021-84174-0)

33 Namin S.M., Kim M.J., Son M. & Jung C. Honey DNA metabarcoding revealed foraging resource partitioning between Korean native and introduced honey bees (Hymenoptera Apidae). *Scientifc Reports*, 2022, 12:14394 (doi.org/10.1038/s41598-022-18465-5)

ORIGINAL RESEARCH PAPERS

IRSTI: 34.27.23, 34.35.25

S.V. BAZHENOV[1*], V.O. MATVEEVA[1], P.A. VIUSHINSKIJ[2], A.A. KUDRYAVTSEVA[1], B.S. ZHOSHIBEKOVA[1], M.S. ALEXYUK[3], A.P. BOGOYAVLENSKIY[3], I.V. MANUKHOV[1]
[1]Moscow Institute of Physics and Technology, Dolgoprudny, Russia
[2]All-Russian Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Scriabin and Y.R. Kovalenko, Moscow, Russia
[3]Research and Production Center for Microbiology and Virology, Almaty, Kazakhstan
*e-mail: bazhenov1994@gmail.com

LUMINESCENT MICROBIOTA OF THE ARAL SEA

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.09

Abstract

The Aral Sea is a unique body of water and is an unstable ecological zone. The soils of the Aral Sea are an example of arid salt accumulation, where a specific type of solonchaks with a unique microflora are formed. The study of the microflora of waters and bottom sediments of the Aral Sea is currently receiving much attention, but there are no reports of the existence of luminescent microflora in this water area.

Luminescent bacteria mainly inhabit the waters of seas and oceans, but not salt lakes and fresh water bodies. Here, for the first time, we report the discovery of luminescent microflora in the Aral Sea, which is a body of water with a complex hydrochemical nature separated from the ocean, which is characterized by strong fluctuations in temperature and salinity. The presence of at least two species of luminescent bacteria belonging to the genus *Vibrio* inhabiting the waters of the North Aral Sea has been shown. Considering the significant changes in temperature and salinity of the Aral water, apparently, these species can occupy different ecological niches that arise with changing seasons, water flow, etc. Isolated strains of luminescent bacteria can in the future be used for bioluminescent analysis of integral toxicity. It is assumed that the microflora, which is accustomed to the current environmental conditions, may be more sensitive to changes in the particular biotope.

Keywords: bioluminescent bacteria, diversity, Aral Sea, *Vibrionaceae.*

Almost all luminous marine bacteria belong to the family *Vibrionaceae* (genera: *Vibrio, Photobacterium, Aliivibrio*) [1]. The large number of species within this taxon determines the diversity of ecological niches occupied by these bacteria [2]. It is known that *lux*-operons, which determine the ability of bacteria to bioluminescence, are often spread between species via horizontal gene transfer [3]. There is still debate about the role of *lux*-operons in the evolutionary process of habitat development by luminescent bacteria [4]. There are reports on the protective functions of luciferases against reactive oxygen species and UV radiation [5]. Symbiotic and commensal relationships based on luminescence are better studied [6, 7]. Anyway, the prevalence of luminescent microflora in marine biotopes is very high in contrast to terrestrial conditions, where only a few representatives of the genus *Photorhabdus* are found [8]. In addition, there is no report on colonization of freshwater bodies by luminescent microflora in the literature. Moreover, there are no reports on the detection of such bacteria in small saline water bodies completely closed from the world ocean (such as the Dead Sea and many smaller saline lakes) too. Only the Caspian Sea, as reported by Iranian scientists [9], has representatives of the genus *Vibrio* capable of bioluminescence. Luminescent bacteria are often used for bioluminescent analysis of integral and specific toxicity [10, 11]. It is assumed that the

microflora, which is adapted to the current environmental conditions, may be more sensitive to changes in the particular biotope, which determines the relevance of the search for endemic luminescent strains.

In this paper, we report for the first time the detection of luminescent bacteria in the Aral Sea.

Materials and methods of research

Sample collection

The collection of microflora samples was carried out similarly to previously performed work [12]. A sterile cotton swab was dipped into water or another source of bacteria and then swiped over the surface of the agarized medium in a Petri dish, and then the Petri dish was incubated until individual colonies appeared. To obtain individual colonies, streak plate method was used with several sterile cotton swabs. When taking a sample of the intestinal microflora of fish, the contents of the midgut were used to obtain the greatest diversity of bacterial species represented and to reduce cross-contamination between caught fish [13]. To do this, the fish was opened, the intestines were cut in the middle part and a small amount of the contents was squeezed out onto a cotton swab.

Cultivation of bacteria

Bacteria were grown on the surface of SWT [14] agarized medium (5 g/L tryptone, 2.5 g/L yeast extract, 3 g/L glycerol, 15 g/L bactoagar and variable amount of sea salt). Media with 15, 35 and 70 g/L sea salt content were used to cover the greatest diversity of bacterial species, because The Aral Sea is characterized by large differences in salinity from place to place [15].

Determination of the genus

To determine the genus of bacteria, 16S rRNA sequences were analyzed. For this purpose, total DNA from pure culture was isolated using a set of reagents "Проба-Экспресс" (Syntol, Russia). The 16S rRNA gene fragment was amplified using primers CGTGCCAGCAGCCGCGGCGGTAATAATA and GTGTGTGTACAAGGCCCGGGAACG, purified by electroelution and sequenced according to the Sanger method in "Evrogen" (Moscow, Russia). The phylogenetic tree was constructed using the MEGA-X program [16] and 16S rRNA reference sequences from the ncbi.nih.gov database.

Results and discussion

In 2023, an expedition was carried out to the southern shore of the North Aral Sea with the aim of collecting microflora samples and searching for luminescent bacteria. Microflora samples were taken from water, bottom sediments and intestinal contents of fish caught in the North Aral Sea. Since water salinity varies significantly in the North Aral Sea, bacteria from each source were inoculated into several Petri dishes with a rich nutrient medium with different contents of sea salt, namely 10, 35 and 70 g/L. Concentration 10 g/L corresponds to the average salinity of the Small Aral Sea [15], 35 g/L allows isolating strains that are more halophilic/halotolerant. 70 g/L was used when sowing samples from water and bottom sediments of more saline regions of the water area and salt marshes. The following is a list of sample collection sites:

- Seawater near shore taken from the North Aral Sea near Bogen village, Aral District, Kyzylorda Region.
- Coastal soil and organic emissions from the shore of the North Aral Sea near Bogen village, Aral District, Kyzylorda Region.
- Intestinal contents of commercial fish (16 pieces, including roach, Volga zander, carp, ziege, and asp), caught not more than 2 hours before seeding in the North Aral Sea and purchased from local fishermen.
- Water from small lakes and channels near the dam between the North and South Aral Seas.

Samples were also collected near Bogen village, Aral District, from the water of a salt

marsh, characterized as a red semi-liquid mass with an orange-black sediment (Fig. 1A).

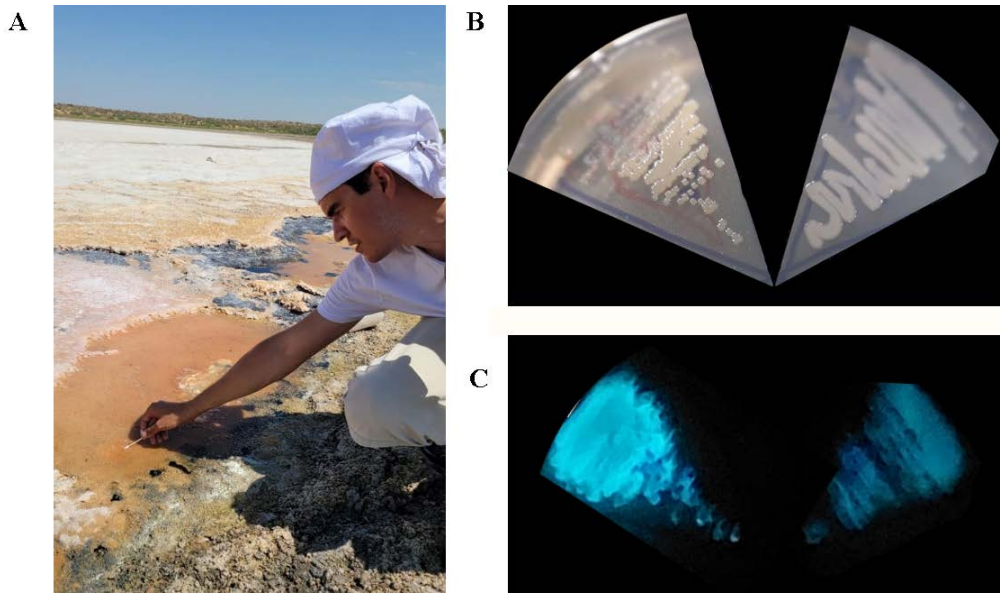


Figure 1 – Photo of collecting samples for bacterial sowing from a salt marsh near Bogen village (A). Colonies of luminescent bacteria from the North Aral Sea in the light (B) and in the dark (C).

Sieving of collected samples onto the surface of the nutrient medium in Petri dishes was carried out in the field at the place of sample collection. Petri dishes with sowed samples were incubated at room temperature (20-28°C) for ~30 hours, then during transportation to the laboratory (within 3-4 days) the temperature was not fixed and ranged from 4°C (refrigerator) to 25°C (room temperature with air conditioning). The bioluminescence ability of the obtained colonies was checked visually in a dark room (Fig. 1B) and using a luminometer.

As a result, luminescent colonies were detected only in samples collected from the water area of North Aral. Luminescent bacteria were detected both in water and organic emissions on the shore of the North Aral and in the intestines of 15 out of 16 fish caught in the reservoir 1-2 hours before sampling. It is noteworthy that luminescent bacteria were detected in the intestines of freshwater fish species such as the carp, roach, and Volga zander, which, however, are able to feed in semi-saline waters close to river mouths (Volga, Ural, and Amu Darya). At the next stage, the luminescent colonies were subcultured, and the isolated strains were cultivated on an agar medium with a salt concentration of 35 g/L at a temperature of 30°C. Two morphological types of colonies were found within the isolated strains (Fig. 1C). Representatives of each morphological type were selected for taxonomic identification. To determine the taxonomic affiliation of the isolated strains, sequencing of the 16S rRNA gene was performed (nucleotide sequences of strains RK2 and RK27 are deposited in the NCBI database under numbers PP440233 and PP440234, respectively) and phylogenetic analysis of the sequences obtained was carried out. Figure 2 shows the phylogenetic tree for the two isolated strains and the closest type strains of luminescent bacteria *Vibrionaceae*.

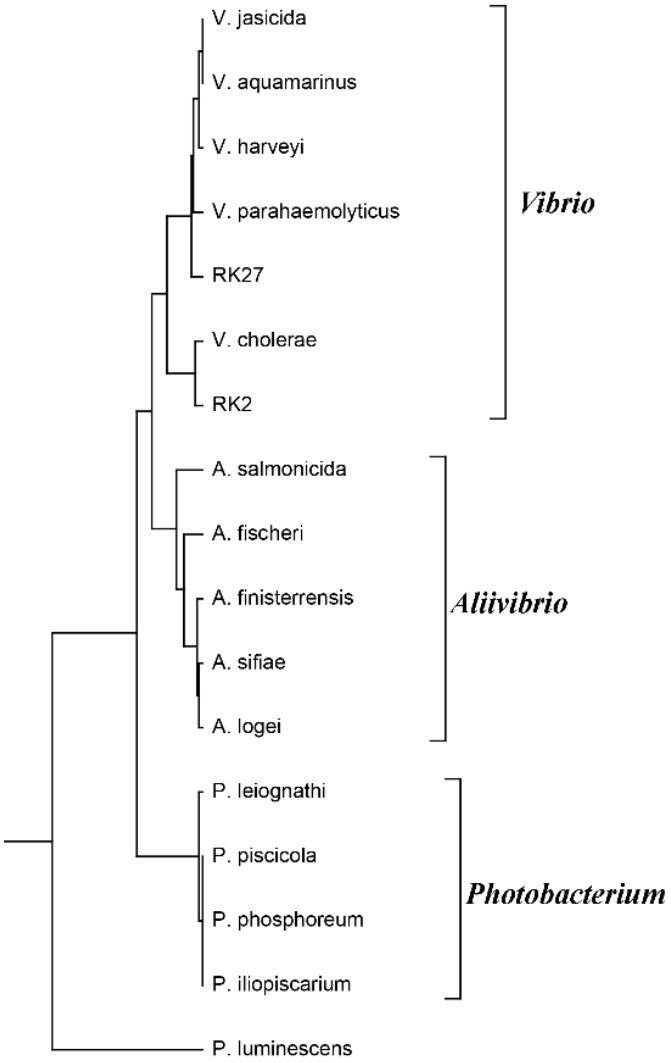


Figure 2 - Phylogenetic tree based on 450 bp 16S rRNA sequences of type luminescent bacterial strains of the family *Vibrionaceae*. *Photorhabdus luminescens* used to root the tree.

As shown in Figure 2, analysis of the 16S ribosomal RNA gene sequence allowed the genus of the isolated clones to be identified as *Vibrio*.

Metagenomic study of water from the water area of the North Aral Sea [17] showed the presence of a significant number of vibrios as part of the microbiota. However, the search for genes encoding luciferases in the metagenomic data did not yield positive results. This is surprising, because luminescent bacteria, as our results showed, are very common (>90% of fish are carriers of luminescent microflora) and their titer in sea water is large enough to obtain multiple luminescent colonies when adding a small amount of sea water to the nutrient medium in Petri dishes. Since all known marine luminescent bacteria belong to the family *Vibrionaceae* [2], it is not surprising that our work revealed that the luminescent microbiota of the Aral Sea belongs to the genus *Vibrio*. The fact populating of originally freshwater fish species by luminescent microbiota looks intriguing. Since the analysis was performed on a rather short section of the genome, and the genus *Vibrio* currently contains more than 150 species, precise species identification requires additional research. It will also be important to study the genetics of isolated strains in more detail to assess the speed of the molecular clock in a single body of water such as the Aral Sea in comparison to the Caspian Sea and the global ocean. Previously, seasonal fluctuations in the colonization of the intestines of fish from the Okhotsk and Bering Seas with luminescent psychrophilic bacteria *Aliivibrio logei* and *Photobacterium phosphoreum* were shown [14]. In this regard, it is of interest to further study the ecological niches occupied by

these types of bacteria, because in the samples we collected, strains of two morphological types were found with different frequencies: strains similar to RK2 were noticeably more common.

Conclusion

This work presents new data on the spontaneous luminescence of a number of microbial cultures from the Aral Sea, which is a water body with a complex hydrochemical nature due to strong fluctuations in habitat conditions. The presence of at least two species of luminescent bacteria belonging to the *Vibrio* genus, living in the waters of the North Aral Sea and inhabiting the intestines of freshwater fish, was shown. Unusual behavior of marine microflora in interaction with representatives of freshwater fish can serve as a pioneer study of new ecological niches of luminescent microorganisms.

Acknowledgements

The authors express their gratitude to the fishermen of the village of Amanotkel in the Aral region and their foreman Asylbek for collecting samples and helping in the process of primary sowing of microflora, as well as guides Aibek Karsybaev and Zhomart

Funding

This work was financially supported by Russian Science Foundation [22-14-00124].

References:

1 Urbanczyk H., Ast J.C, Higgins M.J., Carson J., Dunlap P.V. Reclassification of *Vibrio fischeri, Vibrio logei*, *Vibrio salmonicida* and *Vibrio wodanis* as *Aliivibrio fischeri* gen. nov., comb. nov., *Aliivibrio logei* comb. nov., *Aliivibrio salmonicida* comb. nov. and *Aliivibrio wodanis* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2007, 57:2823-2829 (doi: 10.1099/ijs.0.65081-0)

2 Soto W. Emerging Research Topics in the *Vibrionaceae* and the Squid-Vibrio Symbiosis. *Microorganisms*, 2022, 10(10):1946. doi: 10.3390/microorganisms10101946.

3 Urbanczyk H., Ast J.C., Kaeding A.J., Oliver J.D. and Dunlap P.V. Phylogenetic Analysis of the Incidence of lux Gene Horizontal Transfer in Vibrionaceae. Journal of Bacteriology, 2008. 190(10): 3494–3504 (doi: 10.1128/JB.00101-08)

4 Zavilgelsky G.B., Shakulov R.S. Mechanisms and Origin of Bacterial Biolumenescence. *Molecular Biology*, 2018, 52(6):935-947 (doi: 10.1134/S0026898418060186)

5 Melkina O.E., Kotova V.Yu., Konopleva M.N., Manukhov I.V., Pustovoit K.S.б Zavilgelsky, G.B. Photoreactivation of UV-exposed *Escherichia coli* K12 AB1886 *uvrA6* via luminescence of *Photobacterium leiognathi* luciferase. *Molecular Biology* 2015: 49(6): 928-932.

6 Nyholm S.V., Stewart J.J., Ruby E.G., McFall-Ngai M.J. Recognition between symbiotic Vibrio fischeri and the haemocytes of Euprymna scolopes. *Environ. Microbiol*. 2009, 11(2):483-93 (doi: 10.1111/j.1462-2920.2008.01788.x.)

7 Soto W., Nishiguchi M.K. Microbial experimental evolution as a novel research approach in the vibrionaceae and squid-Vibrio symbiosis. *Front. Microbiol*, 2014, 5:593 (doi.org/10.3389/fmicb.2014.00593)

8 Dunlap P. Biochemistry and genetics of bacterial bioluminescence. *Adv Biochem Eng Biotechnol*., 2014, 144:37-64 (doi: 10.1007/978-3-662-43385-0_2)

9 Yazdi M.M.N., Mashreghi M., Bahreini M., Oroojalian F., Pordeli P. Biochemical characteristics of luminescent Vibrios isolated from the Caspian Sea and the Persian Gulf. *Clinical Biochemistry*, 2011, 44: S318 (doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2011.08.1015)

10 Zarubina A.P., Lukashev E.P., Deev L.I., Parkhomenko I.M., Rubin A.B., Shoyinbekova S.A., Zylkybaev O.T., Kurmankulov N.B. Biotesting of biological effects of single-walled carbon nanotubes using test systems of luminescent bacteria. Vestnik KazNU. Series biological, 2012, 54(4):262-267. [Зарубина А.П., Лукашев Е.П., Деев Л.И., Пархоменко И.М., Рубин А.Б., Шойынбекова С.А., Жылқыбаев О.Т., Құрманқұлов Н.Б. Люминисцентті бактериялардың тест-жүйелерін пайдаланып бір қабатты көміртекті нанотүтікшелердің биологиялық эффекттерін биотестілеу. *Вестник КазНУ. Серия биологическая*, 2012, 54(4):262-267.

11 Bazhenov S.V., Novoyatlova U.S., Scheglova E.S., Prazdnova E.V., Mazanko M.S., Kessenikh A.G., Kononchuk O.V., Gnuchikh E.Y., Liu Y., Al Ebrahim R., et al. Bacterial lux-biosensors:

Constructing, applications, and prospects. *Biosens. Bioelectron. X* 2023, 13:100323, (doi:10.1016/j.biosx.2023.100323)

12 Khrulnova S.A., Baranova A., Bazhenov S.V., Goryanin I.I., Konopleva M.N., Maryshev I.V., Zavilgelsky G.B. Lux-operon of the marine psychrophilic bacterium *Aliivibrio logei*: A comparative analysis of the LuxR1/LuxR2 regulatory activity in *Escherichia coli* cells. *Microbiology (United Kingdom)* 2016, 162(4):717-724. (doi: 10.1099/mic.0.000253)

13 Egerton S, Culloty S, Whooley J, Stanton C, Ross RP. The gut microbiota of marine fish. *Frontiers in Microbiology* 2018, 9:343795. (doi: 10.3389/FMICB.2018.00873)

14 Bazhenov, S. V; Khrulnova, S.A.; Konopleva, M.N.; Manukhov, I. V Seasonal changes in luminescent intestinal microflora of the fish inhabiting the Bering and Okhotsk seas. *FEMS Microbiol. Lett*. 2019, 366, (doi.org/10.1093/femsle/fnz040)

15 Aladin N.V., Plotnikov I.S., Micklin P, and Ballatore T. Aral Sea: Water level, salinity and long-term changes in biological communities of an endangered ecosystem-past, present and future. *Natural Resources and Environmental Issues* 2009, 15:36

16 Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. Mol. Biol. Evol, 2018, 35:1547–1549 (doi: 10.1093/molbev/msy096)

17 Alexyuk M., Bogoyavlenskiy A., Alexyuk P., Moldakhanov Y., Berezin V., Digel I. Epipelagic microbiome of the Small Aral Sea: Metagenomic structure and ecological diversity. *MicrobiologyOpen*, 2021, 10: e1142 (doi.org/10.1002/mbo3.1142)

С.В. БАЖЕНОВ[1]*, В.О. МАТВЕЕВА[1], П.А. ВЬЮШИНСКИЙ[2], А.А. КУДРЯВЦЕВА[1], Б.С. ЖОШИБЕКОВА[1], М.С. АЛЕКСЮК[3], А.П. БОГОЯВЛЕНСКИЙ[3], И.В. МАНУХОВ[1]

[1]Московский физико-технический институт, Долгопрудный, Россия

[2]Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К.И. Скрябина и Я.Р. Коваленко, Москва, Россия

[3]Научно – производственный центр микробиологии и вирусологии, Алматы, Казахстан

*e-mail: bazhenov1994@gmail.com

ЛЮМИНЕСЦИРУЮЩАЯ МИКРОФЛОРА АРАЛА

Аннотация

Аральское море - уникальный водоем, является нестабильной экологической зоной. Почвы Аральского моря являются образцом аридного соленакопления, где формируется специфический тип солончаков с уникальной микрофлорой. Изучению микрофлоры вод и донных отложений Аральского моря в настоящее время уделяется большое внимание, однако сообщений о существовании люминесцирующей микрофлоры в этой акватории не имеется.

Люминесцирующие бактерии в основном населяют акватории морей и океанов, но не соленых озёр и пресных водоемов. Здесь впервые сообщается об обнаружении люминесцирующей микрофлоры в Аральском море, которое является отдаленным от океана водоемом со сложной гидрохимической природой, характеризующейся сильными колебаниями температуры и солености. Показано наличие как минимум двух принадлежащих к роду *Vibrio* видов люминесцирующих бактерий, населяющих акваторию малого Арала. Учитывая существенные перепады температуры и солености воды Арала, по-видимому, данные виды могут занимать различные экологические ниши, возникающие при смене сезонов, обводненности и др. Изолированные штаммы люминесцентных бактерий в перспективе могут быть использованы для биолюминесцентного анализа интегральной токсичности. Предполагается, что микрофлора, привычная к сложившимся условиям окружающей среды, может оказаться более чувствительна к изменениям конкретного биотопа.

Ключевые слова: биолюминесцентные бактерии, разнообразие, Аральское море, *Vibrionaceae*.

ҒТАМР: 34.27.23, 34.35.25

С.В. БАЖЕНОВ[1*], В.О. МАТВЕЕВА[1], П.А. ВЬЮШИНСКИЙ[2], А.А. КУДРЯВЦЕВА[1], Б.С. ЖОШИБЕКОВА[1], М.С. АЛЕКСЮК[3], А.П. БОГОЯВЛЕНСКИЙ[3], И.В. МАНУХОВ[1]
[1]Мәскеу физика-техникалық институты, Долгопрудный, Ресей
[2]К.И. Скрябин және Я.Р. Коваленко атындағы бүкілресейлік эксперименттік ветеринария ғылыми-зерттеу институты, Мәскеу, Ресей
[3]Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы, Алматы, Қазақстан
*e-mail: bazhenov1994@gmail.com

АРАЛ ТЕҢІЗІНІҢ ЛЮМИНЕСЦЕНТТІ МИКРОФЛОРАСЫ

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.09

Түйін

Арал теңізі-бірегей су айдыны, тұрақсыз экологиялық аймақ. Арал теңізінің топырағы құрғақ тұзды жинақтаудың мысалы болып табылады, онда бірегей микрофлорасы бар сортаңдардың белгілі бір түрі қалыптасады. Арал теңізінің сулары мен түбі шөгінділерінің микрофлорасын зерттеуге қазіргі уақытта көп көңіл бөлінуде, бірақ бұл акваторияда люминесцентті микрофлораның бар екендігі туралы мәліметтер жоқ.

Люминесцентті бактериялар тұзды көлдер мен тұщы су қоймаларында емес, негізінен теңіздер мен мұхиттарда тіршілік етеді. Бұл мақалада алғаш рет температура мен тұздылықтың қатты ауытқуымен сипатталатын, күрделі гидрохимиялық табиғаты бар, мұхиттан бөлінген су қоймасы болып табылатын Арал теңізінде люминесцентті микрофлораның табылуы туралы хабарлаймыз. Мұнда, Кіші Аралдың акваториясын мекендейтін люминесцентті бактериялардың *Vibrio* тұқымдасына жататын кем дегенде екі түрінің болуы көрсетілген. Аралдың суының температурасы мен тұздылығының айтарлықтай өзгеруін ескере отырып, бұл түрлер жыл мезгілдеріне, су тасқынына және т.б. өзгерістер кезінде пайда болатын әртүрлі экологиялық нишаларға байланысты болуы мүмкін. Болашақта люминесцентті бактериялардың оқшауланған штамдары интегралды уыттылықтың биолюминесценттік талдауы үшін пайдаланылуы мүмкін. Қоршаған ортаның қазіргі жағдайларына үйренген микрофлора белгілі бір биотоптағы өзгерістерге сезімтал болуы мүмкін деп болжанады.

Кілтті сөздер: биолюминесцентті бактериялар, әртүрлілік, Арал теңізі, *Vibrionaceae*.

Барлық жарық шығарғыш бактериялар *Vibrionaceae* тұқымдасына жатады (тұқымдастар:*Vibrio, Photobacterium, Aliivibrio*) [1]. Вибриондар алып жатқан экологиялық нишалардың әртүрлілігі осы таксонның құрамындағы көптеген түрлерді анықтайды [2]. Биолюминесценция бактерияларының қабілетін анықтайтын *lux*-оперондары көбінесе көлденең тұраралық тасымалдау арқылы таралатыны белгілі [3]. Люминесцентті бактериялардың таралу аймағын дамытудың эволюциялық процесінде *lux*-оперондарының рөлі туралы әлі де пікірталас тудыруда [4]. Люциферазалардың оттегі мен УК-сәулеленудің белсенді түрлерінен қорғаныс функциялары туралы мәліметтер бар [5]. Люминесценцияға негізделген симбиотикалық және комменциалды қатынастар көбірек зерттелген болып саналады [6, 7]. Қалай болғанда да, теңіз биотоптарында люминесцентті микрофлораның таралуы жердегі жағдайларға қарағанда өте жоғары, мұнда *Photorhabdus* тұқымдасының бірнеше өкілдері ғана байқалады [8].

Әдебиеттерде тұщы су объектілерінің люминесцентті микрофлораның колонизациясы туралы мәліметтер жоқ. Оның үстіне, мұндай бактериялардың дүниежүзілік мұхиттардан толығымен жабылған шағын тұзды су қоймаларында (мысалы, Өлі теңіз және көптеген ұсақ тұзды көлдер) табылғаны туралы мәліметтер жоқ. Тек Каспий теңізінде, иран ғалымдары [9] хабарлағандай, биолюминесценцияға қабілетті *Vibrio* тұқымдасының өкілдері бар. Люминесцентті бактериялар интегралды және спецификалық уыттылықтың биолюминесценциялық талдауы үшін жиі қолданылады [10,

11]. Қазіргі орта жағдайларына бейімделеген микрофлора белгілі бір биотоптың өзгеруіне сезімтал болуы мүмкін, бұл эндемиялық люминесцентті штаммдарды іздеудің өзектілігін анықтайды.

Бұл жұмыста біз алғаш рет Арал теңізінде люминесцентті микрофлораның табылғаны туралы хабарлаймыз.

Материалдар мен әдістер

Үлгілерді жинау

Микрофлора үлгілерін жинау бұрын орындалған жұмыстарға ұқсас жүргізілді [12]. Стерильді мақта тампонын суға немесе бактериялардың басқа көзіне батырып, сосын оны Петри табақшасында агарлы ортаның бетіне жүргізеді. Ұсынылған бактериялық түрлердің алуан түрлілігін алу үшін және ауланған балықтар арасындағы өзара ластануды азайту үшін балықтардың ішек микрофлорасының үлгісін алу кезінде ортаңғы ішектің бөлігі пайдаланылды [13]. Ол үшін балық ішін ашып, ішектерің ортаңғы бөлігін кесіп, мақта тампонына аз мөлшерде сығындысы алынды. Петри табақшасы жеке колониялар пайда болғанға дейін инкубацияланады. Жеке колонияларды алу үшін бірнеше стерильді мақта тампондары бар жоғалатын жолақ әдісі қолданылды.

Бактерияларды өсіру

Бактериялар SWT агар [14] ортасының (5 г/л триптон, 2,5 г/л ашытқы сығындысы, 3 г/л глицерин, 15 г/л бактоагары және теңіз тұзының өзгермелі мөлшері) бетінде, 30°C температурада өсірілді. Бұл жұмыста құрамында 15, 35 және 70 г/л теңіз тұзы бар орталар пайдаланылды, себебі бактериялық түрлердің алуан түрлілігін қамту үшін жасалынады, өйткені Арал теңізі ауданнан ауданға тұздылықтың үлкен өзгеруімен сипатталады [15].

Туыстықтық анықтамасы

Бактериялардың туыстық байланысын анықтау үшін 16S рРНҚ тізбегіне талдау жүргізілді. Ол үшін таза дақылдан жалпы ДНҚ "Проба-Экспресс" реактивтер жиынтығымен (Синтол, Ресей) бөлініп алынды, 16S рРНҚ генінің фрагменті CGTGCCAGCAGCCGCGGTAATA және GTGTGTACAAGGCCCGGGAACG праймерлерінің көмегімен күшейтілді, электроэлюциямен тазартылды және "Еврогенге" (Мәскеу, Ресей) Сэнгер әдісімен секвенирленді. Филогенетикалық ағаш *ncbi.nih.gov* дерекқорындағы MEGA-X бағдарламасы [16] және 16S рРНҚ анықтамалық тізбегі арқылы құрастырылды.

Зерттеу нәтижелері және оларды талдау

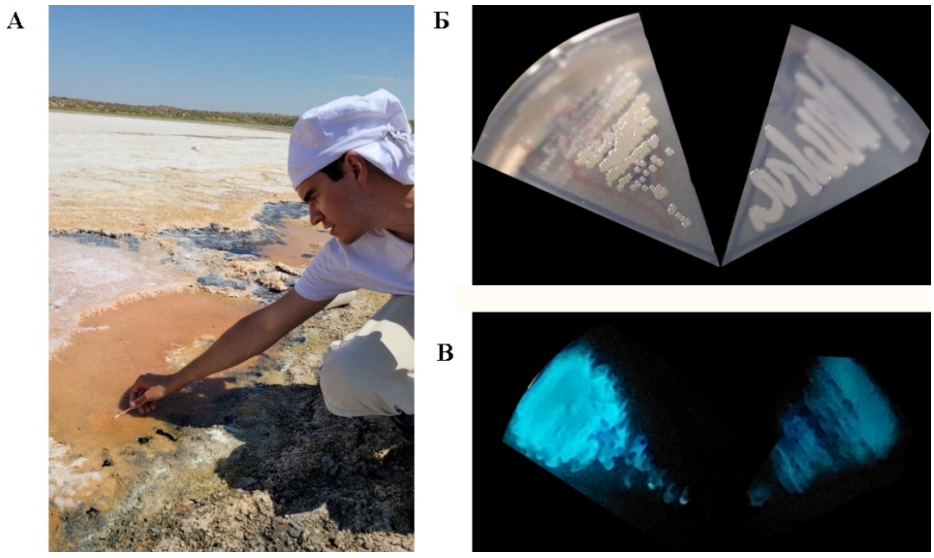
2023 жылы микрофлора үлгілерін жинау және люминесцентті бактерияларды іздеу мақсатында Кіші Арал теңізінің оңтүстік жағалауына экспедиция жүргізілді. Микрофлора үлгілері Кіші Арал теңізінен ауланған балықтардың суынан, түбіндегі шөгінділерден және ішек құрамындағы заттардан алынды. Өйткені Кіші Арал теңізінде судың тұздылығы айтарлықтай өзгеретіндіктен, сондықтан әр көзден бактерияларын әр түрлі теңіз тұзы бар атап айтқанда 10, 35 және 70 г/л бай қоректік ортасы бар бірнеше Петри табақшаларына егілді. 10 г/л Кіші Арал теңізіндегі орташа тұз концентрациясына сәйкес келеді, 35 г/л аса галофильді/галотолерантты штаммдарды оқшаулауға мүмкіндік береді. 70 г/л акватория және сортаңдардың неғұрлым тұзды жерлерінің су және түбі шөгінділерінен үлгілерді егу кезінде пайдаланылды. Төменде үлгілерді жинау орындарының тізімі берілген:

Қызылорда облысы, Арал ауданы, Бөген ауылының маңындағы Кіші Арал теңізінен алынған теңіз суы.

- Қызылорда облысы, Арал ауданы, Бөген ауылының маңындағы Кіші Арал теңізінің жағасынан жағалық топырақ және органикалық шығарындылар.
- Кіші Арал теңізінде егуден 2 сағат бұрын ауланған және жергілікті балықшылардан сатып алынған кәсіпшілік балықтардың (16 дана, оның ішінде қарақұйрық, берш, сазан, қылышбалық, ақсыла) ішектерінің құрамы.
- Кіші және Үлкен Арал теңіздері арасындағы бөгет маңындағы шағын көлдер мен

каналдардың суы.

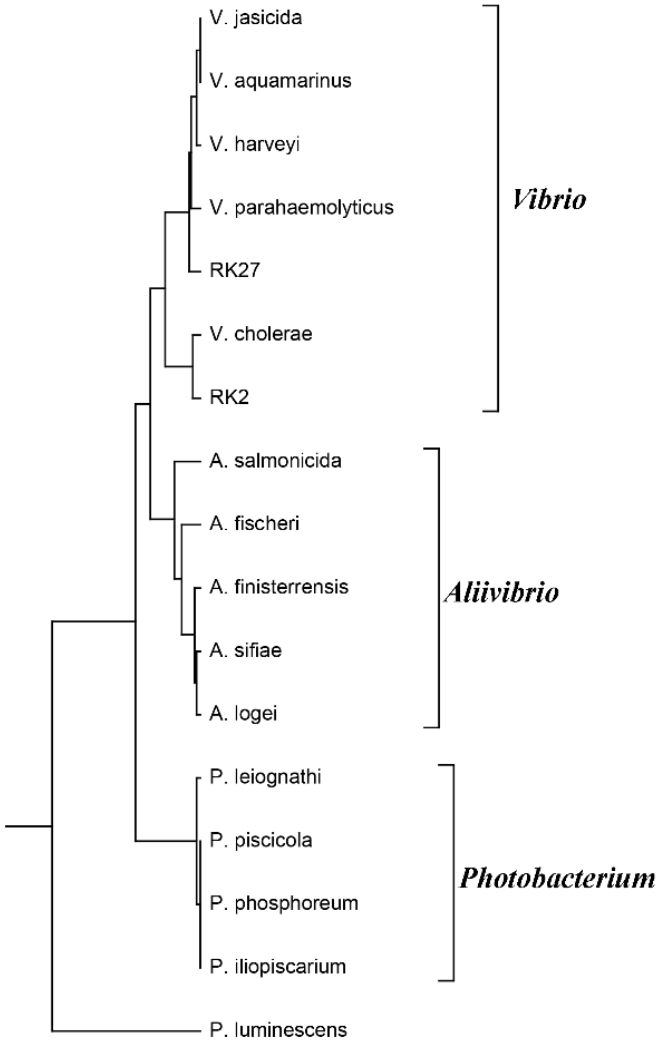
Сондай-ақ, Арал ауданы Бөген ауылының маңында сарғыш-қара шөгіндісі бар қызыл жартылай сұйық масса ретінде сипатталатын тұзды батпақты судан үлгілер жиналды (сурет 1 А).



Сурет 1 - Боген (А) маңындағы тұзды батпақтан бактерияларды себу үшін үлгілерді жинау фотосуреті. Жарықта (Б) және қараңғыда (В) кіші Аралдың люминесцентті бактерияларының колониялары.

Іріктелген үлгілерді Петри табақшаларындағы қоректік ортаның бетіне себу, үлгілерді жинау орнында жүргізілді Шашыраңқы үлгілері бар Петри табақтары бөлме температурасында 20-28°С ~30 сағат бойы инкубацияланды, содан кейін зертханаға тасымалдау процесінде (3-4 күн ішінде) температура бекітілмеді және 4°С (Тоңазытқыш) 25°С (кондиционері бар бөлме температурасы) аралығында болды. Алынған колониялардың биолюминесценция қабілеті қараңғы бөлмеде визуалды түрде (сурет 1 В) және люминометрдің көмегімен тексерілді

Нәтижесінде люминесцентті колониялар тек Кіші Аралдың акваториясынан жиналған үлгілерден табылды. Люминесцентті бактериялар суда да, кіші Аралдың теңіз жолағындағы органикалық шығарындыларда да, сынамалар алынғанға дейін 1-2 сағат бұрын тоғанда ауланған 16 балықтың 15-нің ішектерінде де табылды. Люминесцентті бактериялар тұщы су балықтарының мысалы, ақсыла, қарақұйрық, берш түрлерінің ішектерінен табылған, алайда, өзендердің сағаларына жақын жартылай тұзды суларда (Еділ, Орал, Амудария) масса жинауға қабілетті екендігі назар аудартады (сурет1Б). Таксономиялық сәйкестілікті анықтау үшін әр морфологиялық типтің өкілдері таңдалды. Оқшауланған штаммдардың таксономиялық байланысын анықтау үшін рибосомалық РНҚ-ның 16S гені секвенирленді (RC2 және RK27 штаммдарының нуклеотидтер тізбегі сәйкесінше PP440233 және PP440234 нөмірлерімен NCBI дерекқорында сақталған) және алынған тізбектерге филогенетикалық талдау жасалды. 2-суретте екі оқшауланған штаммға арналған филогенетикалық ағаштар және *Vibrionaceae* люминисцентті бактериялардың ең жақын типтік штамдары көрсетілген.



Сурет 2 - 450 п.н. тізбектеріне негізделген филогенетикалық ағаш.
Сыртқы топ ретінде *Vibrionaceae, Photorhabdus luminescens* тұқымдасының бактерияларының типтік люминесцентті штаммдарының 16S рРНҚ алынды

2-суреттен көріп отырғанымыздай, рибосомалық РНҚ-ның 16S гендік тізбегін талдау оқшауланған клондардың туыстық байланысын *Vibrio* ретінде анықтауға мүмкіндік берді.

Кіші Арал теңізі суларының метагеномикалық зерттеуі кезінде [17] микробиотада вибриондардың айтарлықтай мөлшерінің болуын көрсетті. Метагеномдық деректерде люцифераза ларды кодтайтын гендерді іздеу оң нәтиже бермегенін атап өткен жөн. Бұл таңқаларлық, өйткені біздің нәтижелеріміз көрсеткендей флуоресцентті бактериялар, өте кең таралған (>балықтардың 90% - ы флуоресцентті микрофлораның тасымалдаушылары) және олардың теңіз суындағы титрі жеткілікті үлкен болғандықтан теңіз суынан бактериялық жасушалардың концентрациясына жүгінбей, Петри ыдысындағы қоректік ортаға аз мөлшерде су құйып, бірнеше люминесцентті колонияларды алуға болады. Барлық белгілі теңіз люминесцентті бактериялары *Vibrionaceae* [2] тұқымдасына жататындықтан, біздің жұмысымыздың нәтижесінде Аралдың люминесцентті микрофлорасы *Vibrio* тұқымдасына жататынын анықтағанымыз таңқаларлық емес. Бастапқыда тұщы судағы балық түрлері люминесцентті микрофлораға қоныстанғандығы қызықты көрінеді. Өйткені талдау геномның жеткілікті қысқа учаскесі бойынша жүргізілді, ал *Vibrio* тұқымында қазіргі уақытта RK27 штаммының *V. vulnificus* -қа, ал RK2 штаммының *V. cholerae* -ге жақындығының айқын көрінуіне қарамастан, 150-ден

астам түр бар, нақты түрді анықтау қосымша зерттеулерді қажет етеді. Каспий теңізі мен дүниежүзілік мұхит акваториясымен салыстырғанда Арал теңізі сияқты жеке су айдынындағы молекулалық сағаттардың жылдамдығын бағалау үшін оқшауланған штаммдардың генетикасын егжей-тегжейлі зерттеу де маңызды болады. Бұрын Охотск және Беринг теңіздеріндегі балықтардың ішектерінің люминесцентті психофилді *Aliivibrio logei* және *Photobacterium phosphoreum* бактерияларының колонизациясының маусымдық ауытқуы көрсетілген [14]. Осыған байланысты біз тапқан бактериялардың түрлері алып жатқан экологиялық тауашаларды одан әрі зерттеу қызығушылық тудырады, өйткені біз әртүрлі жиілікте жинаған үлгілерде екі морфологиялық типтің штамдары болды: RK2-ге ұқсас штамдар айтарлықтай жиі кездесті.

Қорытынды

Жұмыста тіршілік ету ортасының қатты ауытқуына байланысты күрделі гидрохимиялық табиғаты бар су қоймасы болып табылатын Арал теңізінің бірқатар микроорганизмдерінің люминесценциясы туралы жаңа мәліметтер келтірілген. Кіші Аралдың су айдынын мекендейтін және тұщы су балықтарының ішектерін мекендейтін флуоресцентті бактериялардың кем дегенде екі *Vibrio* тұқымдасына жататын түрлерінің болуы көрсетілген.Тұщы су балықтарының өкілдерімен өзара әрекеттесудегі теңіз микрофлорасының ерекше мінез-құлқы, люминесцентті микроорганизмдердің жаңа экологиялық табиғатта мекендейтін орнын зерделеу үшін, алғашқы зерттеулер ретінде қызмет етуі мүмкін.

Алғыс

Авторлар Арал ауданы Аманөткел ауылының балықшыларына және олардың бригадирі Асылбекке үлгілерді жинап, микрофлораны бастапқы егу процесіне көмектескені үшін, сондай-ақ жолсеріктер Айбек Қарсыбаев пен Жомартқа алғыстарын білдіреді

Қаржыландыру

Бұл жұмыс РГНФ қаржылық қолдауымен орындалды, жоба № 22-14-00124.

Әдебиеттер:

1 Urbanczyk H., Ast J.C, Higgins M.J., Carson J., Dunlap P.V. Reclassification of *Vibrio fischeri, Vibrio logei, Vibrio salmonicida* and *Vibrio wodanis* as *Aliivibrio fischeri* gen. nov., comb. nov., *Aliivibrio logei* comb. nov., *Aliivibrio salmonicida* comb. nov. and *Aliivibrio wodanis* comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol*, 2007, 57:2823-2829 (doi: 10.1099/ijs.0.65081-0)

2 Soto W. Emerging Research Topics in the *Vibrionaceae* and the Squid-Vibrio Symbiosis. *Microorganisms*, 2022, 10(10):1946. doi: 10.3390/microorganisms10101946.

3 Urbanczyk H., Ast J.C., Kaeding A.J., Oliver J.D. and Dunlap P.V. Phylogenetic Analysis of the Incidence of lux Gene Horizontal Transfer in Vibrionaceae. Journal of Bacteriology, 2008. 190(10): 3494–3504 (doi: 10.1128/JB.00101-08)

4 Zavilgelsky G.B., Shakulov R.S. Mechanisms and Origin of Bacterial Biolumenescence. *Molecular Biology*, 2018, 52(6):935-947 (doi: 10.1134/S0026898418060186)

5 Melkina O.E., Kotova V.Yu., Konopleva M.N., Manukhov I.V., Pustovoit K.S.б Zavilgelsky, G.B. Photoreactivation of UV-exposed *Escherichia coli* K12 AB1886 *uvrA6* via luminescence of *Photobacterium leiognathi* luciferase. *Molecular Biology* 2015: 49(6): 928-932.

6 Nyholm S.V., Stewart J.J., Ruby E.G., McFall-Ngai M.J. Recognition between symbiotic *Vibrio* fischeri and the haemocytes of Euprymna scolopes. *Environ. Microbiol*. 2009, 11(2):483-93 (doi: 10.1111/j.1462-2920.2008.01788.x.)

7 Soto W., Nishiguchi M.K. Microbial experimental evolution as a novel research approach in the vibrionaceae and squid-Vibrio symbiosis. *Front. Microbiol*, 2014, 5:593 (doi.org/10.3389/fmicb.2014.00593)

8 Dunlap P. Biochemistry and genetics of bacterial bioluminescence. *Adv Biochem Eng Biotechnol*., 2014, 144:37-64 (doi: 10.1007/978-3-662-43385-0_2)

9 Yazdi M.M.N., Mashreghi M., Bahreini M., Oroojalian F., Pordeli P. Biochemical characteristics of luminescent Vibrios isolated from the Caspian Sea and the Persian Gulf. *Clinical Biochemistry*, 2011, 44: S318 (doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2011.08.1015)

10 Зарубина А.П., Лукашев Е.П., Деев Л.И., Пархоменко И.М., Рубин А.Б., Шойынбекова С.А., Жылқыбаев О.Т., Құрманқұлов Н.Б. Люминисцентті бактериялардың тест-жүйелерін пайдаланып бір қабатты көміртекті нанотүтікшелердің биологиялық эффекттерін биотестілеу. *Вестник КазНУ. Серия биологическая*, 2012, 54(4):262-267

11 Bazhenov S.V., Novoyatlova U.S., Scheglova E.S., Prazdnova E.V., Mazanko M.S., Kessenikh A.G., Kononchuk O.V., Gnuchikh E.Y., Liu Y., Al Ebrahim R., et al. Bacterial lux-biosensors: Constructing, applications, and prospects. *Biosens. Bioelectron. X* 2023, 13:100323, (doi.org/10.1016/j.biosx.2023.100323)

12 Khrulnova S.A., Baranova A., Bazhenov S.V., Goryanin I.I., Konopleva M.N., Maryshev I.V., Zavilgelsky G.B. Lux-operon of the marine psychrophilic bacterium *Aliivibrio logei*: A comparative analysis of the LuxR1/LuxR2 regulatory activity in *Escherichia coli* cells. *Microbiology (United Kingdom)* 2016, 162(4):717-724. (doi: 10.1099/mic.0.000253)

13 Egerton S, Culloty S, Whooley J, Stanton C, Ross RP. The gut microbiota of marine fish. *Frontiers in Microbiology* 2018, 9:343795. (doi: 10.3389/FMICB.2018.00873)

14 Bazhenov, S. V.; Khrulnova, S.A.; Konopleva, M.N.; Manukhov, I. V Seasonal changes in luminescent intestinal microflora of the fish inhabiting the Bering and Okhotsk seas. *FEMS Microbiol. Lett*. 2019, 366, (doi.org/10.1093/femsle/fnz040)

15 Aladin N.V., Plotnikov I.S., Micklin P, and Ballatore T. Aral Sea: Water level, salinity and long-term changes in biological communities of an endangered ecosystem-past, present and future. *Natural Resources and Environmental Issues* 2009, 15:36

16 Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. Mol. Biol. Evol, 2018, 35:1547–1549 (doi: 10.1093/molbev/msy096)

17 Alexyuk M., Bogoyavlenskiy A., Alexyuk P., Moldakhanov Y., Berezin V., Digel I. Epipelagic microbiome of the Small Aral Sea: Metagenomic structure and ecological diversity. *MicrobiologyOpen*, 2021, 10: e1142 (doi.org/10.1002/mbo3.1142)

IRSTI: 34.27.21

A.K. YERNAZAROVA, G.K. KAIYRMANOVA*, U.T. SHAIMERDENOVA,
R.B. MAGMIYAYEV, A.R. ISLAMOVA
Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan
*e-mail: kaiyrman@kaznu.kz

IDENTIFICATION OF INDIGENOUS CULTURES OF MICROORGANISMS OF THE GENUS *BACILLUS* AND THEIR POTENTIAL APPLICATION FOR ENHANCED OIL RECOVERY

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.10

Abstract

The present study was conducted to isolate active Bacillus cultures from developed oil reservoirs as potential objects for the development of microbial enhanced oil recovery (MEOR) methods. Oil formation water from two oil fields "Zhetybai" and "Kulsary" located in Western Kazakhstan were used as study materials. 8 cultures of *Bacillus* genus were isolated and identified on the basis of phylogenetic analysis of 16S rRNA gene. The formation of acetic acid and biosurfactants were studied as target properties valuable for MEOR. It was revealed that the investigated microorganisms are able to synthesize acetic acid as well as fatty acids. Emulsifying activity was determined as an indicator of the presence of biosurfactants. The maximum emulsification index was observed in strains of *Bacillus sp.* ZhM-3 and *Bacillus sp.* KM-2 for crude oil - 80% and 65%, for hexane - 69% and 50%, respectively. As a result of this work it was shown that the cultures of *Bacillus sp.* ZhM-3 and *Bacillus sp.* KM-2 are active producers of organic acids (acetic and butyric acids) and biosurfactants capable of emulsifying crude oil, which makes them potentially effective for application in biotechnological processes aimed at enhancing oil recovery from depleted fields.

Keywords: microorganisms, *Bacillus*, MEOR, biosurfactants, emulsification.

Microbial enhanced oil recovery (MEOR) is the method of using microorganisms to improve recovery of oil from the reservoirs after secondary oil recovery [1, 2]. Nowadays, the necessity of improving and/or advancing the current enhanced oil recovery (EOR) processes to make them more efficient has attracted the attention of researchers and oil field operators.

Kazakhstan is among the top 15 countries in the world by essential oil reserves, having 3% of the world's total oil reserves. Fewer of the fields are in operation. Most of those fields are mature ones, and are difficult to recover. Most of the hydrocarbon fields have already been discovered and commercially produced. Oil fields under water flooding have reached a high water cut ranging from 80 to 90%, while a large volume of undeveloped oil reserves (up to 60–70%) are located in deep oil reservoir formations. In addition, high viscosity of oils and complex geological structures characterize most deposits in Kazakhstan [3]. In this regard, the development of tertiary methods to enhance oil recovery like MEOR allows rational use of natural oil resources and to get economic benefits from the production of additional oil.

MEOR is environmentally friendly, low in cost, and easy to operate [4]. The degradation of petroleum and the production of metabolites, like acids, gases and biosurfactants are the main mechanisms by which microbes can enhance oil recovery [5]. Products of metabolism of microorganisms are promising substances when replacing chemical surfactants, which are usually used in EOR. They are also low toxic, compared to synthetic surfactants, due to environmentally attractive alternatives [6]. Therefore, the isolation and screening key metabolite producing microorganisms are important parts of MEOR.

The main mechanisms of metabolites of microorganisms are reviewed in many works [1, 2, 7], including that microbial biosurfactants emulsify oil, reduce oil viscosity and interfacial tension at the oil-water interface; acids could dissolve the rocks and increase the porosity and permeability of the reservoir; polymers and gases, lead to a decrease in the viscosity of oil and

dissolving carbonate rocks, increasing the permeability [8].

In the present study, we examined eight strains of Bacillus isolated from oil reservoir waters. Thus, the aim of the present study includes: the isolation and screening biosurfactant and acid producing Bacilli from oil reservoirs.

Materials and methods of research

Samples collection

Two types of oil-reservoir water from two wells of West Kazakhstan's deposits were used:

1) the oilfield "Zhetybay", well № 4726, depth of 1900 m, pressure 15.5 MPA and temperature of 45°C, water content– 93%. Salinity - 95 g/l, viscosity at temperature of 20°C was 8.45 cP, and at 50°C was 4.25 cP, further will be marked as Sample 1.

2) the oilfield "Kulsary", well № 216, depth of 250 m, pressure 13 MPA and temperature of 17-20°C, salinity - 187 g/l, water content – 98%, viscosity at 20°C - 6.02 cP, and at 50°C - 2.48 cP, further will be marked as Sample 2.

The reservoir oil water samples were taken from the production pipeline. The location of oilfields is shown in Fig. 1.



Figure 1 – Map of location of the oilfields

Cultures of the genus *Bacillus* were isolated according to the method described by Travers et al. (Travers et al., 1987) [9], as well as on differential media (HiMedia, India). Bacillus genus cultures were incubated at 30°C for 24 h.

When culturing microorganisms, synthetic medium E8 with the following composition, g/L, was used as a mineral background: KH2PO4, 0.7; (NH4)2HPO4-1.5; MgSO4 0.8; NaCl, 0.5; pH, 6.6-6.7, where crude oil 2% was added as carbon source. The crude oil used was crude viscous oil from the Akingen field with the following characteristics: density - 902.9 kg/m³, tar content 26%, sulfur content 0.22%. Horizon oil is heavy, tarry, low-sulfur.

Genomic identification of specific bacteria was based on sequencing of the gene coding for 16SRNA [10], the PCR program was performed using the GeneAmp PCR system 9700 amplifier (Applied Biosystems). Genomic DNA was isolated using Wizard®Genomic DNA Purification Kit (PromegaCorp., Madison, WI, USA). DNA fragments were separated via 1% agarose gel electrophoresis. Polymerase chain reaction (PCR) was used to amplify the DNA segment that can provide bacterial identification. The primers used for amplifying the conserved regions within 16S rRNA genes were: forward primer. - AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3 and reverse primer GGACTACCAGGGTATCTAAT in a total volume of 30 µl. Purification of PCR products was performed using an enzymatic method using Exonuclease I (Fermentas) and alkaline phosphatase (Shrimp Alkaline Phosphatase, Fermentas).

Sequencing results were processed using the SeqScape 2.6.0 program (Applied

Biosystems). Homologous nucleotide sequences of 16S rRNA genes were searched using the BLAST program (BasicLocalAlignmentSearchTool) in the International GeneBank database of the US National Center for Biotechnological Information (htpp: //www.ncbi.nlm.nih.gov).

The Mega X program [11] was used to construct the phylogenetic tree of bacteria, also the website bacterio.net (List of names of prokaryotes with position in the nomenclature). The Muscle algorithm built by the Neighbor-Joining NJ method was used to align nucleotide sequences.

Microbial emulsification index was determined according to Cooper's method [12]. The culture supernatant was used with crude oil in a 3:2 ratio and mixed on a laboratory shaker at 250 rpm for 20 min to obtain a stable emulsion. The tubes were then kept in an upright position at room temperature. Hexane with a density of 655 kg/m^3, which is a clear colorless liquid with an odor of oil, was used in the experiment. And crude oil from the Akingen field.

The emulsification index was expressed as a percentage, calculated by the formula:

$$E_{24} = \left(\frac{V_e}{V_n}\right) \times 100 \qquad (1)$$

Where, V_e – Is the volume of the emulsion

V_n – is full volume of liquid, including total volume of water phase (culture or supernatant) + volume of hydrocarbon phase (crude oil) + volume of generated emulsion.

Analytical methods

Liquid samples collected after 8 days of fermentation were analyzed for acid content using a gas chromatograph (model Agilent 7890A, Agilent Ltd., USA). Specific acids such as acetic acid, propionic acid and butyric acid were measured. The pH of the fermentation medium was measured using a C931P pH meter. Statistical calculations were performed using the Excel 7 tabular processor.

Results and discussion

The microbial diversity of crude oil, oil-contaminated sites, produced water, and various oil reservoirs has been considered in many studies, and a wide variety of microorganisms has been shown [13-16]. Most of the species found in the studied samples belonged to different families of bacteria, with predominance of representatives of the genera Pseudomonas and Bacillus, which was also mentioned in other studies [14, 15]. Representatives of the genus Bacillus are known to be producers of major metabolites valuable for MEOR, in particular, as producers of biosurfactants, mainly such biosurfactants as surfactin, lichenisin, polypeptide and rhamnolipid, and are one of the well-known and thoroughly studied microorganisms due to their ability to reduce interfacial surface activity and other properties [17, 18, 19].

In the studied samples from the deposits "Zhetybai" and "Kulsary" were isolated 8 cultures of microorganisms, of which 5 strains (KE-1, KB-4, KM-2, KB-2, KMA-2) originated from the deposit "Kulsary", and 3 strains (ZhS-1, ZhB-1, ZhM-3) were found in the deposit "Zhetybai". The cells of 8 strains KE-1, KB-4, KM-2, KB-2, KMA-2, ZhS-1, ZhB-1, ZhM-3 were Gram-positive, bacilliform (about 0.5-0.9 μm wide and 1.1-2.4 μm long), endospore-forming bacteria. Colonies were spreading and irregularly shaped.

16S rRNA gene sequence analysis.

The results of the 16S rRNA sequence analysis suggest that strains KE-1, KB-4, KM-2, KB-2, KMA-2, ZhS-1, ZhB-1, ZhM-3 possess 99% sequence similarity with the Bacillus genus. A phylogenetic tree based on the 16S rDNA sequence of isolated strains and the closest related strains was constructed by neighbor-joining (Fig. 2).

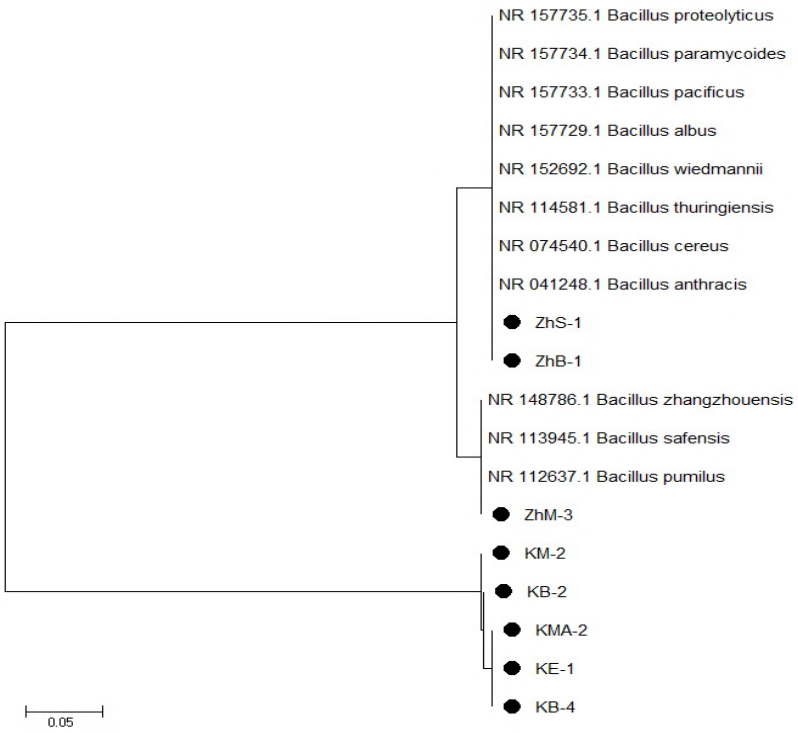


Figure 2 – Phylogenetic tree of the strains through neighbor-joining methods using MEGA version X

Genetic identification of bacterial isolates using full-length sequencing of 16S rRNA gene confirmed that 8 bacterial cultures isolated from oil patch water belong to the genus Bacillus.

The next step of the work was to study the production, valuable for MEOR, of metabolites such as organic acids, gas and biosurfactants.

To study the production of various organic acids and carbon dioxide by microorganisms, synthetic medium E8 was used, where 2% crude oil was used as the only carbon source in the medium. The experiment was carried out for 8 days.

Figure 3 shows the results of determining the amount of organic acids produced by microorganisms on the medium with the addition of oil for 8 days.

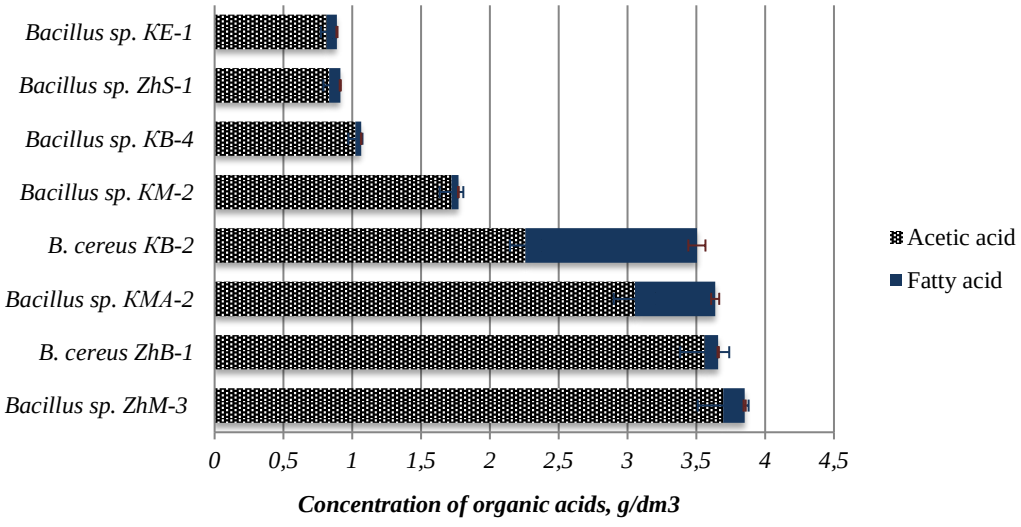


Figure 3 – Production of organic acids by *Bacillus*

The study of the qualitative and quantitative composition of organic acids showed that Bacillus cells produce acetic acid in greater amounts and, downwardly, butyric acid, then, in trace amounts, propionic acid. The most active acetic acid producers are *Bacillus sp.* ZhM-3 and *Bacillus sp.* ZhB-1, so, by the end of 8 days this index amounted to 3.695 g/dm3 and 3.561 g/dm3, respectively. The maximum production of butyric acid was observed for *Bacillus spp*. KB-2 and *Bacillus spp*. KMA-2 and by the end of the experiment the acid content was 1.2 g/dm3 and 0.6 g/dm3, respectively, other cultures produced significantly less butyric acid. The content of propionic acid in the fermented medium was negligible or in trace amounts (0.028-0.061 g/dm3) by the end of the experiment.

When studying the production of organic acids by Bacillus cultures, it was shown that the quantitative composition of the production of different acids depends on the composition of the media, however, acetic acid was the main acidic component, it should also be noted that in addition to acetic acid, Bacillus cultures produced other acids such as formic acid, propionic acid, isobutyric acid, succinic acid and isovaleric acid, but their amounts were much less than acetic acid [20]. Some works mention that representatives of p. Bacillus change the proportion of unsaturated fatty acids to adapt to a wide range of environmental changes [21, 22]. In such quantities, they are unlikely to have a significant effect on enhanced oil recovery, but this product may play an important role in adaptation to the extreme conditions of the oil reservoir and in creating an association for use in MEOR, since fatty acids may have antimicrobial activity against other microorganisms, as well as serve as a source of nutrients for other microorganisms [23, 24].

Figure 4 shows the results of pH change (initial and by the end of the experiment) when culturing bacilli on synthetic medium with oil; the variant without microorganisms was used as a control.

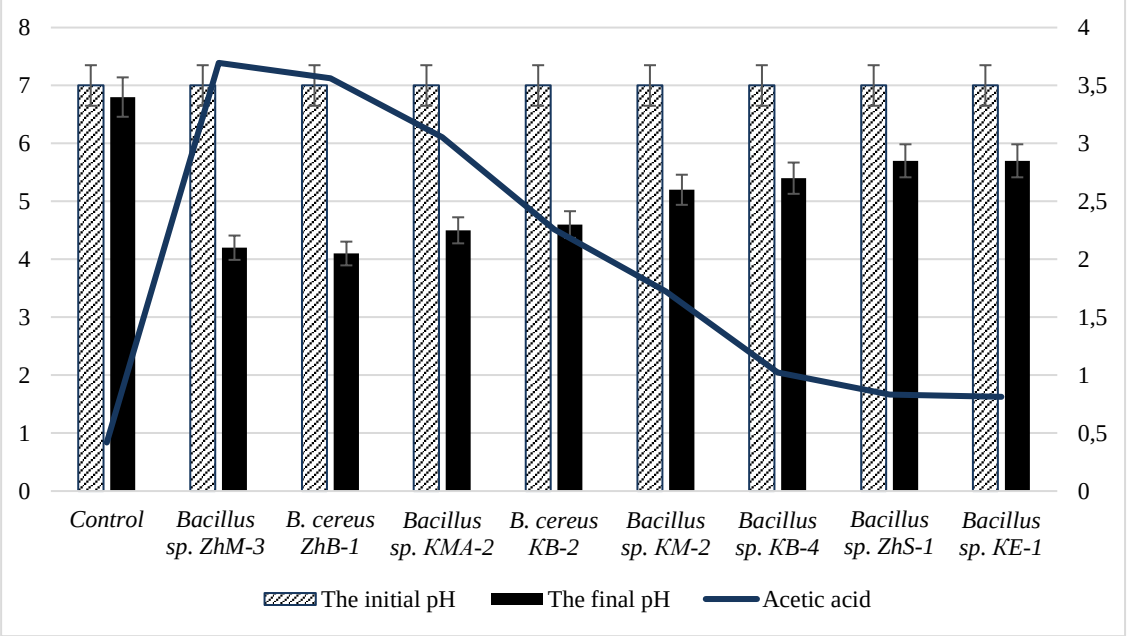


Figure 4 – Correlative change in the acidity of the medium during binding to the product acetic acid

As can be seen, all cultures ferment the substrate with acidification of the medium, i.e. the cells produce organic acids, thus, of the 8 cultures of bacilli *B. sp*. ZhM-3, *B. cereus* ZhB-1, *B.sp*. KMA-2 and *B. cereus* KB-2 showed the highest acid-producing ability, with a maximum decrease in the pH of the medium by the end of the experiment of 5-4.1 units at an initial pH of 7 units. These results correlate with the amount of acetic acid produced by these cultures. The decrease of pH value indicated the formation of acidic catabolic metabolites [20]. In addition, the

final pH value and acetic acid concentration were correlated. At the maximum acetic acid content in the medium - 3.695 g/dm^3, the pH value of the medium by the end of the experiment reached 4.1 units.

The emulsifying activity index estimates the ability of biosurfactants produced by bacteria to emulsify two immiscible liquids. Many researchers have noted that oil emulsification is one of the significant mechanisms of MEOR [5, 25, 26]. Oil emulsifying activity is the ability of surfactant-producing microorganisms to form tiny oil emulsions, which increases the efficiency of contact between bacteria and hydrocarbons. There are two types of emulsifying activity: exogenous emulsifying activity - the ability of microorganisms to form extracellular biosurfactants and endogenous emulsifying activity - the ability of microorganisms to form cell-associated biosurfactants [27]. The ability of microorganisms to produce oil-dispersing bioemulsifiers was investigated by endogenous emulsifying activity (E_{24}) in 24 hours.

Figure 5 shows the results of the study of the emulsification index of oil and hexane by Bacillus cells. Hexane was used as a comparative product obtained from oil.

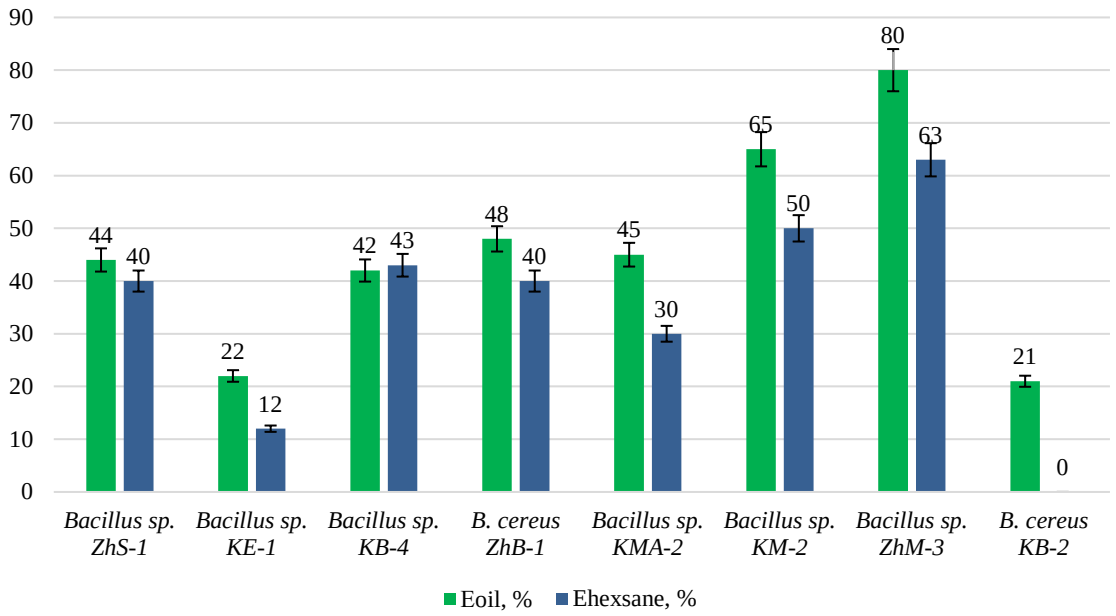


Figure 5 – Determination of oil and hexane emulsification index (E) by Bacillus cells

As can be seen in Figure 5, the emulsification index of crude oil by *Bacillus* is higher (21-80 %) than that of E_{hexane} (12-63 %). The maximum ability to emulsify crude oil is possessed by cells of *Bacillus sp.* ZhM-3 - 80% and *Bacillus sp.* KM-2 - 65%. It should be noted that for the same cultures the same correlation with hexane emulsification index (E) is observed, although the numerical values are lower, so the maximum E_{hexane} was observed in *Bacillus sp*. ZhM-3 and amounted to 63%. The effectiveness of some bacteria, including the genera Bacillus, capable of producing biosurfactants, has been described in a number of works, so the greater the proportion of stable emulsions formed, the greater the amount of biosurfactant produced by microorganisms, also the emulsification index of crude oil above 50% is an indicator of promising bacteria used in the oil industry [27, 28, 29, 30]. Lipopeptide surfactins and lichenisin produced by Bacillus strains are among the most studied biosurfactants. These biosurfactants are known to reduce surface and interfacial tension among other properties and are able to mobilize trapped oil, so bacteria capable of producing these biosurfactants are good agents for MEOR applications.

Thus, cultures of *Bacillus sp*. ZhM-3 and *Bacillus sp*. KM-2 isolated from oil formation water have high crude oil emulsification index of 80% and 65%, respectively, and are promising targets for the oil industry.

Conclusion

As a result of this study, 8 Bacillus cultures were isolated from oil patch waters and identified as members of the genus Bacillus.

In order to develop MEOR, the isolated indigenous cultures of oil reservoirs were studied for their liquefying and emulsifying properties against crude oil (organic acid production, emulsification index). All strains of bacilli on medium with crude oil showed the ability to produce more acetic acid, then butyric acid, whereas propionic acid synthesis is insignificant for all bacilli. The maximum acetic acid producers on medium with crude oil were shown by cultures of *Bacillus sp*. ZhM-3 and *Bacillus sp.* ZhB-1 (3.7 g/dm3 and 3.6 g/dm3 respectively). Out of the 8 cultures, two cultures, *Bacillus sp*. ZhM-3 and *Bacillus sp*. KM-2 (80 and 65%, respectively) showed high results in emulsifying crude oil. Based on the work carried out, 3 cultures of *Bacillus sp.* ZhM-3, *Bacillus cereus* ZhB-1 and *Bacillus sp.* KM-2, which are active acetic acid producers and capable of emulsifying crude oil, making them potentially effective for application in biotechnological processes aimed at enhancing oil recovery from mature fields.

Funding

This research has been/was/is funded by the Science Committee of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan (Grant No. BR18574066).

References:

1 Lazar I., Petrisor I.G., Yen T.F.: Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR), *Pet. Sci. Technol, 25*, 2007: 1353–1366 (doi:10.1080/10916460701287714)

2 Yernazarova A., Kayirmanova G., Baubekova A., Zhubanova A.: Microbial enhanced oil recovery, Ed. by Laura Romero-Zeron University of New Brunswick, Canada, *IntechOpen*, Rijeka, 2016, (doi: 10.5772/64805)

3 Kurbanbayev M.I., Miroshnikov V.Y., Tolokonsky S.I.: Enhancement of oil recovery in Kazakhstan deposits. *In Proceedings of the III International Scientific Symposium "Theory and Practice of Application of Enhanced Oil Recovery Techniques"* (in Russian), Moscow, 2011: 243, September 20-21.

4 She H., Kong D., Li Y., Hu Z., Guo H.: Recent Advance of Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR) in China, *Geofluids*, 2019 (doi.org/10.1155/2019/1871392)

5 Geeth S.J., Banat I.M., Joshi S.J.: Biosurfactants: Production and potential applications in microbial enhanced oil recovery (MEOR), *Biocatal. Agric. Biotechnol, 14*, 2018: 23–32 (doi:10.1016/j.bcab.2018.01.010)

6 Câmara J.M.D.A., Sousa M.A.S.B., Barros Neto E.L., Oliveira M.C.A.: Application of rhamnolipid biosurfactant produced by Pseudomonas aeruginosa in microbial-enhanced oil recovery (MEOR), *J. Pet. Explor. Prod. Technol., 9*, 2019: 2333–2341 (doi:10.1007/s13202-019-0633-x)

7 Vishnyakov V., Suleimanov B.; Salmanov A., Zeynalov E.: *Primer on Enhanced oil recovery, Imprint Gulf Professional Publishing*, 2020: 161–169.

8 Shibulal B., Al-Bahry S.N., Al-Wahaibi Y.M., Elshafie A.E., Al-Bemani A.S., Joshi S.J.: Microbial-Enhanced Heavy Oil Recovery under Laboratory Conditions by Bacillus firmus BG4 and Bacillus halodurans BG5 Isolated from Heavy Oil Fields, *Colloids Interfaces,* 2018, 2(1):1 (doi: 10.3390/colloids2010001)

9 Travers R.S., Martin P.A., Reichelderfer C.F.: Selective Process for Efficient Isolation of Soil Bacillus spp, *Appl. Environ. Microbiol.*, 53(6), 1987: 1263–1266 (doi: 10.1128/AEM.53.6.1263-1266.1987)

10 Clarridge 3rd J.E.: Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases, *Clin. Microbiol. Rev.*, 2004, 17: 840–862, (doi:10.1128/CMR.17.4.840-862.2004)

11 Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura K.: MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms, *Mol. Biol. Evol., 35*, 2018: 1547–1549 (doi: 10.1093/molbev/msy096)

12 Cooper D.G., Goldenberg B.G.: Surface-active agents from two bacillus species, *Appl. Environ. Microbiol., 53*, 1987: 224–229 (doi: 10.1128/aem.53.2.224-229.1987)

13 Yernazarova A., Kaiyrmanova G., Zhubanova A.: Microorganisms in Oil Reservoirs of West

Kazakhstan, *Int. J. resent Technol. Eng.*, *7*, 70–72: 2018 (ISSN: 2277-3878)

14 Korenblum E., Souza D.B., Penna M., Seldin L.: Molecular analysis of the bacterial communities in crude oil samples from two brazilian offshore petroleum platforms, *Int. J. Microbiol.*, 2012: 156537 (doi:10.1155/2012/156537)

15 Ridley C.M., Voordouw G.: Aerobic microbial taxa dominate deep subsurface cores from the Alberta oil sands, *FEMS Microbiol. Ecol.*, *94*, 2018 (doi: 10.1093/femsec/fiy073)

16 Vinothini C., Sudhakar S., Ravikumar R.: Biodegradation of petroleum and crude oil by Pseudomonas putida and Bacillus cereus, *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, *4*, 2015: 318–329 (ISSN: 2319-7706)

17 Fritze D.: Taxonomy of the Genus Bacillus and Related Genera: The Aerobic Endospore-Forming Bacteria, *Phytopathology®*, *94*, 2004: 1245–1248 (doi: 10.1094/PHYTO.2004.94.11.1245)

18 Phetcharat T., Dawkrajai P., Chitov T., Mhuantong W., Champreda V., Bovonsombut S.: Biosurfactant-Producing Capability and Prediction of Functional Genes Potentially Beneficial to Microbial Enhanced Oil Recovery in Indigenous Bacterial Communities of an Onshore Oil Reservoir, *Curr. Microbiol.*, *76*, 2019: 382–391 (doi: 10.1007/s00284-019-01641-8)

19 Purwasena I.A., Astuti D.I., Syukron M., Amaniyah M., Sugai Y. Stability test of biosurfactant produced by Bacillus licheniformis DS1 using experimental design and its application for MEOR. *J. Pet. Sci. Eng.* 2019, *183*: 106383 (doi: 10.1016/j.petrol.2019.106383)

20 Paavilainen S., Helistö P., Korpela T.: Conversion of carbohydrates to organic acids by alkaliphilic bacilli, *J. Ferment. Bioeng.*, *78*, 1994: 217–222 (doi: 10.1016/0922-338X(94)90293-3)

21 Ginies C., Brillard J., Nguyen-The C.: Identification of Fatty Acids in Bacillus cereus, *JoVE*, e54960, 2016 (doi: 10.3791/54960)

22 Diomande S., Nguyen-The C., Guinebretière M.H., Broussolle V., Brillard J.: Role of fatty acids in Bacillus environmental adaptation, *Front. Microbiol.*, *6*, 2015: 813 (doi: 10.3389/fmicb.2015.00813)

23 Çelik A., Sperandio D., Speight R.E., Turner N.J.: Enantioselective epoxidation of linolenic acid catalysed by cytochrome P450BM3 from Bacillus megaterium, Org. Biomol. Chem., 3, 2005: 2688–2690 (doi: 10.1039/B506155E)

24 Hou C.T.: New bioactive fatty acids, *Asia Pac. J. Clin. Nutr.*, *17 Suppl 1*, 2008, 192–195, PMID: 18296335.

25 Ke C.Y., Lu G.M., Li Y.B., Sun W.J., Zhang Q.Z., Zhang X.L.: A pilot study on large-scale microbial enhanced oil recovery (MEOR) in Baolige Oilfield, *Int. Biodeterior. Biodegradation*, *127*, 2018: 247–253 (doi: 10.1016/j.ibiod.2017.12.009)

26 Safdel M., Anbaz M.A., Daryasafar A., Jamialahmadi M.: Microbial enhanced oil recovery, a critical review on worldwide implemented field trials in different countries, *Renew. Sustain. Energy Rev.*, *74*, 2017: 159–172 (doi: 10.1016/j.rser.2017.02.045)

27 Rossiana N., Miranti M., Maspudin K.: Prospective Study of Bacillus sphaericus and Pseudomonas aeruginosa as The Microbial Enhanced Oil Recovery Agents, *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, *166*, 2018: 12018 (doi:10.1088/1755-1315/166/1/012018)

28 Joshi S.J., Desai A.J.: Bench-Scale Production of Biosurfactants and their Potential in Ex-Situ MEOR Application, *Soil Sediment Contam. An Int. J.*, *22*, 2013: 701–715 (doi: 10.1080/15320383.2013.756450)

29 Pereira J.F.B., Gudiña E.J., Costa R., Vitorino R., Teixeira J.A., Coutinho J.A.P., Rodrigues L.R.: Optimization and characterization of biosurfactant production by Bacillus subtilis isolates towards microbial enhanced oil recovery applications, *Fuel*, *111*, 2013: 259–268 (doi: 10.1016/j.fuel.2013.04.040)

30 Szulc A., Ambrozewicz D., Sydow M., Ławniczak Ł., Piotrowska Cyplik A., et al. The influence of bioaugmentation and biosurfactant addition on bioremediation efficiency of diesel-oil contaminated soil: feasibility during field studies. *J. Environ. Manage*. 2014.132: 121– 128. (doi: 10.1016/j.jenvman.2013.11.006)

А.К. ЕРНАЗАРОВА, Г.Қ. ҚАЙЫРМАНОВА*, Ұ.Т. ШАЙМЕРДЕНОВА,
Р.Б. МАГМИЯЕВ, А.Р. ИСЛАМОВА
әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық Университеті, Алматы, Қазақстан
*e-mail: kaiyrman@kaznu.kz

АБОРИГЕНДІ *BACILLUS* ТУЫСЫ МИКРОБ ДАҚЫЛДАРЫНЫҢ АНЫҚТАЛУЫ ЖӘНЕ ОЛАРДЫҢ МҰНАЙ ШЫҒАРУДЫ ЖОҒАРЫЛАТУЫНДА ҚОЛДАНЫЛУ МҮМКІНШІЛІГІ

Түйін

Бұл зерттеу мұнай шығаруды жоғарылатудың микробиологиялық әдістерін (Microbial enhanced oil recovery – MEOR) әзірлеу үшін әлеуетті нысандар ретінде дамыған мұнайпласттарынан белсенді *Bacillus* дақылдарын оқшаулау мақсатында жүргізілді. Зерттеу материалдары ретінде Батыс Қазақстанда орналасқан "Жетібай" және "Құлсары" екі мұнай кен орнының мұнайпласт сулары пайдаланылды. *Bacillus* тұқымының сегіз дақылы 16S рРНҚ генінің филогенетикалық талдауы негізінде бөлініп алынды және анықталды. MEOR үшін құнды мақсатты қасиеттер ретінде сірке қышқылы мен биосурфактанттардың түзілуі зерттелді. Зерттелетін микроорганизмдердің май қышқылдарымен қатар сірке қышқылын да синтездеуге қабілетті екендігі анықталды. Биосурфактанттардың түзілуінің көрсеткіші ретінде эмульгирлеуші белсенділігі анықталды. |Ең жоғары эмульсия индексі *Bacillus sp.* ZhM-3 және *Bacillus sp.* KM-2 штаммдарында байқалды – шикі мұнай үшін 80% және 65%, сәйкесінше гексан үшін 69% және 50%. Жүргізілген жұмыстардың нәтижесінде *Bacillus sp.* ZhM-3 және *Bacillus sp.* KM-2 дақылдары органикалық қышқылдардың (сірке және май қышқылдары) және шикі мұнайды эмульгирлеуге қабілетті биосурфактанттардың белсенді өндірушілері болып табылады, бұл оларды сарқылған кен орындарынан мұнай шығаруды жоғарылатуға бағытталған биотехнологиялық процестерде қолдану үшін әлеуетті тиімді етеді.

Кілтті сөздер: микроорганизмдер, *Bacillus*, MEOR, биосурфактанттар, эмульсия.

МРНТИ: 34.27.21

А.К. ЕРНАЗАРОВА, Г.К. КАЙЫРМАНОВА*, У.Т. ШАЙМЕРДЕНОВА,
Р.Б. МАГМИЯЕВ, А.Р. ИСЛАМОВА
Казахский Национальный Университет имени аль-Фараби г.Алматы, Республика Казахстан
*e-mail: kaiyrman@kaznu.kz

ИДЕНТИФИКАЦИЯ АБОРИГЕННЫХ КУЛЬТУР МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА *BACILLUS* И ИХ ПОТЕНЦИАЛЬНОЕ ПРИМЕНЕНИЕ ДЛЯ УВЕЛИЧЕНИЯ НЕФТЕОТДАЧИ ПЛАСТОВ

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.10

Аннотация

Настоящее исследование проведено с целью выделения из разработанных нефтепластов активных культур рода *Bacillus,* как потенциальных объектов для разработки микробиологических методов увеличения нефтеотдачи (Microbial enhanced oil recovery – MEOR). В качестве материалов исследования использована нефтепластовая вода двух нефтяных месторождений "Жетыбай" и "Кульсары", расположенных в Западном Казахстане. Выделены и идентифицированы на основе филогенетического анализа гена 16S рРНК 8 культур рода *Bacillus*. В качестве целевых ценных свойств для MEOR проводили изучение продукции органических кислот и биосурфактантов. Выявлено, что исследуемые микроорганизмы способны синтезировать уксусную и масляную кислоты. В качестве показателя наличия биосурфактантов определяли индекс эмульгирования сырой нефти и гексана. Максимальный индекс эмульгирования отмечен у культур *Bacillus sp.*

ZhM-3 и *Bacillus sp.* KM-2 для сырой нефти – 80% и 65%, для гексана - 69% и 50%, соответственно. В результате проведенной работы показано, что культуры *Bacillus sp.* ZhM-3 и *Bacillus sp.* KM-2 являются активными продуцентами органических кислот (уксусной и масляной) и биосурфактантов, способных к эмульгированию сырой нефти, что делает их потенциально эффективными для применения в биотехнологических процессах, направленных на повышение нефтеотдачи выработанных месторождений.

Ключевые слова: микроорганизмы, *Bacillus,* MEOR, биосурфактанты, эмульгирование.

Микробиологический метод увеличения нефтеотдачи (Microbial enhanced oil recovery – MEOR) – это метод использования микроорганизмов для увеличения нефтеотдачи пластов после выработки средних и лёгких нефтей традиционными методами добычи [1, 2]. В настоящее время, в связи с истощением легкоизвлекаемых запасов нефти, нефтедобывающей отрасли придётся уделять большее внимание освоению и вводу в промышленную разработку трудноизвлекаемых нефтей, в том числе, выработанным месторождениям с тяжёлой остаточной нефтью. В связи с этим, необходимость улучшения и усовершенствования существующих методов увеличения нефтеотдачи (MEOR) с целью повышения их эффективности привлекает внимание исследователей и операторов нефтяных месторождений.

Казахстан входит в число 15 ведущих стран мира по основным запасам нефти, имея 3 % от мировых запасов нефти. Большинство месторождений находится в эксплуатации, однако обводненность нефтепластов достигает 80–90 %, что относит их к выработанным месторождениям с большим количеством тяжелой остаточной нефти до 60 %. Кроме того, для большинства месторождений Казахстана характерны высокая вязкость нефтей и сложное геологическое строение пластов, что относит продукт к трудноизвлекаемым нефтям [3]. В связи с вышеперечисленным, развитие третичных методов увеличения нефтеотдачи для разработки тяжёлых высоковязких нефтей, позволяет рационально использовать природные нефтяные ресурсы и получать экономический эффект от добычи дополнительной нефти [4].

В биотехнологиях увеличение нефтеотдачи и дополнительное вытеснение нефти обусловливают те же механизмы, что и при физико-химических методах, но микробные метаболиты (кислоты, газы, биосурфактанты) образуются непосредственно в порах пласта, что увеличивает эффективность их воздействия [5]. Продукты метаболизма микроорганизмов являются перспективными веществами при замене химических поверхностно-активных веществ, которые обычно используются при MEOR. Метаболиты являются малотоксичными в сравнении с синтетическими ПАВ, что делает их экологически привлекательными альтернативами [6]. Выделение и скрининг ключевых метаболитов, продуцируемых микроорганизмами, являются важными составляющими MEOR.

Основные механизмы действия микробных метаболитов для MEOR рассмотрены во многих работах, в частности, микробные биосурфактанты эмульгируют нефть, снижают вязкость нефти и межфазное натяжение на границе раздела нефть-вода; кислоты также обусловливают снижение вязкости нефти и растворение карбонатных пород, увеличивая пористость и проницаемость нефтепласта; газы образуют дополнительное давление в пласте, что в итоге приводит к подвижности нефти и продвижению на поверхность [1, 2, 7, 8].

Цель настоящего исследования – выделение, идентификация и изучение ценных свойств культур р. *Bacillus*, выделенных из разработанных нефтепластов, для разработки методов повышения нефтеотдачи.

Материалы и методы исследования

В работе использованы пробы нефтепластовых вод следующих месторождений Западного Казахстана:

1) месторождение "Жетыбай", скважина № 4726, глубина 1900 м, давление 15,5 МПА, температура 45°С, обводненность - 93%, соленость - 95 г/л, вязкость при температуре 20°С составляла 8,45 сП, а при 50°С - 4,25 сП, далее обозначается как Образец 1.

2) месторождение "Кульсары", скважина № 216, глубина 250 м, давление 13 МПА и температура 17-20°С, минерализация - 187 г/л, обводненность - 98%, вязкость при температуре 20°С - 6,02 сП, а при 50°С - 2,48 сП, далее обозначается как Образец 2.

Пробы пластовой воды отбирались из эксплуатационного трубопровода и транспортировались в течение 10-18 часов при 0-(+2)°С. Расположение месторождений представлено на рисунке 1.

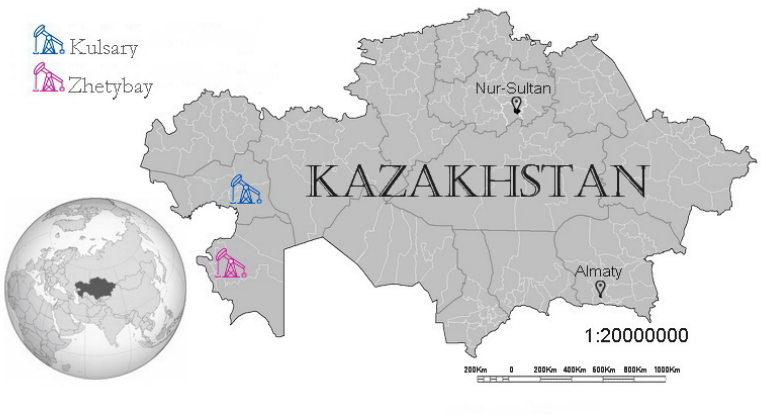


Рисунок 1 – Карта расположения нефтяных месторождений

Бациллярные культуры выделены по методу Траверса (Travers et al., 1987) [9], а также на дифференциальных питательных средах (HiMedia, Индия) при инкубации при 30°С в течение 24 ч.

При культивировании микроорганизмов в качестве минерального фона использовалась синтетическая питательная среда Е8 следующего состава, г/л: KH_2PO_4 - 0,7; $(NH_4)_2HPO_4$-1,5; $MgSO_4$ 0,8; NaCl - 0,5; pH - 6,6–6,7, где в качестве источника углерода добавляли сырую нефть (2 %). В качестве сырой нефти использовалась сырая вязкая нефть с месторождения Акинген со следующими характеристиками: плотность - 902,9 кг/м³, содержание смолы - 26%, серы - 0,22%. Нефть горизонта тяжелая, смолистая, малосернистая.

Геномная идентификация конкретных бактерий основывалась на секвенировании гена, кодирующего 16SRNA [10], ПЦР-программу проводили с использованием амплификатора GeneAmp PCR system 9700 (Applied Biosystems). Геномную ДНК выделяли с помощью набора Wizard®Genomic DNA Purification Kit (PromegaCorp., Madison, WI, USA). Фрагменты ДНК разделяли с помощью электрофореза в 1% агарозном геле. Полимеразная цепная реакция (ПЦР) использовалась для амплификации сегмента ДНК, обеспечивающая идентификацию бактерий. Для амплификации консервативных участков генов 16S рРНК использовали следующие праймеры: прямой праймер - AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3 и обратный праймер GGACTACCAGGGTATCTAAT в общем объеме 30 мкл. Очистку продуктов ПЦР проводили ферментативным методом с использованием экзонуклеазы I (Fermentas) и щелочной фосфатазы (Shrimp Alkaline Phosphatase, Fermentas).

Результаты секвенирования обрабатывались с помощью программы SeqScape 2.6.0 (Applied Biosystems). Поиск гомологичных нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК проводился с использованием программы BLAST (BasicLocalAlignmentSearchTool)

в международной базе данных GeneBank Национального центра биотехнологической информации США (htpp: //www.ncbi.nlm.nih.gov).

Для построения филогенетического древа бактерий использовалась программа Mega X [11], также сайт bacterio.net (Список названий прокариот с положением в номенклатуре). Для выравнивания нуклеотидных последовательностей использовали алгоритм Muscle, построенный методом Neighbor-Joining NJ.

Микробный индекс эмульгирования определяли по методу Купера [12]. Для оценки эндогенной эмульгирующей активности культуральную среду не центрифугировали. Далее культуральную среду с бактериальными клетками смешивали с углеводородным субстратом (сырая нефть, гексан) в соотношении 3:2 и перемешивали на лабораторном шейкере при 250 об/мин в течение 20 мин для получения стабильной эмульсии. После этого пробирки выдерживались в вертикальном положении в течение 24 ч при комнатной температуре. В качестве гидрофобных субстратов использовали сырую нефть (Акинген) и гексан – нефтяной продукт, представляющий собой прозрачную бесцветную жидкость.

Индекс эмульгирования выражался в процентах, рассчитывался по формуле:

$$E_{24} = \left(\frac{V_e}{V_n}\right) \times 100 \qquad (1)$$

где, V_e – обьем эмульсии,

V_n – полный объем жидкости, включающий общий объем водной фазы (культура или супернатант) + объем углеводородной фазы (сырая нефть) + объем образовавшейся эмульсии.

Образцы жидкости, отобранные после 8 суток ферментации, были проанализированы на содержание кислот с помощью газового хроматографа (модель Agilent 7890A, Agilent Ltd., США). Измерялись такие специфические кислоты, как уксусная, пропионовая и масляная кислоты. Измерение pH ферментационной среды проводилось на приборе pH-метр С931Р. При проведении статистических расчетов использовали табличный процессор Excel 7.

Результаты и обсуждение

Микробное разнообразие сырой нефти, нефтезагрязненных участков, пластовых вод, а также различных нефтяных резервуаров рассматривалось во многих исследованиях и было показано широкое разнообразие микроорганизмов [13-16]. Большинство видов, обнаруженных в исследованных образцах, относились к разным семействам бактерий, с преобладанием представителей родов *Pseudomonas* и *Bacillus,* что также упоминалось в других исследованиях [14, 15]. Микроорганизмы, обитающие в нефтяных пластах, обладают большим биотехнологическим потенциалом и продуцируют из нефти биомассу и ряд метаболитов с нефтевытесняющими свойствами. Это различные газы, кислоты, ПАВ, растворители, полимеры и сами бактериальные клетки [13, 14]. Известно, что представители рода *Bacillus* являются продуцентами основных метаболитов, ценных для MEOR, в частности, таких биосурфактантов как: сурфактин, лихенизин, полипептид и рамнолипид, и являются одними из хорошо известных и тщательно изученных микроорганизмов из-за их способности к снижению межфазной поверхностной активности и других свойств [17, 18, 19].

В исследованных образцах месторождений "Жетыбай" и "Кульсары" было выделено 8 культур, из которых: 5 культур обозначены как KE-1, KB-4, KM-2, KB-2, KMA-2, так как происходили из месторождения "Кульсары", 3 культуры - как ZhS-1, ZhB-1, ZhM-3, так как обнаружены из нефтепластов месторождения "Жетыбай". Все выделенные культуры – спорообразующие, подвижные, грамположительные палочки (около 0,5-0,9 мкм в ширину и 1,1-2,4 мкм в длину). Колонии мелкобугристые, матовые с волнистым крем, неправильной формы.

Результаты анализа последовательности 16S рРНК свидетельствуют о том, что штаммы KE-1, KB-4, KM-2, KB-2, KMA-2, ZhS-1, ZhB-1, ZhM-3 имеют 99% сходства с родом *Bacillus*. Филогенетическое древо на основе последовательностей 16S рДНК, выделенных штаммов и ближайших родственных штаммов, построено методом соседних связей (рисунок 2).

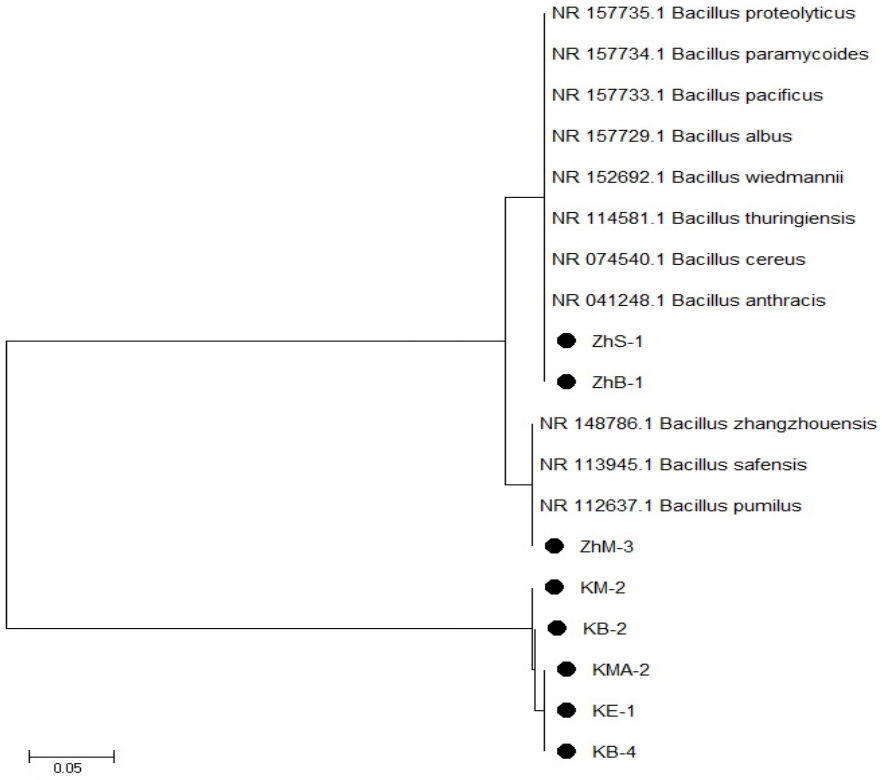


Рисунок 2 – Филогенетическое дерево штаммов, построенное методом neighbor-joining с использованием программы MEGA версии X

Генетическая идентификация бактериальных изолятов с помощью полноразмерного секвенирования гена 16S рРНК подтвердила, что 8 культур бактерий, выделенные из нефтепластовых вод, относятся к представителям рода *Bacillus*.

Следующим этапом работы явилось изучение продукции метаболитов, ценных для MEOR - органических кислот и биосурфактантов.

Для выделения различных органических кислот и углекислого газа микроорганизмами использовали синтетическую среду Е8, где в качестве единственного источника углерода в питательной среде использовали сырую нефть в количестве 2 % объемных. Эксперимент проводился в течение 8 суток.

На рисунке 3 представлены результаты определения количества органических кислот, продуцируемых микроорганизмами на питательной среде с добавлением нефти в течение 8-и суток.

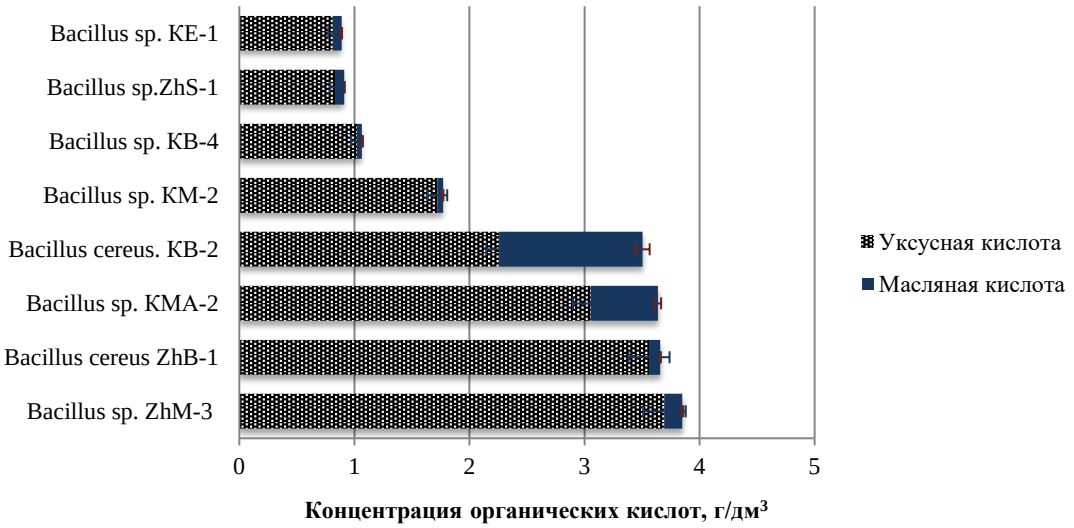


Рисунок 3 – Продукция органических кислот представителями р. *Bacillus* при культивировании на питательной среде с нефтью в течение 8 суток

Изучение качественного и количественного состава органических кислот показало, что клетки бацилл в большом количестве продуцируют уксусную и, по нисходящей, масляную, затем, в следовых количествах, пропионовую кислоты. Наиболее активными продуцентами уксусной кислоты являются *Bacillus sp*. ZhM-3 и *Bacillus sp.* ZhB-1, так, к концу 8-х суток этот показатель составил 3,695 г/дм^3 и 3,561 г/дм^3, соответственно. Максимальная продукция масляной кислоты наблюдалась для культур *Bacillus sp*. KB-2 и *Bacillus sp*. KMA-2 и к концу эксперимента содержание кислоты составило 1,2 г/дм^3 и 0,6 г/дм^3, соответственно, другие культуры продуцировали значительно меньше масляной кислоты. Содержание пропионовой кислоты в ферментируемой среде к концу эксперимента было незначительно или в следовых количествах (0.028-0.061 г/дм^3).

В литературе при изучении продукции органических кислот культурами *Bacillus* показано, что количественный состав продукции различных кислот зависит от состава питательных сред, однако, уксусная кислота является основным кислотным компонентом; также следует отметить, что помимо уксусной, культуры *Bacillus* продуцируют и другие кислоты, такие как муравьиная, пропионовая, изомасляная, янтарная и изовалериановая, но их количество было значительно меньше, чем уксусной кислоты [20]. В некоторых работах упоминается, что представители р. *Bacillus* изменяют долю ненасыщенных жирных кислот, чтобы адаптироваться к широкому спектру изменений окружающей среды [21, 22]. В таких количествах они, вероятно, не окажут существенного влияния на повышение нефтеотдачи, но эти метаболиты могут иметь важную роль в адаптации к экстремальным условиям нефтяного пласта и в создании ассоциации для использования в MEOR, так как жирные кислоты могут обладать антимикробной активностью, а также служить источником питательных веществ для других микроорганизмов [23, 24].

На рисунке 4 представлены результаты изменения pH (исходное и к концу эксперимента) при культивировании бацилл на синтетической среде с нефтью, в качестве контроля использовался вариант без внесения микроорганизмов.

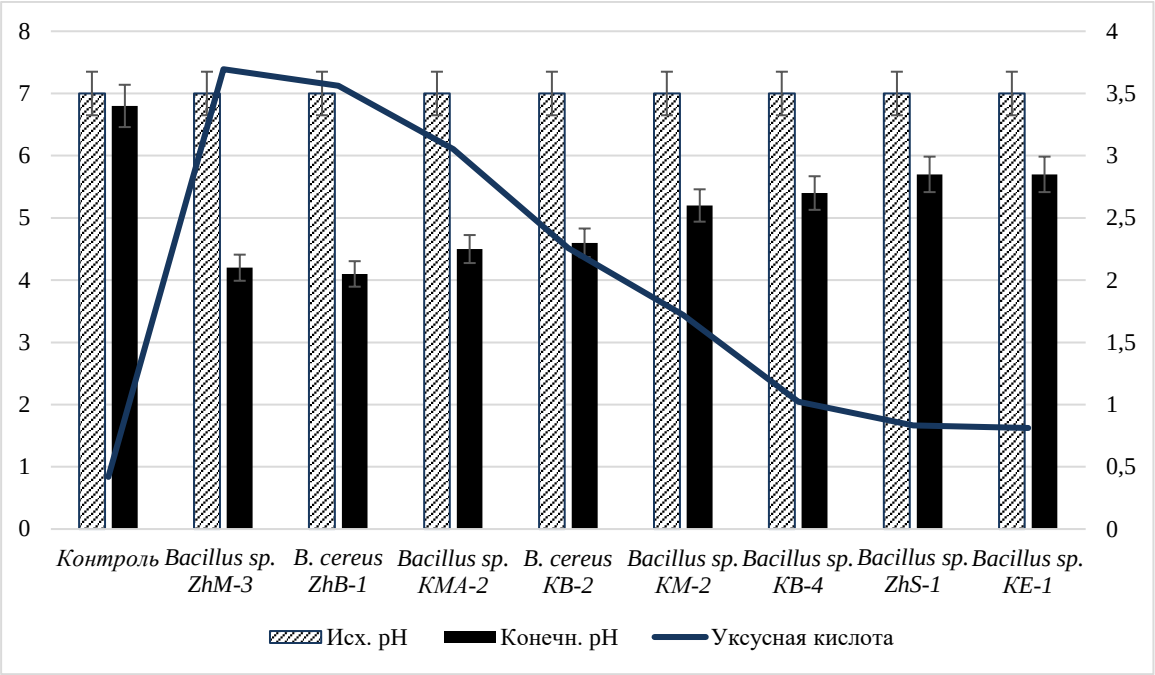


Рисунок 4 – Корреляционное изменение кислотности среды при связывании с продуктом уксусной кислоты

Как видно, все культуры ферментируют субстрат с подкислением питательной среды, т.е. клетки продуцируют органические кислоты. Так, из 8 культур бацилл *B. sp.* ZhM-3, *B. cereus* ZhB-1, *B.sp.* KMA-2 и *B.cereus* KB-2 показали самую высокую способность продуцировать кислоты, при этом максимальное снижение pH среды к концу эксперимента составило 5-4,1 ед., при исходном pH равном 7 ед. Результаты коррелируют с количеством продуцируемой уксусной кислоты этими культурами. Снижение значения pH указывало на образование кислых метаболитов катаболизма [20]. Кроме того, значение конечного pH и концентрация уксусной кислоты коррелировали. При максимальном содержании уксусной кислоты в среде, 3,695 г/дм^3 , показатель pH среды к концу эксперимента составил 4,1 ед.

Индекс эмульгирующей активности позволяет оценить способность продуцируемых бактериями биосурфактантов эмульгировать две несмешивающиеся жидкости. Многие исследователи отмечают, что нефтеэмульгирование является одним из значимых механизмов MEOR [5, 25, 26]. Нефтеэмульгирующая активность - способность микроорганизмов-продуцентов ПАВ к образованию мельчайших нефтеэмульсий, что повышает эффективность контакта бактерий с углеводородами. Различают два вида эмульгирующей активности: экзогенная - способность микроорганизмов к образованию экстрацеллюлярных биосурфактантов и эндогенная - способность микроорганизмов к образованию клеточно-связанных биосурфактантов [27]. Способность микроорганизмов производить биоэмульгаторы, диспергирующие нефть, исследовали по эндогенной эмульгирующей активности (E_{24}) за 24 часа.

На рисунке 5 приведены результаты исследования индекса эмульгирования нефти и гексана клетками бацилл. Гексан использовали как сравнительный продукт, полученный из нефти.

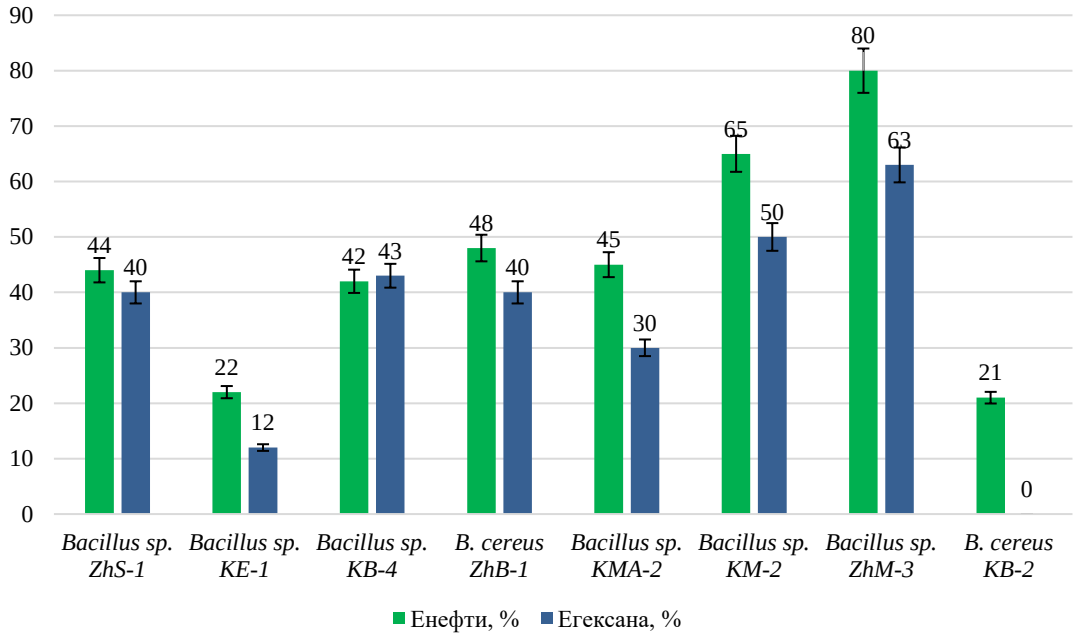


Рисунок 5 – Определение индекса эмульгирования (Е) нефти и гексана клетками бацилл

Как видно на рисунке 5, индекс эмульгирования бациллами сырой нефти выше (21-80 %), чем $E_{гексана}$ (12-63 %). Максимальной способностью к эмульгированию сырой нефти обладают клетки *Bacillus sp.* ZhM-3 - 80% и *Bacillus sp.* KM-2 - 65%. Следует отметить, что для этих же культур наблюдается такая же корреляция с индексом эмульгирования гексана (Е), хотя числовые показатели ниже, так максимальный $E_{гексан}$ наблюдался у *Bacillus sp.* ZhM-3 и составил 63%. Эффективность некоторых бактерий, в том числе р. *Bacillus*, способных продуцировать биосурфактанты, описана в ряде работ. Так, чем больше доля образовавшихся стабильных эмульсий, тем большее количество биосурфактанта продуцируют микроорганизмы, индекс эмульгирования сырой нефти выше 50% является показателем перспективности бактерий, используемых в нефтяной промышленности [27-30]. Липопептидные сурфактины и лихенизин, продуцируемые штаммами р.*Bacillus*, являются одними из наиболее изученных биосурфактантов, известные тем, что наряду с другими свойствами снижают поверхностное и межфазное натяжение и мобилизуют захваченную нефть. Бактерии, способные продуцировать эти биосурфактанты, являются хорошими агентами для применения в MEOR.

Таким образом, культуры *Bacillus sp.* ZhM-3 и *Bacillus sp.* KM-2, выделенные из нефтепластовых вод, обладают высоким индексом эмульгирования сырой нефти - 80% и 65%, соответственно, и являются перспективными объектами для нефтяной отрасли.

Заключение

В результате проведенного исследования из нефтепластовых вод выделены и идентифицированы 8 культур бацилл, как представители рода *Bacillus*.

Для разработки микробных MEOR у аборигенных культур микроорганизмов изучены разжижающие и эмульгирующие свойства в отношении сырой нефти (продукция органических кислот, индекс эмульгирования). Все штаммы бацилл на питательной среде с сырой нефтью продемонстрировали способность к большому продуцированию уксусной, кислоты, меньшему - масляной кислоты, незначительному - пропионовой кислоты. Максимальными продуцентами уксусной кислоты на среде с нефтью показаны культуры *Bacillus sp.* ZhM-3 и *Bacillus sp.* ZhB-1 (3,7 г/дм^3 и 3,6 г/дм^3, соответственно). Из 8-и культур две культуры - *Bacillus sp.* ZhM-3 и *Bacillus sp.* KM-2 продемонстрировали высокие результаты в эмульгировании сырой нефти (80% и 65%, соответственно). На основании проведенных исследований отобраны 3 культуры *Bacillus sp.* ZhM-3, *Bacillus*

cereus ZhB-1 и *Bacillus sp*. KM-2, которые являются активными продуцентами уксусной кислоты и способны к эмульгированию сырой нефти, что делает их потенциально эффективными для применения в биотехнологических процессах, направленных на повышение нефтеотдачи зрелых месторождений нефти.

Финансирование

Данное исследование финансировалось/финансируется Комитетом науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (грант №BR18574066).

Литература:

1 Lazar I., Petrisor I.G., Yen T.F.: Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR), *Pet. Sci. Technol, 25*, 2007: 1353–1366 (doi:10.1080/10916460701287714)

2 Yernazarova A., Kayirmanova G., Baubekova A., Zhubanova A.: Microbial enhanced oil recovery, Ed. by Laura Romero-Zeron University of New Brunswick, Canada, *IntechOpen*, Rijeka, 2016, (doi: 10.5772/64805)

3 Kurbanbayev M.I., Miroshnikov V.Y., Tolokonsky S.I.: Enhancement of oil recovery in Kazakhstan deposits. *In Proceedings of the III International Scientific Symposium "Theory and Practice of Application of Enhanced Oil Recovery Techniques"* (in Russian), Moscow, 2011: 243, September 20-21.

4 She H., Kong D., Li Y., Hu Z., Guo H.: Recent Advance of Microbial Enhanced Oil Recovery (MEOR) in China, *Geofluids*, 2019 (doi.org/10.1155/2019/1871392)

5 Geetha S.J., Banat I.M., Joshi S.J.: Biosurfactants: Production and potential applications in microbial enhanced oil recovery (MEOR), *Biocatal. Agric. Biotechnol*, *14*, 2018: 23–32 (doi:10.1016/j.bcab.2018.01.010)

6 Câmara J.M.D.A., Sousa M.A.S.B., Barros Neto E.L., Oliveira M.C.A.: Application of rhamnolipid biosurfactant produced by Pseudomonas aeruginosa in microbial-enhanced oil recovery (MEOR), *J. Pet. Explor. Prod. Technol.*, *9*, 2019: 2333–2341 (doi:10.1007/s13202-019-0633-x)

7 Vishnyakov V., Suleimanov B., Salmanov A., Zeynalov E.: *Primer on Enhanced oil recovery*, *Imprint Gulf Professional Publishing*, 2020: 161–169.

8 Shibulal B., Al-Bahry S.N., Al-Wahaibi Y.M., Elshafie A.E., Al-Bemani A.S., Joshi S.J.: Microbial-Enhanced Heavy Oil Recovery under Laboratory Conditions by Bacillus firmus BG4 and Bacillus halodurans BG5 Isolated from Heavy Oil Fields, *Colloids Interfaces*, 2018, *2(1):1* (doi: 10.3390/colloids2010001)

9 Travers R.S., Martin P.A., Reichelderfer C.F.: Selective Process for Efficient Isolation of Soil Bacillus spp, *Appl. Environ. Microbiol., 53(6)*, 1987: 1263–1266 (doi: 10.1128/AEM.53.6.1263-1266.1987)

10 Clarridge 3rd J.E.: Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases, *Clin. Microbiol. Rev.*, *17*, 840–862, 2004, (doi:10.1128/CMR.17.4.840-862.2004)

11 Kumar S., Stecher G., Li M., Knyaz C., Tamura, K.: MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across Computing Platforms, *Mol. Biol. Evol.*, *35*, 2018: 1547–1549 (doi: 10.1093/molbev/msy096)

12 Cooper D.G., Goldenberg B.G.: Surface-active agents from two bacillus species, *Appl. Environ. Microbiol.*, *53*, 1987: 224–229 (doi: 10.1128/aem.53.2.224-229.1987)

13 Yernazarova A., Kaiyrmanova G., Zhubanova A.: Microorganisms in Oil Reservoirs of West Kazakhstan, *Int. J. resent Technol. Eng.*, 2018, *7*: 70–72, (ISSN: 2277-3878)

14 Korenblum E., Souza D.B., Penna M., Seldin L.: Molecular analysis of the bacterial communities in crude oil samples from two brazilian offshore petroleum platforms, *Int. J. Microbiol.*, 2012:156537 (doi:10.1155/2012/156537)

15 Ridley C.M., Voordouw G.: Aerobic microbial taxa dominate deep subsurface cores from the Alberta oil sands, *FEMS Microbiol. Ecol.*, *94*, 2018 (doi: 10.1093/femsec/fiy073)

16 Vinothini C., Sudhakar S., Ravikumar R.: Biodegradation of petroleum and crude oil by Pseudomonas putida and Bacillus cereus, *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, *4*, 2015: 318–329 (ISSN: 2319-7706)

17 Fritze D.: Taxonomy of the Genus Bacillus and Related Genera: The Aerobic Endospore-

Forming Bacteria, *Phytopathology®, 94*, 2004: 1245–1248 (doi: 10.1094/PHYTO.2004.94.11.1245)

18 Phetcharat T., Dawkrajai P., Chitov T., Mhuantong W., Champreda V., Bovonsombut S.: Biosurfactant-Producing Capability and Prediction of Functional Genes Potentially Beneficial to Microbial Enhanced Oil Recovery in Indigenous Bacterial Communities of an Onshore Oil Reservoir, *Curr. Microbiol., 76*, 2019: 382–391 (doi: 10.1007/s00284-019-01641-8)

19 Purwasena I.A., Astuti D.I., Syukron M., Amaniyah M., Sugai Y. Stability test of biosurfactant produced by Bacillus licheniformis DS1 using experimental design and its application for MEOR. *J. Pet. Sci. Eng.* 2019, *183*:106383 (doi: 10.1016/j.petrol.2019.106383)

20 Paavilainen S., Helistö P., Korpela T.: Conversion of carbohydrates to organic acids by alkaliphilic bacilli, *J. Ferment. Bioeng., 78*, 1994, 217–222 (doi: 10.1016/0922-338X(94)90293-3)

21 Ginies C., Brillard J., Nguyen-The C.: Identification of Fatty Acids in Bacillus cereus, *JoVE*, e54960, 2016 (doi: 10.3791/54960)

22 Diomande S., Nguyen-The C., Guinebretière M.H., Broussolle V., Brillard J.: Role of fatty acids in Bacillus environmental adaptation, *Front. Microbiol., 6*, 2015: 813 (doi: 10.3389/fmicb.2015.00813)

23 Çelik A., Sperandio D., Speight R.E., Turner N.J.: Enantioselective epoxidation of linolenic acid catalysed by cytochrome P450BM3 from Bacillus megaterium, Org. Biomol. Chem., 3, 2005: 2688–2690 (doi: 10.1039/B506155E)

24 Hou C.T.: New bioactive fatty acids, *Asia Pac. J. Clin. Nutr., 17 Suppl 1*, 2008: 192–195, PMID: 18296335.

25 Ke C.Y., Lu G.M., Li Y.B., Sun W.J., Zhang Q.Z., Zhang X.L.: A pilot study on large-scale microbial enhanced oil recovery (MEOR) in Baolige Oilfield, *Int. Biodeterior. Biodegradation, 127*, 2018: 247–253 (doi: 10.1016/j.ibiod.2017.12.009)

26 Safdel M., Anbaz M.A., Daryasafar A., Jamialahmadi M.: Microbial enhanced oil recovery, a critical review on worldwide implemented field trials in different countries, *Renew. Sustain. Energy Rev., 74*, 2017: 159–172 (doi: 10.1016/j.rser.2017.02.045

27 Rossiana N., Miranti M., Maspudin K.: Prospective Study of Bacillus sphaericus and Pseudomonas aeruginosa as The Microbial Enhanced Oil Recovery Agents, *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci., 166*, 2018: 12018 (doi:10.1088/1755-1315/166/1/012018)

28 Joshi S.J., Desai A.J.: Bench-Scale Production of Biosurfactants and their Potential in Ex-Situ MEOR Application, *Soil Sediment Contam. An Int. J., 22*, 2013: 701–715 (doi: 10.1080/15320383.2013.756450)

29 Pereira J.F.B., Gudiña E.J., Costa R., Vitorino R., Teixeira J.A., Coutinho J.A.P., Rodrigues L.R.: Optimization and characterization of biosurfactant production by Bacillus subtilis isolates towards microbial enhanced oil recovery applications, *Fuel, 111*, 2013: 259–268 (doi: 10.1016/j.fuel.2013.04.040)

30 Szulc A., Ambrozewicz D., Sydow M., Ławniczak Ł., Piotrowska Cyplik A., et al. The influence of bioaugmentation and biosurfactant addition on bioremediation efficiency of diesel-oil contaminated soil: feasibility during field studies. *J. Environ. Manage*. 2014.132: 121– 128. (doi: 10.1016/j.jenvman.2013.11.006)

IRSTI: 65.63.03

A.A. ARAPOVA[1], E.K. ASSEMBAYEVA[1*], A.E. RYABOVA[2], S.N. SARIMBEKOVA[3], E.Zh. GABDULLINA[1]
[1]Almaty Technological University, Almaty, Kazakhstan
[2]All-Russian Dairy Research Institute, Moscow, Russia
[3]Kazakh National Agrarian Research University, Almaty, Kazakhstan
[*]e-mail: elmiraasembaeva@mail.ru

ASSESSMENT OF QUALITY INDICATORS OF CURD PRODUCTS

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.11

Abstract

Currently, consumer demand for natural, high-quality curd products without dyes and preservatives is increasing. This trend places new demands on food additives - they must be technologically advanced and healthy, ensuring high consumer quality of food products.

In this article, a study was conducted to investigate the quality indicators of curd products with the addition of a natural biologically active substance – arabinogalactan, during storage. An analysis of organoleptic, physicochemical, and microbiological indicators was carried out, and the dynamics of their changes during the specified storage period were determined.

The results obtained showed that the addition of arabinogalactan has a positive effect on the organoleptic, physicochemical, and microbiological properties of the product, extending its storage period. The shelf life, which guarantees the preservation of the quality characteristics of the product, is 7 days from the date of manufacture at a storage temperature of 4±2°C. The analysis demonstrated that the resulting curd product with high organoleptic properties maintains its quality characteristics within the established standards throughout the entire specified storage period.

Keywords: curd products, biologically active substance, arabinogalactan, microbiological indicators, storage period.

In matters of ensuring the economic and food security of the country, among other factors, the level of development of the agro-industrial complex is of particular importance. The overall health of a person and their ability to withstand adverse environmental factors depend on acquiring the components necessary for normal vital activity. Many diseases are known to occur due to the lack of one or more elements that must enter the human body during nutrition. Currently, improving and balancing the diet of food to preserve the health, working capacity, and longevity of the population is becoming an urgent problem [1].

Cottage cheese is one of the main products in the food diet, serving as a source of complete protein easily absorbed by the body [2]. It contains a large amount of protein (14-18%), fat, carbohydrates, minerals (such as calcium, phosphorus, iron, magnesium, zinc, and copper), and is also rich in vitamins A, E, P, B2, B6, B12, and folic acid. Cottage cheese, in particular, is rich in amino acids such as tryptophan, methionine, and lysine; therefore, it is recommended for use in liver and heart diseases, promotes the growth and restoration of bone tissue, and is beneficial for the functioning of the nervous system and blood formation. The ratio of calcium and phosphorus in the product contributes to their easy absorption by the body. Additionally, cottage cheese has beneficial bacteriostatic and antibiotic properties, creating an acidic environment in the intestine, which prevents the development of pathogenic and putrefactive microflora [3-5].

The role of food additives in the process of innovative development of the food industry and improvement of food production technology is increasing. Currently, the use of food additives is increasing in cities due to a large concentration of the population, an increase in its number, and the use of modern achievements of chemistry and biotechnology in the production of products. The widespread use of food additives is justified by the fact that food products are transported over long distances, some of which are perishable. The introduction of additives into

the composition of food products prolongs their shelf life. Today, consumer preferences are due to the attractive appearance of the finished product, low cost, ease of use of food products (semi-finished products), good taste [6-8].

Today, dietary supplements containing various enriching components are widely used – vitamins, micro- and microelements, enzymes, biologically active additives, pre- and probiotics. Polysaccharides of higher plants have biological activity. Among them, one can single out Cedar arabinogalactan, which, due to its polymer base and membranotropic properties, can serve as a matrix for the targeted transport of biologically important trace elements [4].

Arabinogalactan is a complex natural water-soluble polysaccharide. It is white or pale gray or pale cream in color with a dry, slightly coniferous smell and a sweet taste. Easily soluble in water and forms a low viscosity solution. It has a high molecular weight, is characterized by high stickiness, the absence of acute and chronic toxicity, water-retaining effect, biodegradability, resistance to acidic environments and heat treatment. It is found in many fruits, vegetables, and plants, but Cedar is a unique source of arabinogalactan. Cedar allows you to get arabinogalactan, which has the most useful properties.

Arabinogalactan possesses unique properties, including its ability to positively affect the microflora of lactobacilli and Bifidobacterium [9-12].

The biological properties of arabinogalactan are extensive encompassing immunobiological, hepatoprotective, antimutagenic, mitogenic, gastroprotective, membranotropic activity; prebiotic, metagenic, lipid-lowering, immunomodulatory properties. It also serves as a source of dietary fiber, characterized by antioxidant properties that help to slow down the processes of lipid peroxidation. As arabinogalactan is a water-soluble polysaccharide, its incorporation into a food product, particularly a dairy product, enables the creation of enriched products meeting human needs for biologically active substances and dietary fiber [4].

The purpose of the research work is to study the quality indicators of cottage curd products supplemented with a biologically active substance of natural origin – arabinogalactan.

Materials and methods of research

Objects: samples of cow's milk, starter (*Lactococcus lactis subsp. lactis; Lactococcus lactis subsp. cremoris; Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris; Lactococcus lactis subsp. Lactis biovar diacetylactis)* for curd production developed by "Lactoferm ECO" (Italy), dry arabinogalactan (Russia).

When conducting the research, generally accepted and standard methods were used, including physico-chemical, microbiological, and organoleptic methods. Organoleptic assessment of finished products during storage was carried out according to GOST 28283-89. The following indicators were monitored: color, smell, and taste, as well as appearance and consistency.

The main research methods included titrimetric analysis (determination of titrating acidity), the dilution method (determination of lactic acid bacteria), and the microbiological method (determination of bacteria of the genus *Staphylococcus aureus*, *Salmonella*, and bacteria of the *Escherichia coli* group). The determination of the number of lactic acid microorganisms was carried out according to GOST 10444.11-89.

The research was conducted at Almaty Technological University, in the laboratories of the Department of "Food Biotechnology" and the Research Institute of "Food Safety." The experiments were replicated 4-5 times, and average results were obtained.

Results and discussion

The biotechnological scheme for the preparation of samples of curd products consists of the following operations: acceptance and preparation of raw materials; heating and separation; milk normalization; mixture preparation; pasteurization and cooling of milk; fermentation; cutting the clot; separating the whey and filling the clot; self-pressing and pressing of the clot; cooling the curd; adding the prepared component (arabinogalactan powder); mixing; storage.

In the production of curd products, it is economically beneficial to add arabinogalactan to ready-made cottage curd. Before adding it, it was first dissolved in a small amount of curd whey and then added to the prepared curd mass. Based on preliminary research data, it was found that arabinogalactan, used in the production of curd products, serves as a consistency stabilizer. The effect of the amount of arabinogalactan added to cottage curd product on the formation of organoleptic indicators of the curd product was studied. The dose of arabinogalactan was added in 0.5% increments from 0.5% to 2.0% and mixed.

Organoleptic indicators of curd products are presented in Table 1 below.

Table 1-Organoleptic indicators of cottage curd products

Indicators	Amount of arabinogalactantan, %			
	0.5%	1.0%	1.5%	2.0%
Consistency and appearance	Homogeneous thick, soft, delicate consistency	Homogeneous thick, soft, delicate consistency, with a medium viscous consistency	Homogeneous thick oil without lumps	Homogeneous thick fat without lumps, the serum is slightly separated
Taste and smell	Characteristic of pleasant curd, without foreign taste and smell.	Characteristic of pleasant curd. Without foreign taste and smell. Slightly sweet	Characteristic of pleasant curd. Without foreign taste and smell. Slightly sweet	The curd had an uncharacteristic coniferous smell and taste.
Color	White color, evenly distributed over the entire mass	Creamy shade, evenly distributed over the entire mass	Creamy shade, evenly distributed over the entire mass	Pale, cream color, evenly distributed over the entire mass

The addition of arabinogalactan in the amount of 0.5% has absolutely no effect on the organoleptic characteristics of the products. The addition of 1% allows for the production of products with high organoleptic characteristics. An addition of 1.5% does not lead to a significant deterioration of taste, but increasing the amount to 2% worsens organoleptic properties, leading to the appearance of a pine extraneous odor and taste caused by the added component. The recommended optimal amount of arabinogalactan to add to cottage curd product is 1%. This amount of polysaccharide allows for the production of a homogeneous, soft, cream-colored cottage curd product with a consistent and moderately viscous texture throughout the mass, thus having high organoleptic characteristics.

The main physico-chemical indicator, by which it is possible to observe the change in the chemical composition of the finished product, is acidity. The dynamics of changes in the acidity of curd products during storage at a temperature of 4±2 °C were revealed. The results of the analysis are presented in Figure 1 below.

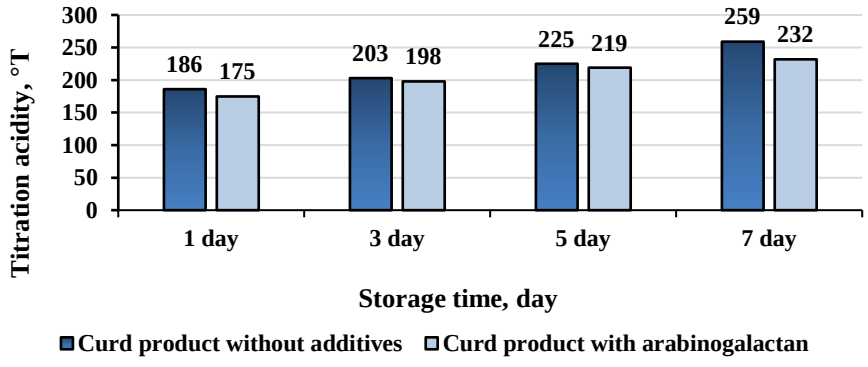


Figure 1 - Dynamics of acidity change of curd products during storage at a temperature of 4±2°C

During the storage period, the acidity of curd products increased. After 7 days, the acidity value for curd without additives was 259°T, which is higher than the required amount, while in curd with the addition of arabinogalactan, it was 232°T. The curd without additives showed that it could be stored at 4±2°C for 5 days, and curd with the addition of arabinogalactan could be stored for 7 days. The results indicated that the addition of arabinogalactan can increase the storage time of curd products. According to the requirements of the standard, the acidity of curd products during the storage period should not exceed 240°T.After 7 days, this indicator exceeded the norm specified in the normative documentation and continued to grow.

During the experiment, we conducted analyses to study the effect of arabinogalactan on changes in the number of viable lactic acid bacteria, as well as on the storage period of the curd product.

According to microbiological indicators in quality control of curd products, the number of lactic acid bacteria is important. The total number of lactic acid bacteria in curd products with a storage period of 1, 3, 5, and 7 days was revealed. The results of the analysis are presented in Table 2.

Table 2 – Change in the number of lactic acid bacteria in the shelf life of curd products, CFU/cm^3

Indications	Storage time of cottage curd products, Day			
	1	3	5	7
Curd product without additives	$6.9*10^6$	$2.7*10^6$	$1.2*10^6$	$1.6*10^5$
Curd product with arabinogalactan	$4.8*10^7$	$2.2*10^7$	$6.9*10^6$	$3.8*10^6$

The number of lactic acid bacteria corresponded to the requirements of CU TR 033/2013 for this group of fermented milk products. As seen in Table 2, lactic acid bacteria decreased during the storage time in both samples of cottage curd products. In the sample with the addition of arabinogalactan, the required amount of lactic acid bacteria for 7 days was $3.8*10^6$ CFU/cm^3, while in the curd product without additives, it was $1.6*10^5$ CFU/cm^3, lower than the required amount. The addition of arabinogalactan stimulates the growth of yeast microorganisms.

Although it is not necessary to store curd products for a long time from a microbiological point of view, it is necessary to provide the population with this product during the off-season. The amount of total microbial contamination of perishable lactic acid products, in particular, curd products, is a necessary indicator that determines their safety for the consumer.

During the production and storage of curd products, the number and development of microorganisms depends on many factors: the quality of raw materials, the temperature of pasteurization of milk, the addition of curd product, the temperature of fermentation, improvement, and cooling. A decrease in the quality of curd products may be due to the growth of mold and yeast. In this regard, studies were conducted to study their composition in the product.

Microbiological studies conducted on samples of curd products with arabinogalactan and without additives. At a temperature of 4 ± 2°C, the composition of coliforms, yeast, and mold was determined. The results of the analysis are presented in Table 3 below.

Table 3 – Microbiological indicators of a curd product

Indications	Permissible level of normative document	Cottage curd patterns	
		Curd product without additives	Curd product with arabinogalactan
1	2	3	4
Bacteria of the *Escherichia coli* group (coliforms), 0.01 g/cm^3 in the product	not allowed	not detected	

Table 3 continued

1	2	3	4
Salmonella, 25 g/cm^3 in the product	not allowed	not detected	
Staphylococcus aureus, 0.1 g/cm^3 in the product	not allowed	not detected	
Yeast, CFU/cm^3 (g) (no more)	100	38	45
Mold, CFU/cm^3 (g) (no more)	50	12	6

Bacteria from the *Escherichia coli* group were found in samples of a curd product (0.01 cm^3 of the product). Pathogenic microorganisms, including *Salmonella* (25.0 cm^3 of the product), and *S. aureus* (in 1 cm^3 of the product), were not detected during the entire period of the experiment. The content of yeast and mold fungi (CFU/cm^3) did not exceed the permissible values established by the regulatory documentation for cottage curd products.

Conclusion

To summarize, during the establishment of the storage period of a new product for over 7 days, the dynamics of changes in its organoleptic, physicochemical, and microbiological parameters were studied. The storage period, which guarantees compliance with the qualitative characteristics of the product, is 7 days from the date of manufacture at a storage temperature of 4±2°C. The analysis revealed that the resulting curd product, with high organoleptic properties, maintains its quality characteristics within the established standards throughout the entire specified storage period.

References:

1 Babukhadia K.R., Ermolaev A.O., Podtoptannyi V.C. Biologically active substances of plant components for the enrichment of dairy products. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – Iop Publishing.* 2020, 547(1): 1-8. **(**doi:10.1088/1755-1315/547/1/012009)

2 Dolmatova O.I., Zygalova E.I. Biotechnology of curd product with vegetable origin components. *Vestnik VGUIT*. 2018, 80: 129-132. (https://doi.org/10.20914/2310-1202-2018-1-129-132)

3 Sviridova T.V., Orlovceva O.A., Jusupova K.R. Issledovanie organolepticheskih, fiziko-himicheskih i mikrobiologicheskih pokazatelej obogashhennogo tvoroga. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta inzhenernyh tehnologij.* 2016, 1: 186-190. (https://doi.org/10.20914/2310-1202-2016-1-186-190)

4 Prjanichnikova N.S. Tvorozhnye produkty zdorovogo pitanija. *Molochnaja promyshlennost'*. 2012, 4: 67-67. (https://www.elibrary.ru/download/elibrary_17674982 _86215951.pdf)

5 Pozzobon V. And Pozzobon C. "Cottage curd in a diet – a review". *Nutrition & Food Science.* 2019, 49(6): 1265-1274. (https://doi.org/10.1108/NFS-03-2019-0073)

6 Byvalec O.A., Shpilev A.A., Kuksarova V.M. Pishhevye dobavki v tehnologii produktov pitanija. *Izvestija Jugo-Zap. gos. un-ta. Serija: Fizika i himija.* 2014, 1: 56-62. (https://swsu.ru/izvestiya/seriesphysic/archiv/1-2014.pdf#page=56)

7 Romancova S.N., Losevskaja S.A. Pishhevye dobavki v produktah pitanija, ih vlijanie na zdorov'e cheloveka. *Cifrovizacija sovremennoj nauki: strategii, innovacii.* 2022, 303-305 (https://www.elibrary.ru/download/elibrary_48243845_73721749.pdf)

8 Efremov A.Ju., Shagaeva A.K. Ispol'zovanie pishhevyh dobavok v produktah pitanija. *Nauchnye issledovanija: ot teorii k praktike.* 2015, 2(2): 432-433. (https://www.elibrary.ru/download/elibrary_24917346_48959939.pdf)

9 Utochkina E.A., Reshetnik E.I. Opredelenie parametrov temperaturnoj obrabotki molochno-rastitel'noj smesi. *Amurskij medicinskij zhurnal.* 2019, 2 (26): 46-49. (DOI 10.22448/AMJ.2019.2.46-49)

10 Reshetnik E.I., Utochkina E.A. Razrabotka tehnologii fermentirovannogo molochno-rastitel'nogo napitka s funkcional'nymi svojstvami. *Tehnika i tehnologija pishhevyh proizvodstv*. 2011, 2(21): 53-56. (file:///C:/Users/77081/Downloads/razrabotka-tehnologii-fermentirovannogo-molochno-rastitelnogo-napitka-s-funktsionalnymi-svoystvami%20(2).pdf)

11 Kelly G.S. Larch arabinogalactantan: clinical relevance of a novel immune-enhancing polysaccharide. *Alternative medicine review: a journal of clinical therapeutic.* 1999, 4(2): 96-103. (https://europepmc.org/article/med/10231609)

12 Reshetnik E. I., Utochkina E. A. Healthy food products with probiotic and prebiotic properties. *Foods and Raw materials*. 2013, 1(1): 88-94. (DOI:10.12737/1562)

А.А. АРАПОВА[1], Э.К. АСЕМБАЕВА[1*], А.Е. РЯБОВА[2], С.Н. САРИМБЕКОВА[3], Е.Ж. ГАБДУЛЛИНА[1]

[1]Алматинский технологический университет, Алматы, Казахстан

[2]Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, Россия

[3]Казахский национальный аграрный исследовательский университет, Алматы, Казахстан

*e-mail: elmiraasembaeva@mail.ru

ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ТВОРОЖНЫХ ПРОДУКТОВ

Аннотация

В настоящее время возрастает спрос со стороны потребителей на натуральную качественную творожную продукцию без красителей и консервантов. А это, в свою очередь, предъявляет новые требования к пищевым добавкам – они должны быть технологичными и полезными для здоровья, а также обеспечивать высокое потребительское качество пищевых продуктов.

В данной статье с целью изучения качественных показателей творожных продуктов с добавлением природного биологически активного вещества - арабиногалактана в период хранения проведен анализ органолептических, физико-химических и микробиологических показателей, а также определена динамика их изменения в течение указанного срока хранения.

Полученные результаты показали, что добавка арабиногалактана положительно влияет на органолептические, физико-химические и микробиологические свойства продукта и продлевает срок хранения. Срок хранения, гарантирующий сохранение качественных показателей продукции, составляет 7 суток со дня изготовления при температуре хранения 4±2°С. Анализ показал, что полученный творожный продукт с высокими органолептическими свойствами в течение всего указанного срока хранения сохраняет его качественные характеристики в пределах установленных стандартов.

Ключевые слова: творожные продукты, биологически активное вещество, арабиногалактан, микробиологические показатели, срок хранения.

ҒТАМР: 65.63.03

А.А. АРАПОВА[1], Э.К. АСЕМБАЕВА[1*], А.Е. РЯБОВА[2], С.Н. САРИМБЕКОВА[3], Е.Ж. ГАБДУЛЛИНА[1]
[1]Алматы технологиялық университеті, Алматы, Қазақстан
[2]Бүкілресейлік сүт өнеркәсібі ғылыми-зерттеу институты, Мәскеу, Ресей
[3]Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Алматы, Қазақстан
*e-mail: elmiraasembaeva@mail.ru

СҮЗБЕ ӨНІМДЕРІНІҢ САПА КӨРСЕТКІШТЕРІН БАҒАЛАУ

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.11

Түйін

Қазіргі таңда тұтынушылардан бояғыштары мен консерванттары жоқ табиғи жоғары сапалы сүзбе өнімдеріне сұраныс артуда. Ал бұл өз кезегінде тағамдық қоспаларға жаңа талаптар қояды – олар технологиялық тұрғыдан жетілдірілген және денсаулыққа пайдалы, сонымен қатар азық-түлік өнімдерінің жоғары тұтынушылық сапасын қамтамасыз етуі керек.

Бұл мақалада табиғи текті биологиялық белсенді зат – арабиногалактанмен толықтырылған сүзбе өнімдерінің сақтау мерзімі кезіндегі сапа көрсеткіштерін зерттеу мақсатында органолептикалық, физика-химиялық және микробиологиялық көрсеткіштеріне талдаулар жүргізіліп, олардың белгіленген сақтау мерзіміндегі өзгеру динамикасы анықталды.

Алынған нәтижелер арабиногалактанды қосу өнімнің органолептикалық, физика-химиялық және микробиологиялық қасиеттеріне жағымды әсер ететіндігі және сақтау мерзімін ұзартатындығы анықталды. Өнімнің сапалық көрсеткіштерінің сақталуына кепілдік беретін сақтау мерзімі 4±2°С сақтау температурасында өндірілген күннен бастап 7 күнді құрады. Бүкіл жарамдылық мерзімі ішінде сүзбе өнімі белгіленген стандарттар шегінде өзінің сапалық сипаттамаларын сақтай отырып, органолептикалық қасиеттері жоғары өнімді алуға мүмкіндік беретінін көрсетті.

Кілтті сөздер: сүзбе өнімдері, биологиялық белсенді зат, арабиногалактан, микробиологиялық көрсеткіштер, сақтау мерзімі.

Елдің экономикалық және азық-түлік қауіпсіздігін қамтамасыз ету мәселелерінде басқа факторлармен қатар агроөнеркәсіптік кешеннің даму деңгейінің маңызы ерекше. Жалпы адамның денсаулығы және оның ағзасының қоршаған ортаның қолайсыз факторларына қалай төтеп беруі қалыпты тіршілік әрекеті үшін қажетті компоненттерді алуға байланысты. Тамақтану кезінде адам ағзасына келіп түсуі керек бір немесе бірнеше элементтің болмауына байланысты пайда болатын көптеген аурулар белгілі. Қазіргі таңда халықтың денсаулығын, еңбекке қабілеттілігін және ұзақ өмір сүру салтын сақтау үшін тағам рационын жақсарту және теңдестіру өзекті мәселеге айналып отыр [1].

Сүзбе – ағзаға оңай сіңетін толық ақуыздың көзі болып табылатын тағам рационындағы негізгі өнімдердің бірі [2]. Оның құрамында көп мөлшерде ақуыз (14-18%), май, көмірсулар, минералдар (кальций, фосфор, темір, магний, мырыш, мыс) бар, сонымен қатар А, Е, Р, B_2, B_6, B_{12} витаминдеріне, фолий қышқылына бай. Әсіресе сүзбе триптофан, метионин және лизин сияқты аминқышқылдарына бай, сондықтан оны бауыр мен жүрек аурулары кезінде қолдану ұсынылады, сүйек тіндерінің өсуіне және қалпына келуіне ықпал етеді, жүйке жүйесінің жұмысына және қан түзілуіне пайдалы, ал өнімдегі кальций мен фосфордың арақатынасы олардың ағзаға оңай сіңуіне ықпал етеді. Сонымен қатар, сүзбе пайдалы бактериостатикалық және антибиотикалық қасиеттерге ие. Бұл патогенді және шіріткіш микрофлораның дамуына жол бермейтін ішекте қышқыл ортаның пайда болуына себеп болады [3-5].

Тамақ өнеркәсібін инновациялық дамыту және тамақ өнімдерін өндіру технологиясын жетілдіру процесінде тағамдық қоспалардың рөлі артып келеді. Қазіргі

уақытта азық-түлік қоспаларын пайдалану қалаларда халықтың көп шоғырлануына, оның санының артуына, химия мен биотехнологияның заманауи жетістіктерін өнім өндіруде пайдалануына байланысты артуда. Тағамдық қоспаларды кеңінен қолдану азық-түлік өнімдерінің алыс аймаққа тасымалдануымен, олардың кейбіреулерінің тез бұзылатынына негізделген. Тағам өнімдерінің құрамына қоспаларды енгізу жарамдылық мерзімін ұзартады. Бүгінгі таңда тұтынушылардың қалауы дайын өнімнің тартымды көрінісіне, төмен құнына, азық-түлік өнімдерін (жартылай фабрикаттар) пайдаланудың қарапайымдылығына, жақсы дәміне байланысты [6-8].

Бүгінгі таңда құрамында әртүрлі байытатын компоненттері бар тағамдық қоспалар – витаминдер, микро- және макроэлементтер, ферменттер, биологиялық белсенді қоспалар, пре- және пробиотиктер кеңінен қолданылады. Жоғары сатыдағы өсімдіктердің полисахаридтері биологиялық белсенділікке ие. Олардың ішінде полимерлі негізі мен мембранотропты қасиеттерінің арқасында биологиялық маңызды микроэлементтердің мақсатты тасымалдануы үшін матрица қызметін атқара алатын балқарағай арабиногалактанын атап көрсетуге болады [4].

Арабиногалактан – күрделі табиғи суда еритін полисахарид. Бұл ақ немесе бозғылт сұр немесе бозғылт кілегей түсті құрғақ, аздап қылқан жапырақты иісі және тәтті дәмі бар. Суда оңай ериді және тұтқырлығы төмен ерітінді түзеді. Ол жоғары молекулалық салмаққа ие, жоғары жабысқақтығымен, жедел және созылмалы уыттылығының болмауымен, суды сақтайтын әсерімен, биоыдырағыштығымен, қышқыл ортаға және термиялық өңдеуге төзімділігімен сипатталады. Ол көптеген жемістерде, көкөністерде және өсімдіктерде кездеседі, бірақ балқарағай арабиногалактанның бірегей қайнар көзі болып саналады. Балқарағай ең пайдалы қасиеттері бар арабиногалактан алуға мүмкіндік береді.

Арабиногалактанның бірегей қасиеттері бар, оның бірі – лактобактериялар мен бифидобактериялардың микрофлорасына оң әсер ету қабілеті [9-12].

Арабиногалактанның биологиялық қасиеттері кең: иммунобиологиялық, гепатопротекторлық, антимутагендік, митогендік, гастропротекторлық, мембранотропты белсенділік; пребиотикалық, микогендік, липидті төмендететін, иммуномодуляциялық қасиеттер. Ол сонымен қатар тағамдық талшықтың көзі, липидтердің асқын тотығу процестерін бәсеңдетуге көмектесетін антиоксиданттық қасиеттермен сипатталады. Арабиногалактан суда еритін полисахарид болғандықтан, оны тағамдық өнімге, атап айтқанда сүт өніміне қосу адамның биологиялық белсенді заттарға – тағамдық талшыққа деген қажеттілігін қанағаттандыратын байытылған өнімдерді алуға мүмкіндік береді [4].

Зерттеу жұмысының мақсаты табиғи текті биологиялық белсенді зат – арабиногалактанмен толықтырылған сүзбе өнімдерінің сапа көрсеткіштерін зерттеу болып табылады.

Зерттеу материалдары мен әдістері

Зерттеу нысаны ретінде сиыр сүті үлгілері, құрамы *Lactococcus lactis subsp. lactis; Lactococcus lactis subsp. cremoris; Leuconostoc mesenteroides subsp. cremoris; Lactococcus lactis subsp. lactis biovar diacetylactis* тұратын «Lactoferm ECO» компаниясында (Италия) әзірлеген сүзбе алуға арналған ұйытқы, құрғақ арабиногалактан (Ресей) алынды.

Зерттеулерді жүргізу кезінде жалпы қабылданған және стандартты әдістер, соның ішінде физика-химиялық, микробиологиялық және органолептикалық әдістер қолданылды.

Дайын өнімді сақтау кезінде органолептикалық бағалау МЕМСТ 28283-89 бойынша жүргізілді. Келесі көрсеткіштер бақыланды: түсі, иісі мен дәмі, сыртқы түрі және консистенциясы. Негізгі зерттеу әдістері: титриметриялық (титрленетін қышқылдықты анықтау), сүйылту әдісі (сүтқышқылды бактерияларды анықтау), микробиологиялық әдіс (*Staphylococcus aureus, Salmonella* туысының бактерияларын, ішек таяқшасы тобындағы

бактерияларды анықтау). Сүтқышқылды бактериялар санын анықтау МЕМСТ 10444.11-89 бойынша жүргізілді.

Зерттеу жұмыстары Алматы технологиялық университетінің «Тағам қауіпсіздігі» ҒЗИ мен «Тағамдық биотехнология» кафедрасының зертханаларында жүргізілді. Тәжірибелер 4-5 рет қайталана отырып жүргізіліп, орташа нәтижелер алынды.

Нәтижелер және оларды талдау

Сүзбе өнімі үлгілерін дайындаудың биотехнологиялық схемасы келесі операциялардан тұрады: шикізатты қабылдау және дайындау; қыздыру және сепарирлеу; сүтті қалыпқа келтіру, қоспаны дайындау; сүтті пастерлеу және салқындату; ашыту; ұйындыны кесу, сарысуды бөлу және ұйындыны құю; ұйындыны өздігінен басу және престеу; сүзбені салқындату, дайындалған компонентті қосу (арабиногалактан ұнтағы); араластыру; сақтау.

Сүзбе өнімдерін өндіруде дайын сүзбеге арабиногалактанды қосу экономикалық тұрғыдан тиімді. Оны қоспас бұрын, ол алдымен аз мөлшерде сүзбе сарысуында ерітілді, содан кейін дайындалған сүзбе массасына қосылды. Алдын ала зерттеу мәліметтері негізінде сүзбе өнімін өндіруде қолданылатын арабиногалактан консистенцияны тұрақтандырғыш болып табылатыны анықталды. Талдау жүргізу барысында сүзбеге қосылған арабиногалактан мөлшерінің сүзбе өнімінің органолептикалық көрсеткіштерінің қалыптасуына әсері зерттелді. Арабиногалактанның мөлшері 0,5%-2,0% дейін 0,5% айырмашылықпен қосылып, араластырылып отырылды.

Сүзбе өнімдерінің органолептикалық көрсеткіштері төмендегі 1-кестеде келтірілген.

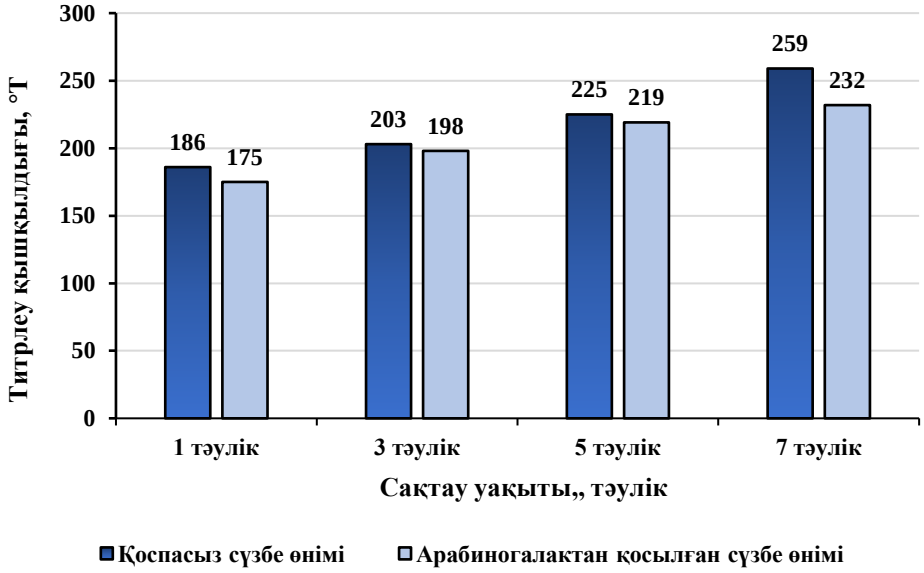
Кесте 1 – Сүзбе өнімдерінің органолептикалық көрсеткіштері

Көрсеткіштер	Арабиногалактан мөлшері, %			
	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%
Консистенциясы мен сыртқы түрі	Біртекті қою, жұмсақ, нәзік консистенциялы	Біртекті қою, жұмсақ, нәзік консистенциялы, орташа тұтқыр консистенциясы бар	Біртекті қою май түйіршіктерсіз	Біртекті қою май түйіршіктерсіз, сарысу аздап бөлінген
Дәмі мен иісі	Жағымды сүзбеге тән, бөтен дәм мен иіссіз.	Жағымды сүзбеге тән. Бөтен дәм мен иіссіз. Аздап тәтті	Жағымды сүзбеге тән, бөтен дәм мен иіссіз. Аздап тәтті	Сүзбеге тән емес қылқан жапырақты иісі мен дәмі болды.
Түсі	Ақ түсті, бүкіл массасы бойынша біркелкі таралған	Кремді реңкті, бүкіл массасы бойынша біркелкі таралған	Кремді реңкті, бүкіл массасы бойынша біркелкі таралған	Бозғылт кілегей түсті, бүкіл массасы бойынша бір-келкі таралған

Арабиногалактанды 0,5% мөлшерінде қосу өнімнің органолептикалық көрсеткіштеріне мүлдем әсер етпейді, 1% мөлшерінде қосу жоғары органолептикалық көрсеткішке ие өнім алуға мүмкіндік береді. 1,5% қосу дәмінің айтарлықтай нашарлауына әкелмейді, ал мөлшерін 2% дейін арттыру органолептикалық қасиеттерін нашарлатты, қосылған компоненттен туындаған қылқан жапырақты бөтен иіс пен дәмнің пайда болуына әкеледі. Арабиногалактанның сүзбеге қосуға ұсынылатын оңтайлы мөлшері 1% құрады, яғни полисахаридтің бұл мөлшері біртекті, жұмсақ, крем реңкті, аздап тәтті, бүкіл массасы бойынша біркелкі және орташа тұтқыр консистенциясы бар сүзбе өнімін алуға мүмкіндік береді, яғни жоғары органолептикалық сипаттамаларға ие болды.

Дайын өнімнің химиялық құрамының өзгеруін байқауға болатын негізгі физика-химиялық көрсеткіш – қышқылдық.

Сүзбе өнімдерін 4±2°С температурада сақтау кезіндегі сүзбе өнімдерінің қышқылдығының өзгеру динамикасы анықталды, талдау нәтижелері төмендегі 1-суретте келтірілген.



Сурет 1 – 4±2°С температурада сақтау кезіндегі сүзбе өнімдерінің қышқылдығының өзгеру динамикасы

Сақтау мерзімі ішінде сүзбе өнімдерінің қышқылдығы өсті. 7 тәуліктен кейін қоспасыз сүзбе өнімінде қышқылдықтың мәні 259°Т көрсетті, бұл сүт өнімдерінің осы түріне талап етілген мөлшерден жоғары, ал арабиногалактан қосылған сүзбе өнімінде 232°Т көрсетті. Қоспасыз сүзбе өнімі 4±2°С температурада 5 күн, ал арабиногалактан қосылған сүзбе өнімін 7 тәулік сақтауға болатынын көрсетті. Алынған нәтижелер арабиногалактан қосу арқылы сүзбе өнімдерінің сақталу мерзімін де ұзартуға болатынын көрсетті. Стандарт талаптары бойынша сақтау мерзімі кезінде сүзбе өнімдерінің қышқылдығы – 240°Т аспау керек. 7 күннен кейін бұл көрсеткіш нормативтік құжаттамада көрсетілген нормадан асып, өсе берді.

Тәжірибе барысында арабиногалактанның тіршілікке қабілетті сүтқышқылды бактериялардың санының өзгеруіне, сонымен қатар сүзбе өнімінің сақтау мерзіміне әсерін зерттеуге талдаулар жүргіздік.

Микробиологиялық көрсеткіштері бойынша сүзбе өнімдерінің сапасын бақылауда сүтқышқылды бактериялардың саны маңызды. 1, 3, 5, 7 тәулік сақтау мерзіміндегі сүзбе өнімдеріндегі сүтқышқылды бактериялардың жалпы мөлшері анықталды. Талдау нәтижелері 2 - кестеде келтірілген.

Кесте 2 – Сүзбе өнімдерінің сақтау мерзіміндегі сүтқышқылды бактериялардың санының өзгеруі, КТБ/см^3

Көрсеткіштер	Сүзбе өнімдерінің сақтау мерзімі, тәулік			
	1	3	5	7
Қоспасыз сүзбе өнімі	$6,9*10^6$	$2,7*10^6$	$1,2*10^6$	$1,6*10^5$
Арабиногалактан қосылған сүзбе өнімі	$4,8*10^7$	$2,2*10^7$	$6,9*10^6$	$3,8*10^6$

Сүтқышқылды бактериялардың саны ашытылған сүт өнімдерінің осы тобына арналған 033/2013 КО ТР талаптарына сәйкес болды.

2-кестеден көріп отырғанымыздай сақтау уақыты кезінде сүзбе өнімдерінің екі үлгісінде де сүтқышқылды бактериялар тәулік өткен сайын азайғанын көруге болады, арабиногалактан қосқан үлгіде 7 тәулікте сүтқышқылды бактериялардың қажетті мөлшері $3,8*10^6$ КТБ/см^3 болса, қоспасыз сүзбе өнімінде $1,6*10^5$ КТБ/см^3 қажетті мөлшерден төмен болды. Арабиногалактанды қосу ашытқы микроорганизмдерінің өсуін ынталандырады.

Микробиологиялық тұрғыдан сүзбе өнімдерін ұзақ уақыт сақтау қажет емес болғанымен, маусымаралық кезеңде халықты бұл өніммен үздіксіз қамтамасыз ету үшін қажет. Тез бұзылатын сүтқышқылды өнімдердің, атап айтқанда сүзбе өнімдерінің жалпы микробтық ластану мөлшері тұтынушы үшін олардың қауіпсіздігін анықтайтын қажетті көрсеткіш болып табылады.

Сүзбе өнімдерін өндіру және сақтау кезінде микроорганизмдердің саны мен дамуы көптеген факторларға байланысты: шикізаттың сапасына, сүтті пастерлеу температурасына, ұйытқыны қосуға, ашыту, жетілдіру, салқындату температурасына. Сүзбе өнімдерінің сапасының төмендеуі зең мен ашытқылардың өсуіне байланысты болуы мүмкін. Осыған байланысты олардың өнімдегі құрамын зерттеу бойынша зерттеулер жүргізілді.

Арабиногалактан қосылған және қоспасыз сүзбе өнімі үлгілеріне микробиологиялық зерттеулер жүргізілді. 4±2°С температурада колиформдар, ашытқы және зең құрамы анықталды. Талдау нәтижелері төмендегі 3-кестеде келтірілген.

Кесте 3 – Сүзбе өнімінің микробиологиялық көрсеткіштері

Көрсеткіштер	НҚ бойынша рұқсат етілген деңгей	Сүзбе үлгілері	
		Қоспасыз сүзбе өнімі	Арабиногалактан қосылған сүзбе өнімі
ІТТБ (колиформдар), 0,01 г/см^3 өнімде	рұқсат етілмейді	Табылмады	
Salmonella, 25 г/см^3 өнімде	рұқсат етілмейді	Табылмады	
Staphylococcus aureu, 0,1 г/см^3 өнімде	рұқсат етілмейді	Табылмады	
Ашытқы, КТБ/см^3(г) (артық емес)	100	38	45
Зеңдер, КТБ/см^3 (г) (артық емес)	50	12	6

Ішек таяқшасы тобындағы бактериялар сүзбе өнімінің үлгілерінде (0,01 см^3 өнімде) патогенді микроорганизмдер, соның ішінде сальмонелла (25,0 см^3 өнімде) және *S. aureus* (1 см^3 өнімде) тәжірибенің бүкіл кезеңінде анықталмады. Ашытқылар мен зең саңырауқұлақтарының құрамы (КТБ/см^3) сүзбе өнімдеріне арналған нормативтік құжаттамада белгіленген рұқсат етілген мәндерден аспады.

Қорытынды

Қорыта келгенде жаңа өнімнің жарамдылық мерзімін белгілеу барысында 7 күн ішінде оның органолептикалық, физика-химиялық және микробиологиялық көрсеткіштерінің өзгеру динамикасы зерттелді. Өнімнің сапа сипаттамаларының сақталуына кепілдік беретін сақтау мерзімі 4±2°С сақтау температурасында өндірілген күннен бастап 7 күнді құрайды. Бүкіл жарамдылық мерзімі ішінде сүзбе өнімі белгіленген стандарттар шегінде өзінің сапалық сипаттамаларын сақтай отырып, органолептикалық қасиеттері жоғары өнімді алуға мүмкіндік беретінін көрсетті.

Әдебиеттер:

1 Babukhadia K. R., Ermolaev A. O., Podtoptannyi V. C. Biologically active substances of plant components for the enrichment of dairy products. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – Iop Publishing.* 2020, 547(1): 1-8. **(**doi:10.1088/1755-1315/547/1/012009)

2 Долматова О.И., Зигалова Е.И. Биотехнология творожного продукта с компонентами растительного происхождения. *Известия Воронежского государственного университета инженерных технологий*. 2018, 80: 129–132. (https://doi.org/10.20914/2310-1202-2018-1-129-132)

3 Свиридова Т.В., Орловцева О.А., Юсупова К.Р. Исследование органолептических, физико-химических и микробиологических показателей обогащенного творога. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий.* 2016. 1: 186-190. (https://doi.org/10.20914/2310-1202-2016-1-186-190)

4 Пряничникова Н.С. Творожные продукты здорового питания. *Молочная промышленность.* 2012, 4: 67-67. (https://www.elibrary.ru/download/elibrary_17674982 _86215951.pdf)

5 Pozzobon V. And Pozzobon, C. (2019), "Cottage curd in a diet – a review", *Nutrition & Food Science*. 2019, 49(6): 1265-1274. (https://doi.org/10.1108/NFS-03-2019-0073)

6 Бывалец О. А., Шпилев А. А., Куксарова В. М. Пищевые добавки в технологии продуктов питания. *Известия Юго-Зап. гос. ун-та. Серия: Физика и химия.* 2014, 1: 56-62. (https://swsu.ru/izvestiya/seriesphysic/archiv/1-2014.pdf#page=56)

7 Романцова С. Н., Лосевская С. А. Пищевые добавки в продуктах питания, их влияние на здоровье человека. *Цифровизация современной науки: стратегии, инновации.* 2022, 303-305(https://www.elibrary.ru/download/elibrary_48243845_73721749.pdf)

8 Ефремов А. Ю., Шагаева А. К. Использование пищевых добавок в продуктах питания. *Научные исследования: от теории к практике.* 2015, 2(2): 432-433. (https://www.elibrary.ru/download/elibrary_24917346_48959939.pdf)

9 Уточкина Е. А., Решетник Е. И. Определение параметров температурной обработки молочно-растительной смеси. *Амурский медицинский журнал.* 2019, 2 (26): 46-49. (DOI 10.22448/AMJ.2019.2.46-49)

10 Решетник Е. И., Уточкина Е. А. Разработка технологии ферментированного молочно-растительного напитка с функциональными свойствами. *Техника и технология пищевых производств.* 2011, 2(21): 53-56. (file:///C:/Users/77081/Downloads/razrabotka-tehnologii-fermentirovannogo-molochno-rastitelnogo-napitka-s-funktsionalnymi-svoystvami%20(2).pdf)

11 Kelly G. S. Larch arabinogalactantan: clinical relevance of a novel immune-enhancing polysaccharide. *Alternative medicine review: a journal of clinical therapeutic.* 1999, 4(2): 96-103. (https://europepmc.org/article/med/10231609)

12 Reshetnik E. I., Utochkina E. A. Healthy food products with probiotic and prebiotic properties. *Foods and Raw materials.* 2013, 1(1): 88-94. (DOI:10.12737/1562)

IRSTI: 68.41.35, 68.41.53

Ch.A. AZIZOV[1], N.A. ZAMANBEKOV[1], P.H. SOBIECH[2], N.K. KOBDIKOVA[1],
E.M. KORABAEV[1], Sh.B. TURZHIGITOVA[1*], A.A. ZHYLGELDIEVA[1]
[1]Kazakh National Agrarian Research University, Almaty, Kazakhstan
[2]Warmian-Masurian University, Olsztyn, Poland
[*]e-mail: turzigitova@mail.ru

STUDY OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND IMMUNOLOGICAL PROPERTIES OF SOME TYPES OF MEDICINAL PLANTS USED FOR THE TREATMENT OF RESPIRATORY DISEASES OF LAMBS

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.12

Abstract

This paper presents the results of studies to determine the antimicrobial activity and immunological properties of various medicinal plants. The obtained research results have shown that the approved extracts from medicinal plants have a pronounced antibacterial effect against pathogenic pathogens *St. aureus, St. pyogenes, E. colli* and can be used in the manufacture of veterinary phytopreparations for the treatment and prevention of respiratory diseases of young farm animals. 70% alcohol tinctures have a more pronounced antimicrobial property, whereas 40% alcohol tinctures weakly exhibit antibacterial activity. Analysis of the obtained research data indicates that lambs have an immunodeficiency condition accompanied by an imbalance of the immune system. In the course of the study, positive results were obtained from the use of phytopreparations to correct the immunological parameters of the lambs' body, which was confirmed by a significant increase in the level of immunological factors of immunity protection. Compared with the control group, the greatest increase was achieved by T- and B-lymphocytes on average up to 37%, phagocytic blood cells - up to 36, immunoglobulins - up to 37%, lysozyme – up to 30.6%.

Keywords: antimicrobial activity, immunodeficiency, medicinal plant, test culture, extract.

Respiratory diseases of lambs are common in all countries of the world and cause huge economic damage to animal husbandry due to the loss of live weight of animals, reduced productivity, and high mortality of young animals.

The incidence rate of respiratory organs in young animals in the territory of the Republic of Kazakhstan depends on the accompanying climatic conditions and technology of keeping, and feeding animals and ranges from 30 to 70%, while the mortality rate can reach up to 9.7-30.6%. At the same time, losses can be up to 40% of the number of sick animals, taking into account the death and forced slaughter. Respiratory diseases in young farm animals manifest themselves in the form of bronchitis, bronchopneumonia, pleurisy, etc. [1, 2].

Viruses, mycoplasmas, chlamydia, and bacteria play a leading role in the etiopathogenesis of these diseases. When the external environment changes and the stability of the organism decreases, the conditionally pathogenic microflora becomes pathogenic, which can cause the development of a pathological process. All this, in the end, in the absence of adequate treatment, leads to the death of young animals or a decrease in growth and development [3-5].

To date, there are schemes and a large number of pharmacological agents for the treatment of respiratory diseases in young animals of various etiologies, including antibiotics, sulfonamides, fluoroquinolones, etc. A common disadvantage of antimicrobial agents is that prolonged use of the same drugs leads to the appearance of a large number of resistant strains of microorganisms, and thereby to a decrease in their therapeutic effectiveness, which in turn complicates and increases the cost of treatment [6 - 8].

Also, in the system of combating respiratory diseases of farm animals, vaccination has been widely used. However, vaccination of sheep and mother cows carried out against the background of reduced immunological status of animals does not always yield the desired result.

In addition, the effectiveness of forming active post-vaccination immunity in young animals in the early postnatal period is hindered by colostral antibodies [9].

Currently, much attention is being paid worldwide to the development of herbal preparations that have significant advantages over synthetic ones. Herbal preparations not only have an antimicrobial effect but also enhance the body's defenses, involving immune adaptations in the elimination of infection. These features of the mechanism of therapeutic action of herbal preparations to a certain extent explain the fact that bacterial resistance to antibiotics from plants in the body occurs much less frequently and more slowly [10-12].

Phytotherapy has several advantages over other methods of health improvement: the ecological safety of plants, allowing long-term and safe use; the evolutionarily developed relationship between the active substances of plants and physiologically active substances of the body; the polyvalence of the action of plants, containing many therapeutic components, the so-called biologically active substances, allowing simultaneous treatment of the main and concomitant diseases by plants. Unlike synthetic drugs, they have a wider range of action, fewer side effects, and lower risks of interaction with other drugs. Phytopreparations are used to treat many diseases, including socially significant ones such as cardiovascular, oncological, infectious, respiratory, and digestive system diseases, eye diseases, etc. Unfortunately, in veterinary medicine, they are still not used enough [13-18].

Therefore, the development of new drugs with not only pronounced antimicrobial but also anti-inflammatory and immunomodulatory effects, with minimal side effects, is a very urgent task. Consequently, the search for new herbal preparations, the study of their pharmacological properties, and their introduction into wide veterinary practice are currently of great scientific and practical importance all over the world, especially since the richness of the flora of our country opens up broad prospects in this direction.

Novelty: Medicinal plants with a pronounced therapeutic and prophylactic effect in the respiratory diseases of lambs were selected for the first time, and their antimicrobial activity against pathogenic microbes and immunological properties were studied.

Materials and methods of research

As a determination of antimicrobial properties, we prepared concentrated alcohol extracts from the following medicinal plants: folium Salvia (sage flowers), radix Inula (basil root), herbal Hypericum (St. John's wort leaves), radix Althaeae (marshmallow).

The main question concerning the effect of biologically active and medicinal substances on microbial pathogens of infectious diseases is the question of changing the metabolic processes of the microbial cell under the action of the substance under study. The presence of changes in the main metabolic reactions of the microbe will indicate the active action of the medicinal substance. There are usually two types of antibacterial action: bactericidal action, resulting in the death of bacteria, and bacteriostatic action, manifested in stopping the growth and reproduction of bacteria while preserving their viability.

The study of antimicrobial activity was carried out against pathogenic microorganisms by the method of serial dilutions in a liquid nutrient medium [19]. The first test tube in a row contains twice as much medium as all the subsequent ones. Extracts prepared from medicinal plants were added at the rate of 1:40. Then, by successive dilution of solutions, several decreasing concentrations of this extract were obtained. The preparations were tested in dilutions of 1:40 - 1:320. The last test tube with the medium was not added, it served as a control. Thus, 4 ml of the medium and 0.2 ml of the tested plant extract were poured into the first test tube; 2 ml of the medium was added to the subsequent ones. From the first tube, 2 ml was transferred to the subsequent ones and 2 ml was removed from the last one. After that, 0.2 ml of a bacterial culture, equal in turbidity to the one-billion standard and diluted 10 times, was poured into each tube. Strains of gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*) and strains of gram-negative bacteria (*E. coli*) were used as a test culture.

The control of experimental preparations involved sowing the same microorganisms on nutrient media that did not contain the tested drugs. The cultures, both experimental and control, were maintained for one day in a thermostat at a temperature of 37°C, after which the experimental results were recorded. The effectiveness of phytopreparations was assessed by visually observing the growth of colonies of initial microorganisms and by examining smears stained by Gram microscopy. An approximate estimation of growth was utilized, expressed with crosses. Despite its simplicity, this method of assessment is quite accurate in most cases, as only significant differences are given decisive importance in evaluating growth in experiments; for example, there is growth - no growth; lush growth – barely noticeable; growth.

To elucidate the causes of high morbidity, the level of nonspecific resistance and immunological reactivity in clinically healthy patients with acute respiratory diseases of lambs was studied. For this purpose, two groups were formed: the first group consisted of clinically healthy lambs (10 heads), and the second group comprised lambs with pronounced signs of acute respiratory diseases (10 heads).

To assess the immune status of clinically healthy and sick lambs, the absolute number of leukocytes, the relative and absolute number of lymphocytes and their main populations (T- and B-lymphocytes), the functional activity of neutrophils, the level of G- and M-class immunoglobulins, lysozyme, and bactericidal activity were determined in the blood [20]. Humoral and cellular indicators of immunity were determined according to the methodological recommendations of P.A. Emelianenko in co-authorship [21]. The total blood count was determined using a hematological analyzer Sistemex–21 (Japan); the content of immunoglobulins was determined with the use of an automated analyzer "Immunlight 1000" (USA); and the phagocytic activity of neutrophils was determined using microscopes Karltseys, Prima Star (Germany), and M-50 (Austria).

The obtained numerical data were processed using the constant method of variational statistics, calculating arithmetic averages and their statistical errors (M± m), and the reliability (P) of the compared indicators was determined by Student's test. The statistical analysis package Microsoft Excel was used for calculations.

Results and discussion

The extracts from the aforementioned medicinal plants were prepared in the laboratory of the Department of Clinical Veterinary Medicine of KazNARU. The conducted studies have established that the extracts from St. John's wort leaves exhibited more pronounced bactericidal properties at dilutions of 1:40 - 1:80, while marshmallow root showed efficacy at dilutions of 1:80 - 1:160. Sage flowers, as well as the root and rhizome of basil, demonstrated bactericidal properties in a dilution range of 1:40 - 1:160. Regarding bacteriostatic properties, extracts from St. John's wort leaves were effective at dilutions of 1:80 - 1:160; sage flowers and rhizomes of basil showed efficacy at dilutions of 1:80 - 1:320; and marshmallow root exhibited bacteriostatic properties at dilutions of 1:160 -1:320. The results of determining the antimicrobial activity of extracts from various medicinal plants are presented in the attached Table 1 below.

Table 1 – Antimicrobial activity of medicinal plant extracts

№ N/n	Extracts from medicinal plants	Pathogenic tests of pathogens					
		Str.pyogenes		*St.aureus*		*E.coli*	
		B/cid. features	B/stat. features	B/cid. features	B/stat. features	B/cid. features	B/stat. features
1	folium Salviae	1:160	1:320	1:80	1:320	1:40	1:80
2	Radix Inula	1:160	1:320	1:80	1:160	1:40	1:80
3	herbae Hypericum	1:80	1:160	1:80	1:160	1:40	1:80
4	Radix Althaeae	1:80	1:320	1:80	1:160	1:80	1:160
Notation: B/cid. – bactericidal properties; B/stat. – bacteriostatic properties							

Hence it should be noted that the pronounced bacteriocidal and bacteriostatic effects of the tested medicinal plants are apparently due to the presence of various components in the chemical composition of these plants, in particular, essential oils, glycosides, alkaloids, tannins, and ascorbic acid.

The results of a comparative study of the antimicrobial activity of 40 and 70% alcohol tinctures made from herbae Hypericum, fol. Salvia, rad. Inula L., rad. Althaeae are presented in Table 2.

Table 2- Antibacterial activity of tinctures made from medicinal plants

№ N/n	Plant species	Alcohol concentration,%	Minimum suppressive concentration			
			Staphylococcus aureus		*Escherichia coli*	
			control	experience	control	experience
1	Folium Salviae	40	-//-	-//-	-//-	-//-
		70	1/10	1/40	1/10	1/20
2	Radix Inula	40	-//-	-//-	-//-	-//-
		70	1/10	1/80	1/10	1/40
3	Herbae Hypericum	40	-//-	-//-	-//-	-//-
		70	1/10	1/80	1/10	1/40
4	Radix Althaeae	40	-//-	-//-	-//-	-//-
		70	1/10	1/40	1/10	1/20
Notation: "-//-" means the growth of microorganisms (lack of activity).						

Tinctures on 70% alcohol of all studied plant species have pronounced antimicrobial activity about the studied bacterial strains. Whereas, tinctures on 40% alcohol do not show or weakly show antibacterial activity. In the studied species, bacteriostatic activity ranged from low – 1/10 to promising - 1/80.

The most pronounced antibacterial effect is shown by alcohol extracts from the leaves of

St. John's wort and the root of basil about gram-positive microorganisms (*St. aureus*) from 1/10 to 1/80, whereas to gram-negative (*E. coli*) for tinctures, a lower susceptibility from 1/10 to 1/40 is established ($^{x}P < 0,05$; $^{xx}P < 0,01$; $^{x\,xx}P < 0,001$).

A comparative study of the antimicrobial activity of the studied species showed that herbal Hypericum tincture (St. John's wort leaves) and radix Inula (basil root) have a more pronounced bacterial effect, both to *St. aureus* (1/80) and *E. coli* (1/40), while a high level of antibacterial activity was also noted in alcohol extract from folium Salvia (sage flowers) and radix Althaeae (marshmallow root) – 1/20 and 1/40, respectively. The bacteriostatic activity of 70% alcohol tinctures to E. coli should be due to the action of the extractant.

Any pathological process is accompanied by deviations in the immunological parameters of the animal organism. Among the methods that enable an objective assessment of animal health and the progression of pathological processes in their bodies, blood testing holds a significant position. Blood in a living organism serves crucial functions by providing optimal conditions for the normal functioning of organs and systems. Under various conditions within the body, the count of immunological indicators may decrease, leading to immunodeficiency and subsequent immune system imbalance.

The results of studies on the immunological parameters of clinically healthy and sick lambs are presented in Table 3.

Table 3 – Immunological parameters of clinically healthy and patients with respiratory diseases of lambs of 1 and 2 months of age (M±m; n=10)

Indicators	Animal groups	
	Clinically healthy n=5	Patients n =5
Leukocytes, 10^{9}/ l	7,44± 0,32	6,52 ± 0,45
Lymphocytes, %	52,8 ± 2,21	44,3 ± 2,30
Lymphocytes, 10^{9}/ l	5,28 ± 0,36^{x}	4,47 ± 0,29
T-lymphocytes, %	28,2 ± 0,54^{xxx}	19,1 ± 0,42
T-lymphocytes, 10^{9}/ l	1,6 ± 0,1^{x}	1,2 ± 0,1
B-lymphocytes, %	8,19 ± 0,3^{xxx}	6,48 ± 0,4
B-lymphocytes, 10 /l	0,56 ± 0,02^{xxx}	0,43 ± 0,03
FAoBN, % - spontaneous test	6,84 ± 0,3^{xx}	5,55 ± 0,2
- induced test	23,1 ± 0,69^{xx}	15,3 ± 0,62
IgG, мг/мл,	10,2 ± 0,39	7,8 ± 0,32
Ig M, мг/мл	1,0 ± 0,08	0,8 ± 0,05
LAoBS, %	2,11 ± 0,3	1,52 ± 0,4
БАСК, %	84,3 ± 2,7^{xxx}	61,6 ± 2,3
Notation: $^{x}P < 0,05$; $^{xx}P < 0,01$; $^{x\,xx}P < 0,001$ - reliability; FAoBN - functional activity of blood neutrophils; LAoBS - lysozyme activity of blood serum; BAoBS - bactericidal activity of blood serum		

It follows from the data in Table 3 that in patients with respiratory pathology of lambs, suppression of the immune status was established, accompanied by a decrease in the absolute content of leukocytes by 14.1%, lymphocytes by 19.2%, relative and absolute content of T-

lymphocytes by 47.6 and 33.3%, B-lymphocytes by 26.4 and 30.2%, respectively, inhibition of the functional activity of blood neutrophils in spontaneous and induced tests, by 23.2 and 50.9% in comparison with clinically healthy lambs.

The concentration of immunoglobulins G and M also tended to decrease in the control group of lambs by 30.1 and 25%, respectively. The lysozyme activity of blood serum was reduced by 38.8, and the bactericidal activity of blood serum – by 36.9% ($^{x}P < 0,05$; $^{xx}P < 0,01$; $^{x}P < 0,001$).

Thus, based on the obtained research results, it should be concluded that both clinically healthy and, to a greater extent, patients with respiratory diseases of lambs have a pronounced immunodeficiency condition, which has a decisive influence on the occurrence and development of the disease. In this regard, the development of highly effective and accessible means and methods of immunocorrection for use in veterinary practice becomes important in improving measures to combat these diseases.

In this regard, the use of a multi-component extract in a dose of 5.0 ml per kg of live weight of lambs with acute bronchitis significantly activates the immunological parameters of the blood. The obtained research results are shown in Table 4.

Table 4-Effect of multicomponent phytopreparation on immunological parameters of lambs with respiratory diseases (M±m; n=10)

Indicators	Groups of lambs					
	Experiments			Control		
	Research Days			Research Days		
	1	7	14	1	7	14
Leukocytes, 10^{9}/ l	6,52 ± 0,45^{x}	7,69 ± 0,50	8,56 ± 0,52	6,52 ± 0,45	6,59 ± 0,59	6,91 ± 0,52
Lymphocytes, %	44,3 ± 2,30	53,2 ± 2,18	56,9 ± 2,29	44,3 ± 2,30	45,3 ± 1,62	48,2 ± 1,39
Lymphocytes, 10^{9}/ l	4,47 ± 0,29	5,38 ± 0,35	5,96 ± 0,28	4,47 ± 0,29	4,71 ± 0,49	4,92 ± 0,48
T-lymphocytes, %	19,1 ± 0,42	26,5 ± 0,61	29,5 ± 0,73	19,1 ± 0,42	19,9 ± 0,52	21,5 ± 0,45
T-lymphocytes, 10^{9}/ l	1,2 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,8 ± 0,1^{xxx}	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1^{xx}
B-lymphocytes, %	6,48 ± 0,49	7,89 ± 0,35	8,71 ± 0,51	6,48 ± 0,48	6,59 ± 0,46	6,88 ± 0,43
B-lymphocytes,10 /l	0,43 ± 0,03	0,56 ± 0,03	0,63 ± 0,03	0,43 ± 0,03	0,43 ± 0,01	0,46 ± 0,01
FAoBN, % - spontan test	5,55 ± 0,20	6,95 ± 0,25	7,62 ± 0,22	5,55 ± 0,28	5,69 ± 0,21	5,81 ± 0,23
-induced test	15,3 ± 0,62	20,1 ± 0,54	24,2 ± 0,66	15,3 ± 0,62	15,8 ± 0,52	17,8 ± 0,46
IgG, mg/ml,	7,8 ± 0,32^{x}	10,5 ± 0,29	11,8 ± 0,31	7,8 ± 0,32	7,9 ± 0,31^{xx}	8,3 ± 0,20
IgM, mg/ml	0,8 ± 0,05^{x}	1,1 ± 0,05	1,2 ± 0,05^{xx}	0,8 ± 0,05	0,8 ± 0,05	0,9 ± 0,05
LAoBS, %	1,52 ± 0,4	2,21 ± 0,4	2,39 ± 0,4	1,52 ± 0,4	1,62 ± 0,4	1,83 ± 0,4
BAoBS, %	61,6 ± 2,3	79,5 ± 2,1	86,2 ± 2,4	61,6 ± 2,1	62,8 ± 2,5	67,9 ± 2,3

Notation: $^{x}P < 0,05$; $^{xx}P < 0,01$; $^{x\,xx}P < 0,001$ - reliability; FAoBN - functional activity of blood neutrophils; LAoBS - lysozyme activity of blood serum; BAoBS - bactericidal activity of blood serum

It can be seen from the presented research results that the immunological parameters in the experimental group of lambs significantly exceed the initial data. Thus, the concentration of white blood cells on the 7th and 14th days of the studies to the baseline indicator increases by 17.9 and 31.3%, respectively. A similar upward trend was noted for lymphocytes, where the increase was 20.1 and 28.4%. The largest increases were recorded from T-lymphocytes (38.7 and 54.5%) and B-lymphocytes (21.8 and 34.4%).

Higher indicators were noted in relation to the phagocytic activity of blood neutrophils (FAoBN). The FAoBN level in the spontaneous test increases by 25.2 and 37.3%, respectively, compared with the initial data, and in the induced test – by 31.3 and 58.2% ($^{x}P < 0,05$; $^{xx}P < 0,01$).

The obtained research results indicate that the use of a multicomponent extract activates the immunoglobulin composition of the blood serum of lambs. Thus, during the above–mentioned study periods, the concentration of IgG in the initial data increases by 36.6 and 51.3%, respectively, and the concentration of IdM - by 37.5 and 50.0%, respectively ($^{x}P < 0,05$; $^{x}P < 0,01$).

Humoral immune protection factors are also significantly activated under the influence of the plant extract. Thus, the level of lysozyme activity in blood serum increases by 45.4 and 57.2%, respectively, compared with the baseline indicator, and the value of bactericidal activity of blood serum increases by 29.1 and 39.9% ($P < 0.05$).

The studied immunological indicators in a comparative aspect with the data of the control group also tended to increase. Thus, the number of leukocytes in the experimental group of lambs compared with the indicators of the control group on the 7th and 14th days of studies increased by 16.7 and 23.9%, respectively; T-lymphocyte concentrations – by 19.7 and 37.2%; B-lymphocytes – by 19.7 and 26.6% ($^{x}P < 0,05$; $^{xx}P < 0,01$; $^{x\,xx}P < 0,001$).

Under the influence of the Phyto preparation, the phagocytic activity of blood neutrophils increases, where their degree of increase in the spontaneous test in the experimental group was 22.1 and 31.2%, respectively, and in the induced test - 27.2 and 36.0%.

A significant increase in the experimental group of lambs was noted from the quantitative content of immunoglobulins. Thus, the increase in IgG concentration in the experimental group of lambs relative to the control group averaged 37.6%. IgM averaged 35.4% ($^{x}P < 0,05$; $^{xx}P < 0,01$).

Humoral indicators of nonspecific resistance in the experimental group of lambs significantly exceed the data of the control group. So, if the degree of increase in the level of lysozyme activity of blood serum in the experimental group was up to 2.21 ± 0.4 and 2.39 ± 0.42.39 ± 0.4%, then in the compared control group the indicators were only 1.62 ± 0.4 and 1.83 ± 0.41.83 ± 0.4% ($^{x}P < 0,05$; $^{xx}P < 0,01$; $^{x\,xx}P < 0,001$).

Conclusion

The obtained research results have shown that the approved extracts from medicinal plants have a pronounced antibacterial effect against pathogenic pathogens *St. aureus*, *St. pyogenes*, *E. colli* and can be used in the manufacture of veterinary phytopreparations for the treatment and prevention of respiratory diseases of young farm animals. 70% alcohol tinctures have a more pronounced antimicrobial property, whereas 40% alcohol tinctures weakly exhibit antibacterial activity.

Analysis of the obtained research data indicates that lambs have an immunodeficiency condition accompanied by an imbalance of the immune system. In the course of the study, positive results were obtained from the use of phytopreparations to correct the immunological parameters of the lambs' body, which was confirmed by a significant increase in the level of immunological factors of immunity protection.

References:

1 Lochkarev V.A. Povyshenie effektivnosti lecheniya pri bronhopnevmonii u telyat. Veterinariya, 2000, 11: 37-38.(https://www.dissercat.com/content/lechenie-telyat-bolnykh-nespetsif)

2 YAkupova G.M. Effektivnost' razlichnyh metodov lecheniya telyat, bol'nyh nespecificheskoj bronhopnevmoniej. Kand. dis. vet. nauk. Kazan', 2010: 125. (https://www.dissercat.com/content/effektivnost-razlichnykh-metodov-le)

3 Biryukov I.V. Effektivnost' primeneniya nekotoryh lekarstvennyh rastenij pri profilaktike boleznej organov dyhaniya u telyat. V Sb. statej XII-Mezhd. nauchno-praktich. konf. «Agrarnaya nauka sel'skomu hozyajstvu», Kniga 3, Barnaul, 2017: 245-401. (http://repository.atu.kz/xmlui/bitstream/handle/123456789/1513/Proceedings%20GSI-5.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

4 Alimova T.. Turyspaeva Sh., Zamanbekov N., Siyabekov S., Korabaev E. Pathogenesis and pathological changes bronchopneumania of calves. *Research, results the Scientific journal of the KazNAU,* 2017, 4: 5-8. (doi: 10.1016/j.cvfa.2010.04.001)

5 F. P. Petryankin, O. YU. Petrova.Bolezni molodnyaka zhivotnyh : uchebnoe posobie dlya studentov vuzov, obuchayushchihsya po special'nosti «Veterinariya» pod red. – 2-e izd., pererab. i dop., Sankt-Peterburg; Moskva; Krasnodar : Lan', 2014 : 352. (https:e.lanbook.com/book/44761)

6 A. G. Shakhov [et al.] Corrective Effect of Gentabiferon-S on Weaned Piglet Immune Status and Its Effectiveness in Prevention of Intestinal Infections. *Russian Agricultural Sciences*. - 2019. - Vol. 45, 1: 89-93. (http://dx.doi.org/10.3103/S1068367419010130)

7 M. N. Musaeva, N. R. Budulova, Z. G. Musaeva, H. M. Gajdarbekovoj, Veterinarnyj vrach.M. Sposob lecheniya i profilaktiki zheludochno-kishechnyh zabolevanij novorozhdennyh telyat / pod red. 2016, 4: 32-36. (https://cyberleninka.ru/article/n/sposob-lecheniya-i-profilaktika-zheludochno-kishechnyh-zabolevaniy-novorozhdennyh-telyat)

8 Baginov B. O. Klinicheskij status i nekotorye gematologicheskie pokazateli krovi v norme i pri bronhopnevmonii ovec buryatskoj aborigennoj porody. Avtoref. dis. (https://medical-diss.com/docreader.132357page=3)

9 A.V. Grigor'eva, S.V. Novikova, V.E. Abramov, E.V. Gluhareva. Sovershenstvovanie etiotropnoj terapii ostrogo bronhita telyat., Veterinariya.-M., 2015.5:17-20. (https://www.dongau.ru/nauka-i-innovatsii/nauchnye-konferentsii-dongau)

10 Andreeva A.V. Effect of probiotic preparations on the intestinal microbiome. *Journal of Engineering and Applied Sciences*. - 2018. - T. 13. - № S8. :. 6467-6472. (doi: 10.1177/1756283X12459294)

11 Korneeva O.S. Fitoterapiya pri boleznyah zhivotnyh. Veterinariya, 2008, 3: 47-63. (https://repo.vsavm.by/bitstream/123456789/5122/1/j-2018-1-40-43.pdf)

12 Rafikova E.R. Acute Oral Toxicity of Vetom 21.77 Based on Duddingtonia Flagrans in Broiler Chickens. *Macedonian Veterinary Review*, 2019, T.42., 1:87-93. (doi:10.2478/macvetrev-2018-0031)

13 Vishnevec ZH.V., Prusakova A.A., Goncharenko V.V. Ispol'zovanie lekarstvennyh rastenij v veterinarii. Mat. XIV-Mezhd. nauchno-prakt. konf. «Agrarnaya nauka – sel'skomu hozyajstvu».- Kniga 2, Barnaul, 2019: 269-271. (https://e.lanbook.com/journal/issue/306494)

14 Boranbayeva K. E. [and et all.]. Comparative Pharmacotherapeutic efficacy of Therapeutic Interventions in infectious Keratoconjunctivitis in cattle. *Research J. Pharm. and Tech*. 16(1): Januar 2023: 46-54 (Scopus). (doi: 10.52711/0974-360X.2023.00009)

15 Sh.B.Turzhigitova, Zamanbekov N.A., Kobdikova N.K., Korabaev E.M., Zhylgeldieva A.A. A New Environmentally Safe Phytopreparation the inscresing the Protective Function of Calves. *Jornal of Pharmaceutical Scienes and Resarch* Vol. 14(2), 2021: 887-894. (doi: 10.5958/0974-360X.2021.00158.X)

16 Sh. Turzhigitova, N.Zamanbekov, Y. Korabayev, Zh. Kaziyev, A.Tuganbay. Technology for Obtaining Dosage Forms (Tinctures, Extracts) from Local Plant Raw Materials and studying their Toxicity. *Jornal of Pharmaceutical Scienes and Resarch* Vol. 15(8), August 2022: 3540-3548. (doi: 10.52711/0974-360X.2022.00594)

17 K. E. Boranbayeva, N. A. Zamanbekov, R. S. Sattarova, G. N. Spiridonov, A. A. Zhylgeldiyeva Sh. B. Turzhigitova. Comparative Pharmacotherapeutic effectiveness of Therapeutic Ointments in infectious Keratoconjunctivitis in cattle. *Research J. Pharm. and Tech*. 16(1): January 2023: P.46-54. (DOI: 10.52711/0974-360X.2023.00009)

18 Zamanbekov N.A., Turyspaeva SH.ZH., Ospankulov A., Ahmetova M.S., Omarova U.K. Vliyanie nastoya iz list'ev podorozhnika na nektorye pokazateli nespecificheskoj rezistentnosti organizma telyat. Mat. XVI Mezhd nauchno-prakt. konf. «Aktual'nye voprosy sovremennoj nauki», Tomsk, 21.11.2018. Izd. «NIC Vestnik Nauki – Izd. Dendra». 146-152.
(https:www.elibrary.ru/ip_restricted.asp.rpage36977568)

19 Bombela T. V. Metodologicheskie osnovy farmakognosticheskogo izucheniya, standartizacii syr'ya polimorfnyh vidov lekarstvennyh rastenij na primere roda euphrasia. 14.04.02 – farmacevticheskaya himiya, farmakognoziya. Dokt. diss. Perm', 2017. https://www.dissercat.com/content/metodologicheskie-osnovy-farmakognosticheskogo-izucheniya-standartizatsii-syrya-polimorfnykh

20 Metodicheskie rekomendacii po ocenke i korrekcii immunnogo statusa zhivotnyh. A. G. SHahov [i dr.] Novye metody issledovanij po problemam veterinarnoj mediciny. CH. III. Metody issledovanij po problemam nezaraznoj patologii u produktivnyh zhivotnyh. M. 2007: 115. (DOI: 10.52711/0974-360X.2023.00009)

21 Emel'yanenko P.A., Gryzlova O.M., Denisenko V.M. Metodicheskie ukazaniya po testirovaniyu estestvennoj rezistentnosti telyat. M., 2004: 64. (https:cyberleninka.ru/article/n/estestvennaya-rezistentnost-neteley-r)

Х.А. АЗИЗОВ[1], Н.А. ЗАМАНБЕКОВ[1], П.Х. СОБИЕХ[2], Н.К. КОБДИКОВА[1],
Е.М. КОРАБАЕВ[1], Ш.Б. ТУРЖИГИТОВА[1*], А.А. ЖЫЛЬГЕЛДИЕВА[1]
[1]Казахский национальный аграрный исследовательский университет, Алматы, Казахстан
[2]Вармино-Мазурский университет, Ольштын, Польша
[*]e-mail: turzigitova@mail.ru

ИЗУЧЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НЕКОТОРЫХ ВИДОВ ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТЕНИЙ, ПРИМЕНЯЕМЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ РЕСПИРАТОРНЫХ БОЛЕЗНЕЙ ЯГНЯТ

Аннотация

В данной работе приводятся результаты исследований по определению антимикробной активности и иммунологических свойств различных лекарственных растений. Полученные результаты исследований показали, что апробированные экстракты из лекарственных растений обладают выраженным антибактериальным действием в отношении патогенных возбудителей *St. aureus, St. pyogenes, E. colli* и могут быть использованы при изготовлении ветеринарных фитопрепаратов для лечения и профилактики респираторных заболеваний молодняка сельскохозяйственных животных. Более выраженным антимикробным свойством обладают 70%-ные спиртовые настойки, тогда как 40%-ные спиртовые настойки слабо проявляют антибактериальную активность. Анализ полученных данных исследований свидетельствуют, что у ягнят имеет место наличие иммунодефицитого состояния, сопровождающегося дисбалансом иммунной системы. В процессе исследования были получены положительные результаты от использования фитопрепаратов с целью коррекции иммунологичеких показателей организма ягнят, что подтверждены существенным увеличением уровня иммунологических факторов защиты иммунитета. По сравнению с контрольной группой наибольшего увеличения достигли Т- и В-лимфоциты в среднем до 37%, фагоцитирующие клетки крови - до 36%, иммуноглобулины - до 37%, лизоцим –до 30,6%.

Ключевые слова: антимикробная активность, иммунодефицит, лекарственное растение, тест-культура, экстракт.

ҒТАМР: 68.41.35, 68.41.53

Х.А. АЗИЗОВ[1], Н.А. ЗАМАНБЕКОВ[1], П.Х. СОБИЕХ[2], Н.К. КОБДИКОВА[1],
Е.М. ҚОРАБАЕВ[1], Ш.Б. ТУРЖИГИТОВА[1*], А.А. ЖЫЛЬГЕЛДИЕВА[1]
[1]Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Алматы, Қазақстан
[2]Вармин-Мазурск университеті, Ольштын, Польша
[*]e-mail: turzigitova@mail.ru

ҚОЗЫЛАРДЫҢ РЕСПИРАТОРЛЫҚ АУРУЛАРЫНА ҚАРСЫ ҚОЛДАНЫЛАТЫН КЕЙБІР ДӘРІЛІК ӨСІМДІКТЕР ТҮРЛЕРІНІҢ АНТИМИКРОБТЫ БЕЛСЕНДІЛІГІН ЖӘНЕ ИММУНОЛОГИЯЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІН ЗЕРТТЕУ

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.12

Түйін

Бұл мақалада әртүрлі дәрілік өсімдіктердің микробқа қарсы белсенділігі мен иммунологиялық қасиеттерін анықтау бойынша зерттеу нәтижелері келтірілген. Зерттеу нәтижелері негізінде дәрілік өсімдіктерден алынған сығындылардың St. aureus, St. pyogenes, E. colli патогендік қоздырғыштарына қарсы айқын бактерияға қарсы әсері бар екендігі анықталды, осы себепті олар ауылшаруашылық жануарлары төлдерінің тыныс алу мүшелері ауруларын емдеу және алдын алу үшін ветеринариялық фитопрепараттар өндірісінде қолданылуына негіз бола алуы мүмкін. 70%-ды спиртті тұнбашалары айтарлықтай айқын микробқа қарсы қасиетке ие болса, ал 40%-ды спиртті тұнбашалары бактерияларға қарсы әлсіз белсенділікті танытты. Алынған зерттеу деректерін талдау нәтижелері қозыларда иммундық жүйенің теңгерімсіздігімен бірге жүретін иммундық тапшылық жағдайы бар екенін көрсетті. Зерттеу барысында қозылар ағзасының иммунологиялық көрсеткіштерін реттеу мақсатында фитопрепараттарды қолданудан оң нәтижелер алынды, ал бұл өз кезегінде иммунитетті қорғаудың иммунологиялық факторларының деңгейінің едәуір артуымен расталды. Бақылау тобымен салыстырғанда Т - және В-лимфоциттер орташа есеппен 37% - ға дейін, нейтрофилдердің фагоцитарлық белсенділігі - 36%–ға дейін, G және М класындағы иммуноглобулиндер-37% - ға дейін, лизоцим-30,6% - ға дейін ұлғайтындығы анықталды.

Кілтті сөздер: микробқа қарсы белсенділік, иммундық тапшылығы, дәрілік өсімдік, тест-культура, сығынды.

Қозылардың тыныстану жүйесі аурулары әлемнің барлық елдерінде кең таралған және жануарлардың тірідей салмағы мен өсіп-дамуының төмендеуіне және олардың өлімінің жоғарылауына байланысты мал шаруашылығына үлкен экономикалық зиян келтіреді.

Қазақстан Республикасының аумағында жас жануарларда тыныс алу мүшелерінің сырқаттану деңгейі ілеспе климаттық жағдайларға, жануарларды күтіп-баптау, азықтандыру технологиясына байланысты 30-дан 70% - ға дейін құрайды, бұл ретте өлім-жітім 9,7-30,6% - ға дейін жетуі мүмкін. Бұл ретте келтірілетін шығындар өлімге душар болу немесе мәжбүрлі союды ескере отырып, ауырған жануарлар санының 40% - на дейін құрауы мүмкін. Ауылшаруашылық жануарлары төлдері арасында бронхит, бронхопневмония, плеврит ж. т. б. тыныс алу мүшелерінің аурулары түрінде жиі көрініс табады [1, 2].

Бұл аурулардың этиопатогенезінде вирустар, микоплазмалар, хламидиоздар және бактериялар жетекші рөл атқарады. Сыртқы ортаның өзгеруімен және дененің тұрақтылығының төмендеуімен шартты түрдегі патогендік микрофлора патогендік түрге ауысып, ал бұл өз кезегінде патологиялық процестің дамуына әкелуі мүмкін. Мұның бәрі, сайып келгенде, тиісті ем болмаған жағдайда, жас жануарлардың өліміне немесе өсу мен дамудың төмендеуіне душар еткізеді [3-5].

Қазіргі кезде әр түрлі этиологиядағы жас жануарлардың тыныс алу мүшелерінің ауруларын емдеу үшін антибиотиктер, сульфаниламидтер, фторхинолондар және басқа да, көптеген фармакологиялық емдеу әдістері мен схемалары бар. Патогенді микробтарға қарсы қолданылатын заттардың жалпы кемшілігі - ол препараттарды ұзақ уақыт қолдану салдарынан микроорганизмдердің көптеген төзімді штамдарының пайда болуына әкеледі және осылайша олардың емдік тиімділігін төмендетеді, бұл өз кезегінде емдеу процесін қиындатады және қымбаттатады [6-8].

Сондай-ақ, ауыл шаруашылығы жануарларының тыныс алу жүйесі ауруларымен күресу жүйесінде вакцинопрофилактика кеңінен қолданылды. Алайда, жануарлардың иммунологиялық жағдайының төмендеуі аясында жүргізілетін аналық қойлар мен аналық сиырларды вакцинациялау әрдайым тиімді нәтиже бере бермейді. Сонымен қатар, ерте төлдегеннен кейінгі кезеңде жас жануарларда вакцинациядан кейінгі белсенді иммунитетті қалыптастырудың тиімділігіне колостральды антиденелер кедергі келтіреді [9].

Қазіргі кезде бүкіл әлемде синтетикалық препараттарға қарағанда айтарлықтай артықшылығы бар өсімдік тектес препараттарды қолдануға көп көңіл бөлінеді. Өсімдік тектес препараттар тек ағзадағы микробтарға қарсы әсер етіп қоймай, сонымен қатар инфекцияны жоюға иммундық құрылғыларды тарта отырып, оның қорғаныс қабілетін арттырады. Өсімдік тектес препараттардың емдік әсер ету механизмінің бұл ерекшеліктері белгілі бір дәрежеде антибиотиктерге қарағанда бактериялардың төзімділігі әлдеқайда аз және баяу болатындығына байланысты деп тұжырымдауға болады [10-12].

Фитотерапия басқа сауықтыру әдістеріне қарағанда бірқатар артықшылықтарға ие: ұзақ және қауіпсіз қолдануға мүмкіндік беретін өсімдіктердің экологиялық қауіпсіздігі; өсімдіктердің белсенді заттары мен ағзаның физиологиялық белсенді заттары арасындағы эволюциялық қалыптасқан туыстық; өсімдіктердің поливаленттілігі, құрамында көптеген биологиялық белсенді заттардың болуы, негізгі және қатар жүретін ауруларды өсімдіктермен бір мезгілде емдеу мүмкіндігі. Синтетикалық дәрі-дәрмектерден айырмашылығы, олардың әсер ету ауқымы кең, жанама әсерлері аз және басқа препараттармен өзара әрекеттесу мүмкіндігінің болуы. Фитопрепараттар көптеген ауруларды, соның ішінде жүрек-қан тамырлары, онкологиялық, инфекциялық, тыныс алу және ас қорыту жүйесінің аурулары, көз аурулары және тағы басқа әлеуметтік маңызы бар ауруларды емдеу үшін қолданылса, ал ветеринарияда, өкінішке орай, әлі де жеткіліксіз пайдаланылады [13-18].

Сондықтан айқын антимикробтық қасиет ғана қарсы емес, сонымен қатар қабынуға қарсы, иммуномодуляциялық әсері және минималды жанама әсері бар жаңа препараттарды әзірлеу қазіргі таңда өзекті міндет болып табылады. Демек, өсімдік тектес жаңа препараттарды іздеу, олардың фармакологиялық қасиеттерін зерттеу және оларды кеңінен ветеринария ісіне енгізу қазіргі уақытта бүкіл әлемде үлкен ғылыми-тәжірибеге мәнге ие, әсіресе біздің еліміздің флорасының байлығы бұл бағытта кең перспективалар ашуға мүмкіндігі зор.

Жаңалығы. Алғаш рет қозылардың респираторлық аурулары кезінде айқын емдік-профилактикалық әсері бар дәрілік өсімдіктер таңдалынып алынып, олардың патогенді микробтарға қатысты белсенділігі және иммунологиялық қасиеттері зерттелінді.

Зерттеу материалдары мен әдістері

Микробқа қарсы қасиеттерді анықтау үшін біз келесі дәрілік өсімдіктерден: folium Salvia (жалбыз гүлдері), radix Inula (андыз тамыры), herbae Hypericum (шәйқұрай жапырақтары), radix Althaeae (жалбызтікен тамыры) концентрацияланған спиртті сығындылар дайындадық.

Биологиялық белсенді және дәрілік заттардың жұқпалы аурулардың қоздырғыш микробтарына әсеріне қатысты негізгі фактор – ол зерттелінетін заттың әсерінен микроб жасушасындағы зат алмасу процестерін өзгерту туралы мәселе болып табылады. Микроб

метаболизмінің негізгі реакциялары жағынан өзгерістердің болуы дәрілік заттың белсенді әсер ету мүмкіндігін көрсетеді. Әдетте, бактерияларға қарсы әрекеттің екі түрі болады: бактериялардың өліміне әкелетін бактерицидтік әрекет және бактериялардың өміршеңдігін сақтай отырып, олардың өсуі мен көбеюін тоқтатуда көрінетін бактериостатикалық әрекет.

Микробқа қарсы белсенділікті зерттеу сұйық қоректік ортада сериялық сұйылту әдісімен патогендерге қатысты жүргізілді [19]. Қатардағы бірінші пробиркада барлық кейінгі пробиркаларға қарағанда екі есе көп қоректік орта бар. Дәрілік өсімдіктерден дайындалған сығындыларға 1:40 есебімен қосылды. Содан кейін ерітінділерді дәйекті сұйылту арқылы осы сығындының бірқатар төмендейтін концентрациясы алынады. Препараттар 1:40 - 1:320 сұйылтуларында сыналды. Қоректік ортасы бар соңғы пробиркаға қосылмады, ол бақылау ретінде саналды. Осылайша, бірінші пробиркаға 4 мл қоректік орта және 0,2 мл зерттелетін өсімдік сығындысы құйылды; кейінгілеріне 2 мл-ден қоректік орта қосылады. Бірінші пробиркадан 2 мл кейінгі пробиркаға ауыстырылады және соңғысынан 2 мл алынады. Осыдан кейін әр пробиркаға 0,2 мл-ден бактерия культурасы құйылады, бұлыңғырлығы бір миллиард стандартқа тең және 10 есе сұйылтылған. Сынақ культурасы ретінде оң грамды бактериялардың штамдары (Staphylococcus aureus) және теріс-грамды бактериялардың штамдары (E. coli) қолданылды. Тәжірибелік препараттарды бақылау сыналатын препараттары жоқ қоректік ортаға бірдей микроорганизмдердің культуралары болды. Тәжірибелік және бақылау культуралары термостатта бір күн бойы 37 ^{0}С температурада ұсталды, содан кейін эксперименттердің нәтижелері ескерілді.

Фитопрепараттардың тиімділігі бастапқы микроорганизмдер колонияларының өсуінің болуымен және граммен боялған жағындылардың микроскопиясының нәтижесі бойынша бағаланды. Олардың өсуін көз арқылы шамамен бағалайды, оны крест белгісімен белгілейді. Бағалаудың бұл әдісі, оның қарпайымдылығына қарамастан, көп жағдайда өте дәл, өйткені тәжірибелердегі өсуді бағалау кезінде маңызды айырмашылықтар ғана беріледі; мысалы, өсу бар; өсу жоқ; өсу - әрең байқалады т. б.

Жоғары сырқаттанушылықтың себептерін анықтау мақсатында клиникалық сау және жіті респираторлық аурулары бар қозылардың спецификалық емес төзімділік және иммунологиялық реактивтілік деңгейі зерттелінді. Осы мақсатта 2 топ құрылды: 1-ші топ тәжірибелі клиникалық сау қозылар (10 бас), 2 – ші тәжірибелік топ - жіті респираторлық аурулардың айқын белгілері бар қозылар (10 бас).

Клиникалық сау және ауру қозылардың иммундық жағдайын бағалау үшін қанның құрамындағы лейкоциттердің абсолютті саны, лимфоциттердің және олардың негізгі популяцияларының (Т- және В - лимфоциттер) салыстырмалы және абсолютті саны, нейтрофилдердің функционалдық белсенділігі, қан сарысуындағы - G-және М-класына жататын иммуноглобулиндердің деңгейі, лизоцимдік және бактерицидтік белсенділіктер анықталды [20]. Иммунитеттің гуморальдық және жасушалық көрсеткіштері П.А. Емьяненконың әдістемелік ұсыныстарына сәйкес анықталды [21]. Жалпы қан анализі Sistemex–21 (Жапония) гематологиялық анализаторының көмегімен; иммуноглобулиндердің құрамы "Иммулайт 1000" (АҚШ) автоматтандырылған анализаторын қолдана отырып; нейтрофилдердің фагоцитарлық белсенділігі КарлЦейс, ПримаСтар (Германия) М-50 (Австрия) микроскоптарының көмегі арқылы анықталды.

Нәтижелер және талқылау

ҚазҰАЗУ "Клиникалық ветеринариялық медицина" кафедрасының зертханасында жоғарыда аталған дәрілік өсімдіктерден сығындылар дайындалды. Жүргізілген зерттеулер шәйқурай өсімдігі жапырақтарынан алынған сығындылардың 1:40 - 1:80 сұйылтуында неғұрлым айқын бактерицидтік қасиеттері бар екендігі анықтады; ал бактерицидтік қасиет жалбызтікен тамыры сығындысында – 1:80 - 1:160; жалбыз гүлдері және андыз тамыры мен тамырсабақтары сығындыларында 1:40-1:160 сұйылтуларында байқалды. Шәйқұрай

жапырағынан алынған сығындылардың бактериостатикалық қасиеттері 1:80 - 1:160; жалбыз гүлдері мен андыз тамырсабақтарында - 1:80-1:320, ал жалбызтікен тамырынан дайындалған сығындыда 1:160 - 1:320 сұйылтуыларында көрініс тапты.

Төменде көрсетілген 1-кестеде аталған дәрілік өсімдіктерден алынған сығындылардың микробқа қарсы белсенділігін анықтау нәтижелері келтірілген.

Кесте 1 – Дәрілік өсімдіктерден дайындалған сығындалардың микробтарға қарсы белсенділігі

Рет саны №	Дәрілік өсімдіктерден дайындалған сығындылар (экстрактілер)	Патогенді қоздырғыштар					
		Str.pyogenes		*St.aureus*		*E.coli*	
		Б/цид. қасиет	Б/стат. қасиет	Б/цид. қасиет	Б/стат. қасиет	Б/цид. қасиет	Б/стат. қасиет
1	folium Salvia (жалбыз гүлдері)	1:160	1:320	1:80	1:320	1:40	1:80
2	radix Inula (андыз тамыры)	1:160	1:320	1:80	1:160	1:40	1:80
3	herbae Hypericum (шәйқұрай жапырағы)	1:80	1:160	1:80	1:160	1:40	1:80
4	radix Althaeae (жалбызтікен тамыры)	1:80	1:320	1:80	1:160	1:80	1:160
Ескерту: Б/цид. – бактериоцидтік қасиет; Б/стат. – бактериостатикалық қасиет.							

Дайындалған 40 және 70%-ды спиртті тұнбашларының микробқа қарсы белсенділігін салыстырмалы зерттеу нәтижелері 2-кестеде келтірілген.

Кесте 2-Дәрілік өсімдіктерден дайындалған спиртті тұнбашалардың антимикробты әсер ету белсенділігі

Рет саны №	Дәрілік өсімдіктер	Спирттің концентрациясы, %	Минималды тежейтін концентрациясы			
			Staphylococcus aureus		*Escherichia coli*	
			Бақылау	Тәжірибе	Бақылау	Тәжірибе
1	folium Salvia (жалбыз гүлдері)	40	-//-	-//-	-//-	-//-
		70	1/10	1/40	1/10	1/20
2	radix Inula (андыз тамыры)	40	-//-	-//-	-//-	-//-
		70	1/10	1/80	1/10	1/40
3	herbae Hypericum (шәйқұрай жапырағы)	40	-//-	-//-	-//-	-//-
		70	1/10	1/80	1/10	1/40
4	radix Althaeae (жалбызтікен тамыры)	40	-//-	-//-	-//-	-//-
		70	1/10	1/40	1/10	1/20
Ескерту: «-//-» микроорганизмдердің өсуі (белсендіктің болмауы).						

Зерттелелінген өсімдіктердің барлық түрлерінің 70%-ды спиртті тұнбашаларының бактериялық штамдарға қатысты жоғары антимикробтық белсенділікке ие болатындығы анықталса, ал 40%-ды спиртті тұнбашаларының бактерияға қарсы белсенділік танытпайды немесе әлсіз болатындығы анықталды. Зерттелінген өсімдік түрлерінде бактериостатикалық белсенділік төменгі 1/10 көрсеткіштен жоғары 1/80-ге дейінгі аралықты қамтыды.

Ең айқын бактерияларға қарсы әсер шәйқуарай өсімдігінің жапырақтары мен андыз тамырынан дайындалған спиртті тұнбашалардың оң грамды микроорганизмдерге (St.

aureus) 1/10-1/80 аралығында, ал теріс грамды микроорганизмдерге қатысты (E. coli) 1/10-1/40 аралығында төмен сезімталдықты көрсетті ($^{x}P < 0,05$; $^{xx}P < 0,01$; $^{xxx}P < 0,001$).

Зерттелінген өсімдік түрлерінің микробқа қарсы белсенділігін салыстырмалы түрде зерттеу herbae Hypericum (шәйқурайдың жапырақтары) және radix Inula (андыз тамыры) тұнбашаларының St. aureus (1/80) және E. coli (1/40) патогенді бактерияларға қатысты айқын антимикробты әсер ететіндігін көрсетті. Бактерияларға қарсы белсенділіктің жоғары деңгейі folium Salvia (жалбыз гүлдері) және radix Althaeae (жалбызтікен тамыры) спиртті тұнбашаларында– сәйкесінше 1/20 және 1/40 болатындығы анықталды. E. coli-ге қатысты 70% спиртті тұнбашалардың бактериостатикалық белсенділігі экстрагенттің әсеріне байланысты деп айтуға болады.

Кез-келген патологиялық процесс жануарлар ағзасының иммунологиялық көрсеткіштерінің ауытқуларымен қатар жүреді. Жануарлар денсаулығының жай-күйін және олардың ағзасындағы патологиялық процестің барысын объективті бағалауға мүмкіндік беретін әдістердің ішінде қанды зерттеу ерекше орын алады. Тірі ағзадағы қан ағзалар мен жүйелердің қалыпты жұмыс істеуі үшін оңтайлы жағдайларды қамтамасыз ете отырып, маңызды функцияны орындайды. Әртүрлі патологиялық жағдайларда иммунологиялық көрсеткіштердің санының азаюы иммундық тапшылықты туындатуы мүмкін, бұл өз кезегінде иммундық жүйенің теңгерімсіздігіне әкеледі.

Клиникалық сау және ауру қозылардың иммунологиялық көрсеткіштерін зерттеу бойынша алынған нәтижелер төменде көрсетілген 3-кестеде келтірілген.

Кесте 3 - Клиникалық сау және респираторлық ауруларға шалдыққан 1- және 2 айлық қозылардың иммунологиялық көрсеткіштері (M±m; n=10)

Көрсеткіштер	Жануарлар топтары	
	Клиникалық сау қозылар, n=5	Ауру қозылар, n =5
Лейкоциттер, 10^9/л	7,44± 0,32	6,52 ± 0,45
Лимфоциттер, %	52,8 ± 2,21	44,3 ± 2,30
Лимфоциттер, 10^9/л	$5,28 \pm 0,36^{x}$	4,47 ± 0,29
Т-лимфоциттер, %	$28,2 \pm 0,54^{xxx}$	19,1 ± 0,42
Т-лимфоциттер, 10 ^{9}/л	$1,6 \pm 0,1^{x}$	1,2 ± 0,1
В-лимфоциттер, %	$8,19 \pm 0,3^{xxx}$	6,48 ± 0,4
В-лимфоциттер, 10 /л	$0,56 \pm 0,02^{xxx}$	0,43 ± 0,03
НФБ, % - спонтанды сынама	$6,84 \pm 0,3^{xx}$	5,55 ± 0,2
- индуцкцияланған сынама	$23,1 \pm 0,69^{xx}$	15,3 ± 0,62
IgG, мг/мл,	10,2 ± 0,39	7,8 ± 0,32
Ig M, мг/мл	1,0 ± 0,08	0,8 ± 0,05
ҚСЛБ, %	2,11 ± 0,3	1,52 ± 0,4
ҚСББ, %	$84,3 \pm 2,7^{xxx}$	61,6 ± 2,3
Ескерту: $^{x}P < 0,05$; $^{xx}P < 0,01$; $^{x\ xx}P < 0,001$-шынайылық; НФБ- нейтрофилдердің фагоцитарлық белсенділігі; ҚСЛБ- қан сарысуының лизоцимдік белсенділігі; ҚСББ - қан сарысуының бактериоцидтік белсенділігі.		

3-кестеде көрсетілген мәліметтер бойынша респираторлық патологияларға шалдыққан қозыларда иммундық жағдайының тежелуі белгілі болды, атап айтқанда

клиникалық сау қозылармен салыстырғанда лейкоциттердің абсолютті құрамы 14,1%, лимфоциттер 19,2%, Т-лимфоциттердің салыстырмалы және абсолютті құрамы 47,6 және 33,3%, В-лимфоциттер 26,4 және 30,2%-ға, нейтрофилдердің фагоцитарлық белсенділігі спонтанды және индукцияланған сынамалар бойынша сәйкесінше 23,2 және 50,9%-ға тежелетіндігі анықталды.

«G» және «M» класындағы иммуноглобулиндердің концентрациясы бақылау тобындағы қозылармен салыстырғанда сәйкесінше 30,1 және 25% төмендеу үрдісіне ие болды. Қан сарысуының құрамындағы лизоцимдік белсенділік 38,8% - ға, ал қан сарысуының бактерицидтік белсенділігі 36,9% - ға төмендегіні байқалды ($^{x}P < 0,01$).

Алынған зерттеулердің нәтижелеріне сүйене отырып, клиникалық сау қозыларда да және де көбінесе қозылардың тыныс алу мүшелері аурулары кезінде аурудың пайда болуы мен дамуына шешуші әсер ететін айқын иммундық тапшылығы бар деген қорытынды жасау негіз болады. Осыған байланысты тыныстану жүйесі ауруларымен күресу шараларын жетілдіруде ветеринариялық практикада қолдану үшін тиімділігі жоғары және қолжетімді иммунокоррекциялау әдістерін әзірлеу және қолдану маңызды мәнге ие.

Осыны негізге ала отырып бронхиттің жіті түрімен ауыратын қозылардың тірідей салмағына 5,0 мл мөлшерде поликомпонентті сығындыны қолдану қанның иммунологиялық көрсеткіштерін едәуір белсендіріп әсер ететіндігі анықталды. Зерттеу нәтижелері 4-кестеде келтірілген.

Зерттеу нәтижелері бойынша тәжірибе тобындағы қозылардың иммунологиялық көрсеткіштер бастапқы деректермен салыстырғанда едәуір жоғары екендігі анықталды. Мысалы, зерттеу жүргізудің 7- және 14-ші күндерінде лейкоциттердің концентрациясы бастапқы көрсеткішке қатысты тиісінше 17,9 және 31,3% - ға артады. Осыған ұқсас өсу тенденциясы лимфоциттерге қатысты да байқалды, мұнда олардың жоғарылауы тиісінше 20,1 және 28,4%-ды құрады. Ең жоғары көрсеткіштер Т-лимфоциттер (38,7 және 54,5%) және В-лимфоциттер (21,8 және 34,4%) тарапынан тіркелді ($^{x}P < 0,05$; $^{xx}P < 0,01$; $^{x\ xx}P < 0,001$).

Нейтрофилдердің фагоцитарлық белсенділігіне (НФБ) қатысты да жоғары көрсеткіштер байқалды. Бастапқы деректермен салыстырғанда спонтандық сынама бойынша НФБ деңгейі тиісінше 25,2 және 37,3% – ға, ал индукцияланған сынамада 31,3 және 58,2% - ға артты.

Зерттеу нәтижелері поликомпонентті сығындыны қолдану қозылардың қан сарысуының құрамындағы иммуноглобулиндердің белсенділігін арттыратындығын көрсетті. Мәселен, жоғарыда көрсетілген зерттеу мерзімдерінде бастапқы деректерге қатысты IgG концентрациясы тиісінше 36,6 және 51,3% – ға, ал IgM - тиісінше 37,5 және 50,0% - ға артты.

Өсімдік сығындысының әсерінен иммунитетті қорғаудың гуморальдық факторлары да айтарлықтай белсендіріледі. Мысалы, қан сарысуы құрамындағы лизоцимдік белсенділіктің деңгейі бастапқы көрсеткішпен салыстырғанда тиісінше 45,4 және 57,2% - ға, ал бактерицидтік белсенділік концентрациясы тиісінше 29,1 және 39,9%-ға артады ($^{x}P < 0,05$).

Бақылау тобының деректерімен салыстырмалы аспектіде зерттелінген иммунологиялық көрсеткіштер де жоғарылау үрдісіне ие болды. Тәжірибе тобындағы қозыларда лейкоциттер саны бақылау тобының көрсеткіштерімен салыстырғанда зерттеудің 7, 14-ші күндеріне сәйкесінше 16,7 және 23,9%-ға; Т – лимфоциттердің концентрациясы-19,7 және 37,2% – ға; В-лимфоциттер-19,7 және 26,6%-ға артты ($^{x}P < 0,05$; $^{xx}P < 0,01$; $^{x\ xx}P < 0,001$).

Кесте 4 - Поликомпонентті фитопрепараттың жіті бронхитке шалдыққан қозылардың иммунологиялық көрсеткіштеріне әсері (M±m; n=10)

Көрсеткіштер	Қозылардың топтары					
	Тәжірибелік			Бақылау		
	Зерттеу жүргізілген күндер			Зерттеу жүргізілген күндер		
	1	7	14	1	7	14
Лейкоциттер, 10^9/л	6,52 ± 0,45^{x}	7,69 ± 0,50	8,56 ± 0,52	6,52 ± 0,45	6,59 ± 0,59	6,91 ± 0,52
Лимфоциттер, %	44,3 ± 2,30	53,2 ± 2,18	56,9 ± 2,29	44,3 ± 2,30	45,3 ± 1,62	48,2 ± 1,39
Лимфоциттер, 10^9/л	4,47 ± 0,29	5,38 ± 0,35	5,96 ± 0,28	4,47 ± 0,29	4,71 ± 0,49	4,92 ± 0,48
Т-лимфоциттер, %	19,1 ± 0,42	26,5 ± 0,61	29,5 ± 0,73	19,1 ± 0,42	19,9 ± 0,52	21,5 ± 0,45
Т-лимфоциттер, 10 ^{9}/л	1,2 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,8 ± 0,1^{xxx}	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,2 ± 0,1^{xx}
В-лимфоциттер, %	6,48 ± 0,49	7,89 ± 0,35	8,71 ± 0,51	6,48 ± 0,48	6,59 ± 0,46	6,88 ± 0,43
В-лимфоциттер, 10 /л	0,43 ± 0,03	0,56 ± 0,03	0,63 ± 0,03	0,43 ± 0,03	0,43 ± 0,01	0,46 ± 0,01
НФБ, % - спонтанды тест	5,55 ± 0,20	6,95 ± 0,25	7,62 ± 0,22	5,55 ± 0,28	5,69 ± 0,21	5,81 ± 0,23
- индуцкцияланған сынама	15,3 ± 0,62	20,1 ± 0,54	24,2 ± 0,66	15,3 ± 0,62	15,8 ± 0,52	17,8 ± 0,46
IgG, мг/мл,	7,8 ± 0,32	10,5 ± 0,29	11,8 ± 0,31	7,8 ± 0,32	7,9 ± 0,31^{xx}	8,3 ± 0,20
Ig M, мг/мл	0,8 ± 0,05	1,1 ± 0,05	1,2 ± 0,05^{xx}	0,8 ± 0,05	0,8 ± 0,05	0,9 ± 0,05
ҚСЛБ, %	1,52 ± 0,4	2,21 ± 0,4	2,39 ± 0,4	1,52 ± 0,4	1,62 ± 0,4	1,83 ± 0,4
ҚСББ, %	61,6 ± 2,3	79,5 ± 2,1	86,2 ± 2,4	61,6 ± 2,1	62,8 ± 2,5	67,9 ± 2,3

Ескерту: $^{x}P < 0,05$; $^{xx}P < 0,01$; $^{x\ xx}P < 0,001$-шынайылық; НФБ- нейтрофилдердің фагоцитарлық белсенділігі; ҚСЛБ- қан сарысуының лизоцимдік белсенділігі; ҚСББ - қан сарысуының бактериоцидтік белсенділігі.

Фитопрепараттың әсерінен нейтрофилдердің фагоцитарлық белсенділігінің жоғарылауы байқалды, мұнда олардың жоғарылауы тәжірибе тобында спонтандық сынамада сәйкесінше 22,1 және 31,2%, ал индукцияланған сынамада - 27,2 және 36,0%-ды құрады. Қозылардың тәжірибелік тобында иммуноглобулиндердің сандық құрамы жағынан айтарлықтай жоғарылауы үрдісі байқалды. Мысалы, қозылардың тәжірибелік тобында IgG концентрациясының артуы бақылау тобындағы көрсеткіштермен салыстырғанда орта есеппен 37,6%, ал IgM 35,4%-ды көрсетті ($^{x}P < 0,05$; $^{xx}P < 0,01$; $^{x\ xx}P < 0,001$).

Қозылардың тәжірибелік тобындағы телімсіз резитенттіліктің гуморальдық көрсеткіштері бақылау тобының деректерінен едәуір асып түседі. Егер тәжірибелік топтағы қан сарысуының құрамындағы лизоцимдік белсенділік деңгейінің жоғарылау дәрежесі 2,21 ± 0,4 және 2,39±0,42 дейін болса, онда салыстырмалы бақылау тобында көрсеткіштер тек 1,62 ± 0,4 және 1,83 ± 0,41% аралығында ғана болды ($^{x}P < 0,05$; $^{xx}P < 0,01$; $^{x\ xx}P < 0,001$).

Қорытынды

Зерттеу нәтижелері негізінде дәрілік өсімдіктерден алынған сығындылардың St. aureus, St. pyogenes, E. colli патогендік қоздырғыштарына қарсы айқын бактерияға қарсы әсері бар екендігі анықталды, осы себепті олар ауылшаруашылық жануарлары төлдерінің тыныс алу мүшелері ауруларын емдеу және алдын алу үшін ветеринариялық фитопрепараттар өндірісінде қолданылуына негіз бола алуы мүмкін. 70%-ды спиртті

тұнбашалары айтарлықтай айқын микробқа қарсы қасиетке ие болса, ал 40%-ды спиртті тұнбашасы бактерияларға қарсы әлсіз белсенділікті танытты.

Алынған зерттеу деректерін талдау қозыларда иммундық жүйенің теңгерімсіздігімен бірге жүретін иммундық тапшылық жағдайы бар екенін көрсетеді. Зерттеу барысында қозылар ағзасының иммунологиялық көрсеткіштерін түзету мақсатында фитопрепараттарды қолданудан оң нәтижелер алынды, бұл иммунитетті қорғаудың иммунологиялық факторларының деңгейінің едәуір артуымен расталды.

Әдебиеттер:

1 Лочкарев В.А. Повышение эффективности лечения при бронхопневмонии у телят. *Ветеринария*, 2000, 11: 37-38. (https://www.dissercat.com/content/lechenie-telyat-bolnykh-nespetsificheskoi-bronkhopnevmoniei-s-primeneniem-immunostimuliruyus)

2 Якупова Г.М. *Эффективность различных методов лечения телят, больных неспецифической бронхопневмонией. Канд. дис.вет. наук*. Казань, 2010: 125. (https://www.dissercat.com/content/effektivnost-razlichnykh-metodov-lecheniya-telyat-bolnykh-nespetsificheskoi-bronkhopnevmonie)

3 Бирюков И.В. *Эффективность применения некоторых лекарственных растений при профилактике болезней органов дыхания у телят.* В Сб. статей XII-Межд. научно-практич. конф. «Аграрная наука сельскому хозяйству», Книга 3, Барнаул, 2017: 245-401. (http://repository.atu.kz/xmlui/bitstream/handle/123456789/1513/Proceedings%20GSI-5.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

4 Alimova T.. Turyspaeva Sh., Zamanbekov N., Siyabekov S., Korabaev E. Pathogenesis and pathological changes bronchopneumania of calves. *Research, results the Scientific journal of the KazNAU,* 2017, 4: 5-8. (doi: 10.1016/j.cvfa.2010.04.001)

5 *Болезни молодняка животных : учебное пособие для студентов вузов, обучающихся по специальности «Ветеринария»* под ред. Ф. П. Петрянкин, О. Ю. Петрова. – 2-е изд., перераб. и доп., Санкт-Петербург; Москва; Краснодар: Лань, 2014: 352. (https://e.lanbook.com/book/44761)

6 A. G. Shakhov [et al.] Corrective Effect of Gentabiferon-S on Weaned Piglet Immune Status and Its Effectiveness in Prevention of Intestinal Infections. *Russian Agricultural Sciences*. - 2019. - Vol. 45, 1: 89-93. (http://dx.doi.org/10.3103/S1068367419010130)

7 Способ лечения и профилактики желудочно-кишечных заболеваний новорожденных телят / под ред. М. Н. Мусаева, Н. Р. Будулова, З. Г. Мусаева, Х. М. Гайдарбековой, *Ветеринарный врач*.М., 2016, 4: 32-36. (https://cyberleninka.ru/article/n/sposob-lecheniya-i-profilaktika-zheludochno-kishechnyh-zabolevaniy-novorozhdennyh-telyat)

8 Багинов Б. О. *Клинический статус и некоторые гематологические показатели крови в норме и при бронхопневмонии овец бурятской аборигенной породы. Автореф. дис. канд. вет. наук.* Улан-Удэ, 2005: 23. (https://medical-diss.com/docreader/132357/a?#?page=3)

9 А.В. Григорьева, С.В. Новикова, В.Е. Абрамов, Е.В. Глухарева. Совершенствование этиотропной терапии острого бронхита телят., *Ветеринария*-М., 2015. 5: 17-20. (https://www.dongau.ru/nauka-i-innovatsii/nauchnye-konferentsii-dongau)

10 Andreeva A.V. Effect of probiotic preparations on the intestinal microbiome. *Journal of Engineering and Applied Sciences*. 2018. 13(S8): 6467-6472. (doi: 10.1177/1756283X12459294)

11 Корнеева О.С. Фитотерапия при болезнях животных. *Ветеринария*, 2008, 3: 47-63. (https://repo.vsavm.by/bitstream/123456789/5122/1/j-2018-1-40-43.pdf)

12 Rafikova E.R. Acute Oral Toxicity of Vetom 21.77 Based on Duddingtonia Flagrans in Broiler Chickens. *Macedonian Veterinary Review,* 2019, T.42., 1:87-93. (doi:10.2478/macvetrev-2018-0031)

13 Вишневец Ж.В., Прусакова А.А., Гончаренко В.В. Использование лекарственных растений в ветеринарии. *Мат. XIV-Межд. научно-практ. конф. «Аграрная наука – сельскому хозяйству».*- Книга 2, Барнаул, 2019: 269-271. (https://e.lanbook.com/journal/issue/306494)

14 Boranbayeva K. E. [and et all.]. Comparative Pharmacotherapeutic efficacy of Therapeutic Interventions in infectious Keratoconjunctivitis in cattle. *Research J. Pharm. and Tech*. 16(1): Januar 2023: 46-54 (Scopus). (doi: 10.52711/0974-360X.2023.00009)

15 Sh.B.Turzhigitova, Zamanbekov N.A., Kobdikova N.K., Korabaev E.M., Zhylgeldieva A.A. A New Environmentally Safe Phytopreparation the inscresing the Protective Function of Calves. *Jornal of Pharmaceutical Scienes and Resarch* Vol. 14(2), 2021: 887-894. (doi: 10.5958/0974-360X.2021.00158.X)

16 Sh. Turzhigitova, N.Zamanbekov, Y. Korabayev, Zh. Kaziyev, A.Tuganbay. Technology for Obtaining Dosage Forms (Tinctures, Extracts) from Local Plant Raw Materials and studying their Toxicity. *Jornal of Pharmaceutical Scienes and Resarch* Vol. 15(8), August 2022: 3540-3548. (doi: 10.52711/0974-360X.2022.00594)

17 K. E. Boranbayeva, N. A. Zamanbekov, R. S. Sattarova, G. N. Spiridonov, A. A. Zhylgeldiyeva Sh. B. Turzhigitova. Comparative Pharmacotherapeutic effectiveness of Therapeutic Ointments in infectious Keratoconjunctivitis in cattle. *Research J. Pharm. and Tech*. 16(1): January 2023: P.46-54. (doi: 10.52711/0974-360X.2023.00009)

18 Заманбеков Н.А., Турыспаева Ш.Ж., Оспанкулов А., Ахметова М.С., Омарова У.К. Влияние настоя из листьев подорожника на некторые показатели неспецифической резистентности организма телят. *Мат. XVI Межд научно-практ. конф. «Актуальные вопросы современной науки»*, Томск, 21.11.2018. Изд. «НИЦ Вестник Науки-Изд. Дендра». 146-152. (https://www.elibrary.ru/ip_restricted.asp?rpage=https%3A%2F%2Fwww%2Eelibrary%2Eru%2Fitem%2Easp%3Fid%3D36977568)

19 Бомбела Т. В. *Методологические основы фармакогностического изучения, стандартизации сырья полиморфных видов лекарственных растений на примере рода euphrasia. 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Докт. дисс.* Пермь, 2017. (https://www.dissercat.com/content/metodologicheskie-osnovy-farmakognosticheskogo-izucheniya-standartizatsii-syrya-polimorfnykh)

20 *Методические рекомендации по оценке и коррекции иммунного статуса животных* / А. Г. Шахов [и др.] Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины. Ч. III. Методы исследований по проблемам незаразной патологии у продуктивных животных. М. 2007: 115. (doi: 10.52711/0974-360X.2023.00009)

21 Емельяненко П.А., Грызлова О.М., Денисенко В.М. *Методические указания по тестированию естественной резистентности телят.* М., 2004: 64. (https://cyberleninka.ru/article/n/estestvennaya-rezistentnost-neteley-raznyh-porod)

IRSTI: 34.25.29

A.M. BAIMUKHAMETOVA[1]*, T.I. GLEBOVA[1], N.T. SAKTAGANOV[1], S.B. BAISEIIT[1], G.V. LUKMANOVA[1], M.G. SHAMENOVA[1], N.G. KLIVLEYEVA[1], G.G. KASYMOVA[2], G.K. XETAYEVA[3], E.N. VETROVA[4]
[1]Research and Production Center for Microbiology and Virology, Almaty, Kazakhstan
[2]Meyirim Medical Center, Taraz, Kazakhstan
[3]Children's City Clinical Infectious Diseases Hospital, Almaty, Kazakhstan
[4]National Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya, Moscow, Russia
* e-mail: biochem_vir@mail.ru

CIRCULATION OF INFLUENZA AND OTHER ACUTE RESPIRATORY VIRAL INFECTIONS IN ALMATY AND ALMATY REGION IN 2022-2023

doi:10.53729/MV-AS. 2024.01.13

Abstract

The article presents the results of a study of the circulation of influenza and acute respiratory viral infections in the epidemic season of 2022-2023 in the Almaty and Almaty region population. For this purpose, 600 nasopharyngeal swabs obtained from sick people with acute respiratory viral infections, acute respiratory infections, bronchitis and pneumonia diagnoses were studied by using real-time polymerase chain reaction.

The results obtained in the polymerase chain reaction indicate circulation among the population in the epidemic season of 2022-2023 influenza A viruses (23.00% of the total number of specimens) and B (0.83%) with a predominance of subtype A(H1N1)pdm09 (5.50%). In addition, the genetic material of ARVI pathogens: adenovirus (2.67%), respiratory syncytial virus (2.00%), rhinovirus (1.33%), metapneumovirus (0.67%), bocavirus (0.67%), parainfluenza virus type I/III (0.50%), and coronavirus (0.17%) was found.

Thus, the results obtained during the study of the epidemic situation for influenza and SARS confirm the circulation among the residents of Almaty and the Almaty region in the epidemic season of 2022-2023 of mixed etiology ARVI pathogens.

Keywords: virus, influenza, ARVI, PCR diagnostics.

Viruses are the most numerous and diverse biological objects on our planet [1-5]. Acute respiratory viral infections (ARVI), as the most common infectious diseases of our time, have been affecting people since of human history beginning and continue to be a serious health problem, causing significant damage to human health and extremely large economic damage [6-8]. Most ARVI are zoonotic or transmissible and combine clinically and morphologically similar respiratory diseases caused by pathogens belonging to the families Orthomyxoviridae, Paramyxoviridae, Picornaviridae, Coronaviridae, Adenoviridae and Herpesviridae [9, 10].

Due to their genetic characteristics, ARVI agents are a constant threat to human life. Recombination, chimerism, antigenic drift and shifts, as well as other molecular mechanisms, lead to new epidemics and pandemics, as recently happened with coronaviruses. Due to environmental changes, RNA viruses are more vulnerable to chromosome mutation mechanisms [11, 12]. Phenomena such as human-animal interaction [13], environmental change due to tropical deforestation [14], increasing urbanization of mankind, increased migration of population and growth of international tourism, as well as immigration and poverty contribute to the emergence and spread of viral diseases worldwide [15].

Influenza viruses infect many animal species and have been the cause of unpredictable and recurring pandemics over the centuries through continuous evolution [16]. Due to the segmented IV genome and the associated high ability to mutations, antigenically and genetically different viruses are constantly emerging. Because of the difficulty in predicting the time and place of

emergence of such new pathogens, it is important to investigate their emergence both in humans and in zoonotic reservoirs [17-20]. In this regard, the purpose of the study was to monitor the circulation of influenza and ARVI viruses among people in Almaty and the Almaty region during the 2022-2023 epidemic season.

Materials and methods of research

The collection of clinical specimens (nasopharyngeal swabs) from patients was carried out jointly with medical personnel in polyclinics and infectious diseases hospitals in Almaty and Almaty region in the 2022-2023 epidemic period.

Nasopharyngeal human swabs were collected in sterile tubes with 2 ml of medium 199 with 0.5% bovine serum albumin and an antibiotics complex (penicillin 10,000 U/ml, streptomycin 10 µg/ml, amphotericin B 25 mg/ml). The specimens were kept for a day at 4°C. For longer storage, they were placed in a low-temperature freezer at -80°C.

Ribo-Prep and Reverta-L kits were used to isolate RNA/DNA from the studied specimens and carry out the reverse transcription reaction. Screening was carried out in RT-PCR with hybridization-fluorescence detection using reagent kits for the detection of human influenza and ARVI pathogens "AmpliSense® Influenza virus A/B-FL", "AmpliSense® Influenza virus A-type-FL" and "AmpliSense® Influenza virus A/H1-swine-FL» «AmpliSens®ORVI-screen-FL» (InterLabService Ltd., Russia) on the device Rotor-Gene Q6plex (QIAGEN, Germany).

Microsoft Office Excel and Graph Pad Prism 9 software programs were used for 81 statistical data processing [21, 22]. Percentages were calculated for categorical variables such as levels of respiratory viruses. A two-sided test was used for all values, if the p-value was less than 0.05, it was judged as “significant”.

Results and discussion

To study the circulation of influenza and ARVI pathogens among the population in the 2022-2023 epidemic season, 600 nasopharyngeal swabs were collected from patients diagnosed with ARVI, acute respiratory infections, bronchitis and pneumonia. The largest number of specimens was obtained from sick people in Almaty city - 369 specimens (61.50% of the total number of specimens). In Almaty region (Talgar and Kaskelen), 231 (38.50%) were collected: 150 (25.00%) and 81 (13.50%) nasopharyngeal swabs, respectively.

Figure 1 shows the age structure of the examined patients as a percentage.

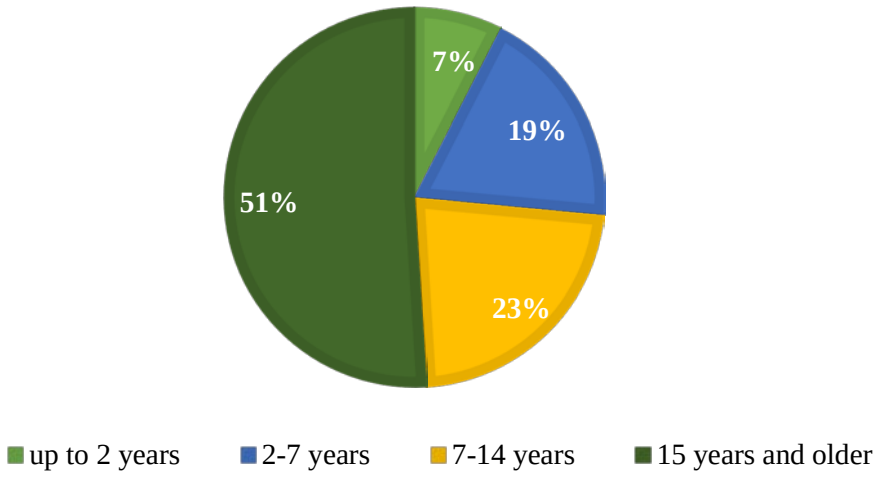


Figure 1 - Age structure of the examined patients in the epidemic season of 2022-2023, in %

As can be seen from Figure 1, 7.00% of specimens (45 specimens) were obtained from

children under two years old, 19.00% (114 specimens) from 2-7 years old, 23.00% (135 specimens) from 7-14 years old. The number of specimens collected from the adult persons was 51.00% (306 swabs) of the total number of specimens.

Figure 2 shows the ratio of clinical specimens according to the diagnosis of the examined patients.

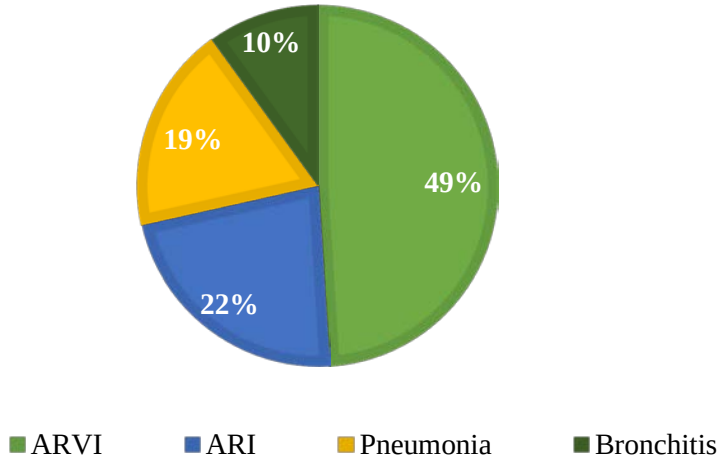


Figure 2 - Initial diagnosis of examined patients

The percentage of specimens collected according to the diagnosis was: ARVI - 49.00% (294 specimens), ARI - 22.00% (135 swabs), pneumonia - 19.00% (111 specimens) and bronchitis - 10.00% (60 specimens).

Tables 1 and 2 present the study results of 600 nasopharyngeal swabs in PT-PCR for the presence of genetic material of influenza viruses and ARVI pathogens.

Table 1 - RT-PCR screening of clinical specimens collected in 2022-2023 for the influenza virus presence

Region	Total tested specimens	Number of positive specimens	Number of PCR-positive specimens to				
			influenza A virus	virus subtypes:		influenza A virus with undetermined subtype	Influenza B virus
				A/H1N1 pdm	A/H3N2		
Almaty city	450	112	109	26	0	75	3
Kaskelen	81	21	20	5	0	14	1
Talgar	150	31	29	7	3	27	2
Total:	600	143	138	33	3	102	5
P-*value*	0,083	0,086	0,088	0,086	0,182	0,081	0,063

In a molecular genetic study of biological specimens, the genetic material of the influenza virus was found in 143 swabs (23.85% of the total number of examined specimens): influenza type A virus - in 138 ones (23.00%), influenza type B virus - in five (0.83%). Influenza virus A/H1N1/09pdm RNA was found in 33 swabs (5.50%), virus A/H3N2 - in three specimens (0.50%). In 102 specimens (17.00%) positive for type A influenza virus, the subtype could not be determined.

Table 2 - Screening of clinical specimens collected in 2022-2023 for the ARVI pathogens presence by RT-PCR

Region	Total tested specimens	Number of positive specimens	Number of PCR-positive specimens to							
			human respiratory syncytial virus hRSv	adenovirus hAdv	rhinovirus hRv	parainfluenza hPiv 2/4	parainfluenza hPiv 1/3	coronavirus hCov	human metapneumovirus hMpv	bocavirus hBov
Almaty city	450	33	9	10	7	1	1	1	3	2
Almaty region	150	14	3	6	1	1	0	0	1	2
Total:	600	47	12	16	8	2	1	1	4	4
P-value	*0,094*	0.082	0.094	0.067	0.135	0.057	0,184	0,184	0,094	0.057

As can be seen from Table 2, the genetic material of ARVI pathogens was found in 47 specimens (7.83% of the total number of specimens examined). respiratory syncytial virus was detected in 12 specimens (2.00%), rhinovirus - in 8 (1.33%), metapneumovirus - in 4 (0.67%), bocavirus - in 4 specimens (0.67%), virus parainfluenza I/III types - in 3 (0.50%) and coronavirus - in one specimen (0.17%). The largest number of positive specimens was found for adenovirus (16 specimens - 2.67%).

Thus, the results of nasopharyngeal specimens primary screening in RT-PCR showed that among the population in the epidemic season of 2022-2023 circulated influenza A and B viruses with a predominance of subtype A(H1N1)pdm09. The circulation of ARVI pathogens mixed etiology with a slight adenovirus infection predominance was also established.

The incidence of ARVI and influenza continues to be at a high level, increasing annually in the autumn-winter period. In recent epidemiological seasons, there has been a simultaneous circulation of influenza of A(H1N1) and A(H3N2) viruses, with the dominance of a pandemic strain, as well as influenza B viruses. Among the causative agents of ARVI, respiratory syncytial virus, rhino-, parainfluenza I/III and adenoviruses. The threat is the constant variability of influenza viruses and the emergence of new ARVI pathogens, which account for 80–90% of all cases of infectious pathology.

In our research, we analyzed 600 clinical specimens collected from patients in medical institutions in Almaty and Almaty region in 2022-2023 in order to determine the etiology of viral respiratory tract diseases. The number of clinical specimens received from sick children and adults was approximately the same. Whereas, according to WHO data [23] and the Epidemiological situation report on the incidence of ARVI and influenza in the Republic of Kazakhstan [24], a greater number of specimens (about 60%) were in children under 14 years of age. Such differences can be explained by the difficulties in obtaining biological specimens from children's medical institutions.

According to official data in the 2022-2023 epidemic season in Kazakhstan, parallel circulation of influenza A/H1N1pdm, A/H3N2 and B viruses was observed; at the beginning of the epidemic season, ARVI infection cases were associated with influenza type B. By the end of November, the influenza A/H1N1pdm virus began to become involved in the epidemic process, which by the end of the epidemic season prevailed over other influenza viruses [24, 25].

The results obtained regarding the circulation of influenza A viruses in Almaty city and the Almaty region correlate with WHO data for Kazakhstan. The indicators for influenza B virus are lower than the official ones [23, 24, 25]. Perhaps this is due to the limited our specimens number or the time and place of material collection.

Also, when comparing our results on the circulation of ARVI pathogens of non-influenza etiology with the indicators for Kazakhstan as a whole [24, 25], no significant differences were revealed.

Cases of combined influenza+COVID-19 and ARVI+COVID-19 infections have also been recorded in the republic in 2022-2023 [24].

Knowledge of the viral etiology of respiratory diseases facilitates the development of recommendations and the implementation of appropriate treatment strategies. Therefore, in the future, we plan to continue monitoring the influenza viruses and other ARVI pathogens circulation in Kazakhstan, to investigate their role in the epidemic process of co-infection with various ARVI pathogens. This approach will contribute to gaining new knowledge about these and other pathogens epidemiology and the development of new approaches in the fight against these infections.

Conclusions

The results of nasopharyngeal swabs primary screening in RT-PCR showed that among the population in the epidemic season of 2022-2023 influenza A and B viruses circulated with A(H1N1)pdm09 subtype predominance.

The ARVI circulation of mixed etiology with a adenovirus infection slight predominance was established.

Monitoring the circulation of influenza viruses and other ARVI pathogens in Kazakhstan provides new knowledge about the epidemiology of these pathogens and can contribute to the development of new approaches in the fight against the infections.

Funding

The work was carried out within the framework of the grant funding project AP19677931 «Detecting the transmission of Influenza viruses in the human-animal interface in Kazakhstan».

References:

1 Bai G. H., Lin S. C., Hsu Y. H., Chen S. Y. The Human Virome: Viral Metagenomics, Relations with Human Diseases, and Therapeutic Applications. *Viruses*, 2022, 14(2): 278. (doi: 10.3390/v14020278)

2 Klivleyeva N.G., Ongarbayeva N.S., Baimukhametova A.M., Saktaganov N.T., Lukmanova G.V., Glebova T.I., Sayatov M.K., Berezin V.E., Nusupbaeva G.E., Aikimbayev A.M. Detection of influenza virus and pathogens of acute respiratory viral infections in population of Kazakhstan during 2018-2019 epidemic season. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2021, 11(1): 137-147. (In Russ.) (doi: 10.15789/2220-7619-DOI-1348)

3 Liu B., Shao N., Wang J., Zhou S., Su H., Dong J., Sun L., Li L., Zhang T., Yang F. An Optimized Metagenomic Approach for Virome Detection of Clinical Pharyngeal Samples With Respiratory Infection. *Frontiers in microbiology*, 2020, 11(1552). (doi: 10.3389/fmicb.2020.01552)

4 Porto B. N. Insights Into the Role of the Lung Virome During Respiratory Viral Infections. *Frontiers in immunology*, 2022, 13(885341). (doi:10.3389/fimmu.2022.885341)

5 Liang G., Bushman F. D. The human virome: assembly, composition and host interactions. *Nature reviews. Microbiology*, 2021, 19(8): 514–527. (doi: 10.1038/s41579-021-00536-5)

6 Klivleyeva N.G., Lukmanova G.V., Saktaganov N.T., Sayatov M.Kh., Glebova T.I., Ongarbayeva N.S., Baimukhametova A.M., Shamenova M.G., Berezin V.E., Nusupbaeva G.E., Aykimbaev A.M., Sagymbay A.B., Isaeva E.I. Acute respiratory viral infections in Kazakhstan in 2017-2019. *Bulletin of national academy of sciences of the republic of Kazakhstan*, 2020, 3(385): 29–35. (doi: 10.32014/2020.2518-1467.66)

7 Baiseiit S.B., Baimukhametova A.M., Lukmanova G.V., Saktaganov N.T., Ismagulova D.A., Glebova T.I., Klivleyeva N.G., Isaeva E.I. Virusy` grippa A i V, czirkuliruyushhie na territorii Yuzhnogo Kazakhstana v e`pidemicheskij period 2020-2021 gg.. *Mikrobiologiya zhəne virusologiya*, 2021, 1-2(32-33): 20-27. (doi: 10.53729/MV-AS.2021.01-02.02)

8 Vsemirnaya organizacziya zdravookhranenie [E`lektronny`j resurs]. Rezhim dostupa: (www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal). Accessed: 03.03.2022.

9 Celik I, Saatci E, Eyuboğlu AF, Emerging and reemerging respiratory viral infections up to Covid-19. *Turk J Med Sci*, 2020, 50: 557–562. (doi: 10. 3906/ sag- 2004- 126)

10 Vikulov G.Kh. Novy`e i vozvrashhayushhiesya respiratorny`e virusny`e infekczii: algoritmy` diagnostiki, sposoby` terapii i profilaktiki. *Mediczina (Almaty)*, 2019, 7-8 (205-206); 53-64. Available: https://www.rusmedreview.com/upload/iblock/12a/MO_08-1_KlinRec_05-11.pdf. Accessed 22.05.23

11 Jaijyan DK, Liu J, Hai R, Zhu H. Emerging and reemerging human viral diseases. *Annals of Microbiology and Research, 2018*, 2 (1): 31-44. (doi: 10.36959/958/567)

12 Moesker FM, L.A. Fraaij P. New, emerging, and re-emerging respiratory viruses. In: Sunit K. Singh (editor). *Viral Infection and Global Change. 1st ed. Hoboken, NJ, USA: John Wiley and Sons;* 2014: 344-375. (doi: /10.1002/9781118297469.ch19).

13 Taubenberger JK, Morens DM. Influenza: the once and future pandemic. Public Health Reports 2010, 125 (3): 16-26. Accessed 22.05.23

14 Howard CR, Fletcher NF. Emerging virus diseases: can we ever expect the unexpected? Emerg *Microbes Infect*., 2012, 1(12):e46. (doi: 10.1038/emi.2012.47)

15 McCloskey B, Dar O, Zumla A, Heymann DL. Emerging infectious diseases and pandemic potential: status quo and reducing risk of global spread. *Lancet Infect Dis.*, 2014, 14(10): 1001-10. (doi: 10.1016/S1473-3099(14)70846-1)

16 Kuatbaeva A.M., Esmagambetova A.S., Ahmetova Z.D., Smagul M.A., Utegenova Je.S., Stoljarov K.A., Kasabekova L.K., Nusupbaeva G.E., Smagulova M.K., Amrin M.K. Jepidemiologicheskaja harakteristika ORVI i grippa na territorii Kazahstana v jepidemicheskie sezony s 2018 po 2022 god. Infekcionnye bolezni. 2023; 21(1): 80–94. (doi: 10.20953/1729-9225-2023-1-80-94)

17 Choi YK. Emerging and re-emerging fatal viral diseases. Exp Mol Med., 2021, 53(5): 711-712. (doi:10.1038/s12276-021-00608-9)

18 Petrova V.N., Russell C.A. The evolution of seasonal influenza viruses. *Nat. Rev. Microbiol.*, 2018,16: 47–60.

19 Kiselev O.I., Maly`j V.P., Zarubabaev V.V., Kovalenko A.L., Cologub T.V., Romanczov M.G., Volobueva O.V., Golobova O.V., Lyadova T.I., Ty`mkovich M.A. Gripp A/H1N1 kak tipichnaya e`merdzhetnaya infekcziya. Available: (https://medi.ru/info/426/. 25.08.2017). Accessed 22.05.23

20 Hay AJ, Gregory V, Douglas AR, Lin YP. The evolution of human influenza viruses. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2001 Dec 29;356(1416):1861-70. (doi: 10.1098/rstb.2001.0999)

21 Glantz S. Biomedical statistics. McGraw-Hill; 1994. (Translated to Russian. Moscow: Practice; 1998) Available: (http://medstatistic.ru/articles/glantz.pdf). Accessed 22.05.23

22 Statistical analysis in MS Excel. Available: (https://statanaliz.info/). Accessed 18.09.2021.

23 World Halth Organization Influenza surveillance report/ Available: (https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjoiYWU4YjUyN2YtMDBkOC00MGI1LTlhN2UtZGE5NThjY2E1ZThhIiwidCI6ImY2MTBjMGI3LWJkMjQtNGIzOS04MTBiLTNkYzI4MGFmYjU5MCIsImMiOjh9). Accessed 22.05.23

24 Ezhenedel`ny`j e`lektronny`j byulleten`. E`pidemiologicheskaya situacziya po zabolevaemosti ORVI i grippom v Respublike Kazakhstan. Available: (https://rk-ncph.kz/resources/situation/weekly). Accessed 22.05.23

25 Bejsenbinova Zh.B., Kasabekova L.K., Ajtmanbetova A.A., Zhakupova M.N., Kozhekenova Zh.A., Shahieva A.M. Cirkuljacija vozbuditelej ORVI i virusov grippa za jepidemiologicheskij sezon 2018-2019 gg. v Respublike Kazahstan. 2020. Available: (http://surl.li/qsvxe). Accessed: 22.05.23

А.М. БАЙМУХАМЕТОВА[1]*, Т.И. ГЛЕБОВА[1], Н.Т. САКТАГАНОВ[1], С.Б. БАЙСЕЙІТ[1], Г.В. ЛУКМАНОВА[1], М.Г. ШАМЕНОВА[1], Н.Г. КЛИВЛЕЕВА[1], Г.Г. КАСЫМОВА[2], Г.К. КСЕТАЕВА[3], Е.Н. ВЕТРОВА[4]

[1] Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы, Алматы, Қазақстан

[2] «Мейірім» медициналық орталығы, Тараз, Қазақстан

[3]Балалар жұқпалы аурулар қалалық ауруханасы, Алматы, Қазақстан

[4]Академик Н.Ф. Гамалея атындағы эпидемиология және микробиология ұлттық ғылыми-зерттеу орталығы, Мәскеу, Ресей

*e-mail: biochem_vir@mail.ru

АЛМАТЫ ҚАЛАСЫ ЖӘНЕ АЛМАТЫ ОБЛЫСЫ БОЙЫНША 2022-2023 ЖЫЛДАР АРАЛЫҒЫНДА ТҰМАУ ЖӘНЕ ЖІТІ РЕСПИРАТОРЛЫ ВИРУСТАР АЙНАЛЫМЫ

Түйін

Мақалада Алматы қаласы және Алматы облысының тұрғындары арасындағы 2022-2023 жж. эпидемиялық маусымында тұмау және жіті респираторлық вирустық инфекциялардың айналымын зерттеу нәтижелері келтірілген. Мақстақа байланысты жедел респираторлық вирустық инфекция, жіті респираторлық инфекция, бронхит және пневмония диагнозы бар науқас адамдардан алынған 600 мұрын-жұтқыншақ жағындылары полимеразды тізбекті реакция арқылы зерттелді.

Полимеразды тізбекті реакциядан алынған нәтижелер 2022-2023 жылдардағы эпидемиялық маусымда А типті тұмау вирустарының (жалпы сынамалардың 23,00%), соның ішінде A (H1N1) pdm09(5,50%) субтипі басым және В (0,83%) тип тұмау вирусын көрсетеді. Сонымен қатар, ЖРВИ қоздырғыштарының генетикалық материалдары соның ішінде: аденовирус (2,67%), респираторлық синцитиальды вирус (2,00%), риновирус (1,33%), метапневмовирус (0,67%), бокавирус (0,67%)), I/III типті парагрипп вирусы (0,50%) және коронавирус (0,17%) анықталды.

Осылайша, тұмау және ЖРВИ бойынша эпидемиялық жағдайды зерттеу барысында алынған нәтижелер 2022-2023 жылдар аралығының эпидемиялық маусымында Алматы қаласы мен Алматы облысының тұрғындарында ЖРВИ аралас этиологиялық қоздырғыштарының айналымын растайды.

Кілтті сөздер: вирус, тұмау, ЖРВИ, ПТР-диагностика.

МРНТИ: 34.25.29

А.М. БАЙМУХАМЕТОВА[1*], Т.И. ГЛЕБОВА[1], Н.Т. САКТАГАНОВ[1], С.Б. БАЙСЕЙІТ[1], Г.В. ЛУКМАНОВА[1], М.Г. ШАМЕНОВА[1], Н.Г. КЛИВЛЕЕВА[1], Г.Г. КАСЫМОВА[2], Г.К. КСЕТАЕВА[3], Е.Н. ВЕТРОВА[4]

[1]Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии, Алматы, Казахстан

[2]Медицинский Центр «Мейірім», Тараз, Казахстан

[3]Детская городская клиническая инфекционная больница, Алматы, Казахстан

[4]Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф.Гамалеи, Москва, Россия

* e-mail: biochem_vir@mail.ru

ЦИРКУЛЯЦИЯ ГРИППА И ДРУГИХ ОСТРЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ВИРУСНЫХ ИНФЕКЦИЙ В ГОРОДЕ АЛМАТЫ И АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ В 2022- 2023 ГОДЫ

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.13

Аннотация

В статье представлены результаты изучения циркуляции гриппа и острых респираторных вирусных инфекций в эпидемический сезон 2022-2023 гг. среди населения г. Алматы и

Алматинской области. С этой целью методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени было исследовано 600 носоглоточных смывов, полученных от больных людей с диагнозами ОРВИ, ОРЗ, бронхит и пневмония.

Результаты, полученные в полимеразной цепной реакции, указывают на циркуляцию среди населения в эпидемический сезон 2022-2023 гг. вирусов гриппа типа А (23,00% от общего количества проб) и В (0,83%) с преобладанием субтипа A(H1N1)pdm09 (5,50%). Кроме того, обнаружен генетический материал возбудителей ОРВИ: аденовируса (2,67%), респираторно-синцитиального вируса (2,00%), риновируса (1,33%), метапневмовируса (0,67%), бокавируса (0,67%), вируса парагриппа I и III типов (0,50%) и коронавируса (0,17%).

Таким образом, полученные в ходе изучения эпидемической ситуации по гриппу и ОРВИ результаты подтверждают циркуляцию среди жителей г. Алматы и Алматинской области в эпидемический сезон 2022-2023 гг. возбудителей ОРВИ смешанной этиологии.

Ключевые слова: вирус, грипп, ОРВИ, ПЦР-диагностика.

Вирусы являются самыми многочисленными и разнообразными биологическими объектами на нашей планете [1-5]. Острые респираторные вирусные инфекции (ОРВИ), как наиболее распространенные инфекционные заболевания современности, поражают людей с начала истории человечества и продолжают оставаться серьезной проблемой здравоохранения, нанося значительный урон здоровью человека и чрезвычайно большой экономический ущерб [6-8]. Большинство ОРВИ являются зоонозными и объединяют клинически и морфологически подобные заболевания органов дыхания, вызываемые возбудителями, принадлежащими к семействам *Orthomyxoviridae, Paramyxoviridae, Picornaviridae, Coronaviridae, Adenoviridae и Herpesviridae* [9, 10].

В силу своих генетических особенностей возбудители ОРВИ представляют постоянную угрозу жизни человека. Рекомбинация, химеризм, антигенный дрейф и шифт, так же, как и другие молекулярные механизмы приводят к возникновению новых эпидемий и пандемий, как недавно случилось с коронавирусами. В связи с изменениями окружающей среды РНК-вирусы более уязвимы к механизмам хромосомных мутаций [11, 12]. Такие явления как взаимодействие между человеком и животными [13], изменение экологии в связи с вырубкой тропических лесов [14], растущая урбанизация, усиленная миграция населения и рост международного туризма, а также иммиграция и бедность содействуют появлению и распространению вирусных заболеваний во всем мире [15].

Вирусы гриппа инфицируют многие виды животных и являются причиной непредсказуемых и повторяющихся пандемий зоонозной этиологии на протяжении веков [16]. Благодаря сегментированному геному вируса гриппа и связанной с этим высокой способности к мутациям, постоянно образуются антигенно и генетически различные штаммы. Из-за трудности предсказания времени и места появления таких новых патогенов важно исследовать их появление как у людей, так и в зоонозных резервуарах [17-20]. В связи с этим цель исследования заключалась в мониторинге циркуляции вирусов гриппа и ОРВИ среди людей в г. Алматы и Алматинской области в эпидемический сезон 2022-2023 гг.

Материалы и методы исследования

Сбор клинических образцов (носоглоточные смывы) от больных осуществляли совместно с медицинским персоналом в поликлиниках и инфекционных больницах г. Алматы и Алматинской области в эпидемический период 2022-2023 гг.

Носоглоточные смывы от людей собирали в стерильные пробирки с 2 мл среды 199 с 0,5% бычьим сывороточным альбумином и комплексом антибиотиков (пенициллин – 10 000 ед/мл, стрептомицин 10 мкг/мл, амфотерицина Б 25 мг/мл). Пробы выдерживали в течение суток при 4°С. Для более длительного хранения помещали в низкотемпературный морозильник при -80ºС.

Для выделения РНК/ДНК из исследуемых образцов и проведения реакции обратной транскрипции использовали наборы «Рибо-Преп» и «Реверта-L» (ООО

«ИнтерЛабСервис», Россия). Скрининг проводили в полимеразной цепной реакции (ОТ-ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией с наборами реагентов того же производителя для выявления возбудителей гриппа и ОРВИ человека: «АмплиСенс® Influenza virus A/B-FL», «АмплиСенс® Influenza virus A-тип-FL» и «АмплиСенс® Influenza virus A/H1-swine-FL» «АмплиСенс®ОРВИ-скрин–FL» – на приборе Rotor-Gene Q6plex (QIAGEN, Германия).

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли в программах Microsoft Office Excel и Graph Pad Prism 9 [21, 22]. Проценты рассчитывались для таких категориальных переменных, как уровни респираторных вирусов. Для всех значений использовался двусторонний тест, значение P-value менее 0,05 считалось статистически значимым.

Результаты и обсуждение

Для изучения циркуляции гриппа и ОРВИ среди населения в эпидемический сезон 2022-2023гг. от больных с диагнозами: ОРВИ, ОРЗ, бронхит и пневмония – собрано 600 носоглоточных смывов. Наибольшее количество образцов получено от больных людей из города Алматы – 369 проб (61,50% от общего числа образцов). В Алматинской области (Талгар и Каскелен) собрано 231 (38,50%): 150 (25,00%) и 81 (13,50%) носоглоточных смывов, соответственно.

На рисунке 1 показана возрастная структура обследованных больных в процентном соотношении.

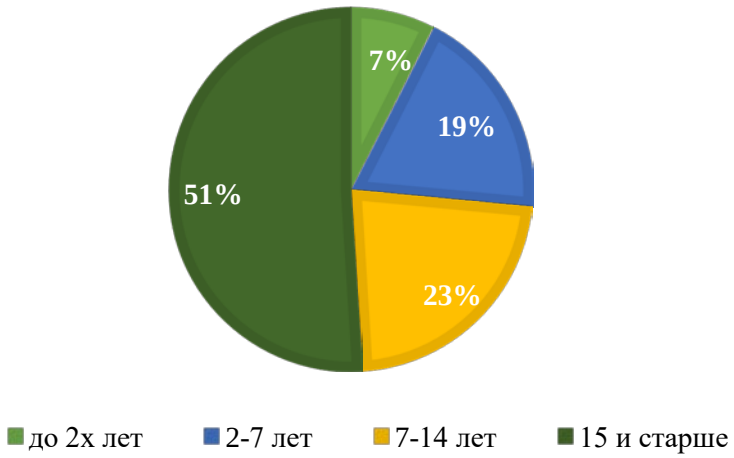


Рисунок 1 – Возрастная структура обследованных больных в эпидемические сезоны 2022-2023 гг., в %

Как видно из рисунка 1, от детей до двух лет получено 7,00% образцов (45 проб), 2-7 лет – 19,00% (114 образцов), 7-14 лет – 23,00% (135 проб). Количество образцов, собранных от взрослого населения, составило 51,00% (306 смывов) от общего числа проб.

На рисунке 2 показано соотношение клинических образцов в зависимости от диагноза обследованных больных.

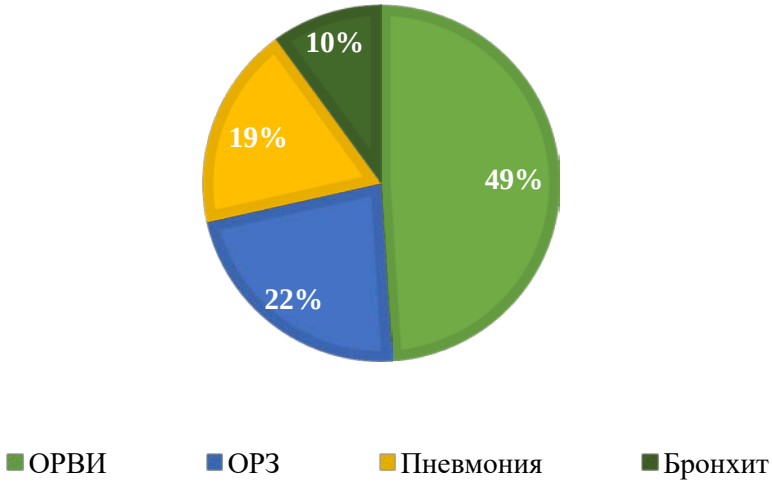


Рисунок 2 - Первичный диагноз обследованных больных

Процентное соотношение собранных образцов в зависимости от диагноза составило: ОРВИ – 49,00% (294 пробы), ОРЗ – 22,00% (135 смывов), пневмония – 19,00% (111 проб) и бронхит – 10,00% (60 образцов).

В таблицах 1 и 2 представлены результаты исследования 600 носоглоточных смывов в ОТ-ПЦР на наличие генетического материала вирусов гриппа и ОРВИ.

Таблица 1 - Скрининг в ОТ-ПЦР клинических образцов, собранных в 2022-2023 гг., на наличие вируса гриппа

Регион	Всего проб	Количество положитель-ных проб	Количество ПЦР-положительных проб к				
			вирусу гриппа рода А	вирусам подтипов:		вирусу гриппа А с неопределенным субтипом	вирусу гриппа рода В
				A/H1N1 pdm	A/H3N2		
г. Алматы	369	91	89	21	0	61	2
г. Каскелен	81	21	20	5	0	14	1
г. Талгар	150	31	29	7	3	27	2
Всего:	**600**	**143**	**138**	**33**	**3**	**102**	**5**
P-*value*	0,083	0,086	0,088	0,086	0,182	0,081	0,063

При молекулярно-генетическом исследовании биологических образцов генетический материал вируса гриппа обнаружен в 143 смывах (23,85% от общего числа исследованных проб): вируса гриппа типа А – в 138 пробах (23,00%), вируса гриппа типа В – в пяти (0,83%). РНК вируса гриппа A/H1N1/09pdm обнаружена в 33 смывах (5,50%), вируса A/H3N2 – в трех образцах (0,50%). В 102 пробах (17,00%), положительных на вирус гриппа типа А, субтип установить не удалось.

Таблица 2 - Скрининг в ОТ-ПЦР клинических образцов, собранных в 2022-2023 гг., на наличие возбудителей ОРВИ

Регион	Всего проб	Количество положительных проб	Количество ПЦР-положительных проб к вирусам*							
			hRSv	hAdv	hRv	hPiv 2/4	hCov	hPiv 1/3	hMpv	hBov
г. Алматы	450	33	9	10	7	1	1	1	3	2
Алматинская область	150	14	3	6	1	1	0	0	1	2
Всего:	600	47	12	16	8	2	1	1	4	4
P-value	0,094	0.082	0.094	0.067	0.135	0.057	0,184	0,184	0,094	0.057

Примечание*: hRSv – респираторно-синцитиальный вирус человека;
hAdv – аденовирус;
hRv – риновирус;
hPiv 2/4 – парагрипп II и IV типа;
hCov – коронавирус;
hPiv 1/3 – парагрипп I и III типа;
hMpv – метапневмовирус человека;
hBov – бокавирус

Как видно из таблицы 2, генетический материал возбудителей ОРВИ обнаружен в 47 образцах (7,83% от общего числа исследованных проб). Респираторно-синцитиальный вирус выявлен в 12 пробах (2,00%), риновирус – в восьми (1,33%), метапневмовирус – в четырех (0,67%), бокавирус – в четырех образцах (0,67%), вирус парагриппа I и III типов – в трёх (0,50%) и коронавирус – в одном образце (0,17%). Наибольшее количество положительных образцов выявлено к аденовирусу (16 проб – 2,67%).

Таким образом, результаты первичного скрининга носоглоточных смывов в ОТ-ПЦР показали, что среди населения в эпидемический сезон 2022-2023 гг. циркулируют вирусы гриппа типа А и В с преобладанием субтипа A(H1N1)pdm09. Также установлена циркуляция других ОРВИ смешанной этиологии с незначительным преобладанием аденовирусной инфекции.

Заболеваемость ОРВИ и гриппом продолжает оставаться на высоком уровне, ежегодно возрастая в осенне-зимний период. В последние эпидсезоны наблюдается одновременная циркуляция вирусов гриппа подтипов A(H1N1) и A(H3N2) с доминированием пандемического штамма, а также вирусов гриппа типа В. Среди возбудителей ОРВИ чаще всего продолжают регистрироваться респираторно-синцитиальный вирус, рино-, парагрипп I/III и аденовирусы. Угрозу представляют постоянная изменчивость вирусов гриппа и появление новых возбудителей ОРВИ, на долю которых приходится 80–90% всех случаев инфекционной патологии.

В наших исследованиях проведен анализ 600 клинических образцов, собранных от больных в медицинских учреждениях г. Алматы и Алматинской области в 2022-2023гг., с целью определения этиологии вирусных заболеваний респираторного тракта. Количество клинических образцов, полученное нами от больных детей и взрослых, было примерно одинаковым. Тогда как по данным ВОЗ [23] и отчета по эпидемиологической ситуации по заболеваемости ОРВИ и гриппом в Республике Казахстан [24], большее число проб (около 60%) приходилось на детей до 14 лет.

По официальным данным в эпидемическом сезоне 2022-2023 гг. в Казахстане наблюдалась параллельная циркуляция вирусов гриппа A/H1N1pdm, A/H3N2 и B, в начале эпидсезона случаи инфицирования ОРВИ связаны с вирусом гриппа типа В, к концу ноября в эпидемический процесс начал вовлекаться вирус гриппа A/H1N1pdm, который к концу эпидсезона преобладал над другими вирусами гриппа [24, 25].

Полученные результаты относительно циркуляции вирусов гриппа А в г. Алматы и Алматинсской области коррелируют с данными ВОЗ по Казахстану. Показатели по вирусу гриппа типа В ниже официальных [23, 24, 25]. Возможно**,** это связано с ограниченным количеством нашей выборки или временем и местом сбора материала.

Также при сравнении полученных нами результатов по циркуляции возбудителей ОРВИ негриппозной этиологии с показателями по Казахстану в целом [24, 25] не выявлено существеных различий.

В Республике в 2022-2023гг. также зафиксированы случаи сочетанной инфекции гриппа+COVID-19 и ОРВИ+COVID-19 [24].

Знание вирусной этиологии респираторных заболеваний способствует разработке рекомендаций и реализации соответствующих стратегий лечения. Поэтому в дальнейшем важно продолжить мониторинг циркуляции вирусов гриппа и других возбудителей ОРВИ в Казахстане, исследовать их роль в эпидемическом процессе коинфекции различными возбудителями ОРВИ. Данный подход будет способствовать получению новых знаний об эпидемиологии этих и других патогенов и разработке новых походов в борьбе с данными инфекциями.

Заключение

Результаты первичного скрининга носоглоточных смывов в ОТ-ПЦР показали, что среди населения в эпидемический сезон 2022-2023 гг. циркулируют вирусы гриппа типа А и В с преобладанием субтипа A(H1N1)pdm09.

Установлена циркуляция острых респираторных вирусных инфекций смешанной этиологии с небольшим преобладанием аденовирусной инфекции.

Мониторинг циркуляции вирусов гриппа и других возбудителей ОРВИ в Казахстане позволяет получить новые знания об эпидемиологии этих патогенов и может способствовать разработке новых походов в борьбе с данными инфекциями.

Финансирование

Работа выполнена в рамках проекта грантового финансирования AP19677931 «Выявление трансмиссии вирусов гриппа в интерфейсе человек-животные в Казахстане».

Литература:

1 Bai G.H., Lin S.C., Hsu Y.H., Chen S.Y. The Human Virome: Viral Metagenomics, Relations with Human Diseases, and Therapeutic Applications. *Viruses,* 2022, 14(2): 278. (doi: 10.3390/v14020278)

2 Klivleyeva N.G., Ongarbayeva N.S., Baimukhametova A.M., Saktaganov N.T., Lukmanova G.V., Glebova T.I., Sayatov M.K., Berezin V.E., Nusupbaeva G.E., Aikimbayev A.M. Detection of influenza virus and pathogens of acute respiratory viral infections in population of Kazakhstan during 2018-2019 epidemic season. *Russian Journal of Infection and Immunity,* 2021, 11(1):137-147. (In Russ.) (doi: 10.15789/2220-7619-DOI-1348)

3 Liu B., Shao N., Wang J., Zhou S., Su H., Dong J., Sun L., Li L., Zhang T., Yang F. An Optimized Metagenomic Approach for Virome Detection of Clinical Pharyngeal Samples With Respiratory Infection. *Frontiers in microbiology,* 2020, 11(1552). (doi: 10.3389/fmicb.2020.01552)

4 Porto B. N. Insights Into the Role of the Lung Virome During Respiratory Viral Infections. *Frontiers in immunology,* 2022, 13 (885341). (doi:10.3389/fimmu.2022.885341)

5 Liang G., Bushman F. D. The human virome: assembly, composition and host interactions. *Nature reviews. Microbiology,* 2021, 19(8): 514–527. (doi: 10.1038/s41579-021-00536-5)

6 Klivleyeva N.G., Lukmanova G.V., Saktaganov N.T., Sayatov M.Kh., Glebova T.I., Ongarbayeva N.S., Baimukhametova A.M., Shamenova M.G., Berezin V.E., Nusupbaeva G.E., Aykimbaev A.M., Sagymbay A.B., Isaeva E.I. Acute respiratory viral infections in Kazakhstan in 2017-2019. *Bulletin of national academy of sciences of the republic of Kazakhstan,* 2020, 3(385): 29–35. (doi: 10.32014/2020.2518-1467.66)

7 Байсейіт С.Б., Баймухаметова А.М., Лукманова Г.В., Сактаганов Н.Т., Исмагулова Д.А., Глебова Т.И., Кливлеева Н.Г., Исаева Е.И. Вирусы гриппа А и В, циркулирующие на территории

Южного Казахстана в эпидемический период 2020-2021 гг. *Микробиология және вирусология,* 2021, 1-2(32-33): 20-27. (doi: 10.53729/MV-AS.2021.01-02.02)

8 Всемирная организация здравоохранение [Электронный ресурс]. Доступен: (https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(seasonal). Дата обращения: 03.03.2022.

9 Celik I, Saatci E, Eyuboğlu AF. Emerging and reemerging respiratory viral infections up to Covid-19. *Turk J Med Sci*, 2020, *50: 557–562*. (doi: 10.3906/sag- 2004- 126)

10 Викулов Г.Х. Новые и возвращающиеся респираторные вирусные инфекции: алгоритмы диагностики, способы терапии и профилактики. *Медицина (Алматы),* 2019, 7-8 (205-206): 53-64. Доступен: (https://www.rusmedreview.com/upload/iblock/12a/MO_08-1_KlinRec_05-11.pdf.) Дата обращения 22.05.23

11 Jaijyan DK, Liu J, Hai R, Zhu H. Emerging and reemerging human viral diseases. *Annals of Microbiology and Research*, 2018, 2 (1): 31-44. (doi: 10.36959/958/567)

12 Moesker FM, L.A. Fraaij P. New emerging and re-emerging respiratory viruses. In: Sunit K. Singh (editor). *Viral Infection and Global Change*. 1st ed. Hoboken, NJ, USA: John Wiley and Sons, 2014: 344-375. (doi: /10.1002/9781118297469.ch19).

13 Taubenberger JK, Morens DM. Influenza: the once and future pandemic. *Public Health Reports*, 2010, 125 (3): 16-26. Доступен: (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2862331/pdf/phr125s30016.pdf.) Дата обращения 22.05.23

14 Howard CR, Fletcher NF. Emerging virus diseases: can we ever expect the unexpected? *Emerg Microbes Infect.*, 2012, 1(12):e46. (doi: 10.1038/emi.2012.47.)

15 McCloskey B, Dar O, Zumla A, Heymann DL. Emerging infectious diseases and pandemic potential: status quo and reducing risk of global spread. *Lancet Infect Dis.*, 2014, 14(10): 1001-10. (doi: 10.1016/S1473-3099(14)70846-1)

16 Куатбаева А.М., Есмагамбетова А.С., Ахметова З.Д., Смагул М.А., Утегенова Э.С., Столяров К.А., Касабекова Л.К., Нусупбаева Г.Е., Смагулова М.К., Амрин М.К. Эпидемиологическая характеристика ОРВИ и гриппа на территории Казахстана в эпидемические сезоны с 2018 по 2022 год. Инфекционные болезни. 2023, 21(1): 80–94. (doi: 10.20953/1729-9225-2023-1-80-94).

17 Choi YK. Emerging and re-emerging fatal viral diseases. *Exp Mol Med.*, 2021, 53(5): 711-712. (doi: 10.1038/s12276-021-00608-9)

18 Petrova V.N., Russell C.A. The evolution of seasonal influenza viruses. *Nat. Rev. Microbiol*., 2018,16: 47–60.

19 Киселев О.И., Малый В.П., Зарубабаев В.В., Коваленко А.Л., Сологуб Т.В., Романцов М.Г., Волобуева О.В., Голобова О.В., Лядова Т.И., Тымкович М.А. Грипп A/H1N1 как типичная эмерджетная инфекция. Доступен: (https://medi.ru/info/426/). Дата обращения: 25.08.2017.

20 Hay AJ, Gregory V, Douglas AR, Lin YP. The evolution of human influenza viruses. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 2001 Dec 29;356(1416):1861-70. (doi: 10.1098/rstb.2001.0999).

21 Glantz S. *Biomedical statistics*. McGraw-Hill, 1994. (Translated to Russian. Moscow: Practice; 1999). Доступен: http://medstatistic.ru/articles/glantz.pdf. Дата обращения 22.05.23

22 Statistical analysis in MS Excel. Доступен: (https://statanaliz.info). Дата обращения: 18.09.2021.

23 World Halth Organization Influenza surveillance report Доступен: (https://app.powerbi.com/view?r=eyJrIjoiYWU4YjUyN2YtMDBkOC00MGI1LTlhN2UtZGE5NThjY2E1ZThhIiwidCI6ImY2MTBjMGI3LWJkMjQtNGIzOS04MTBiLTNkYzI4MGFmYjU5MCIsImMiOjh9). Дата обращения: 22.05.23

24 Еженедельный электронный бюллетень. Эпидемиологическая ситуация по заболеваемости ОРВИ и гриппом в Республике Казахстан. Доступен: (https://rk-ncph.kz/resources/situation/weekly). Дата обращения: 22.05.23.

25 Бейсенбинова Ж.Б., Касабекова Л.К., Айтманбетова А.А., Жакупова М.Н., Кожекенова Ж.А., Шахиева А.М. Циркуляция возбудителей ОРВИ и вирусов гриппа за эпидемиологический сезон 2018-2019 гг. в Республике Казахстан. 2020. Доступен: (http://surl.li/qsvxe). Дата обращения: 22.05.23

IRSTI: 35:616.07

A.A. ZHYLGELDIEVA[1] , E.M. KORABAEV[1], N.A. ZAMANBEKOV[1], P.H. SOBIECH[2], N.K. KOBDIKOVA[1], Sh.B. TURZHIGITOVA[1], M.S. BAYMURZAYEVA[1], N.S. BAYBEREKOV[1]
[1]Kazakh National Agrarian Research University, Almaty, Kazakhstan
[2]Warmian-Masurian University, Olsztyn, Poland
[*]e-mail: asel_issik@mail.ru

THE EFFECT OF A PHYTOPREPARATION USED FOR CALVES DYSPEPSIA ON MORPHOLOGICAL AND BIOCHEMICAL BLOOD PARAMETERS

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.14

Abstract

Regular consumption of nuts has a positive effect on the cardiovascular system. Studies by many scientists have shown that medicinal substances from these walnuts create conditions for maintaining vascular elasticity, lowering blood pressure and increasing the tone of the heart muscle.

The pineal hormone melatonin, which is contained in walnuts, contributes to the adaptation of the body's skin to sunlight, increases mood, and, in addition, normalizes sleep. This article discusses the norm of the digestive system of calves under the influence of phytopreparations,morphostructural features during the pathological process. During the morphological, biochemical and immunobiological studies carried out, data were obtained indicating that there are pathologies in the digestive system of cubs that affect the decrease in animal productivity. Valuable data have been obtained on the therapeutic and preventive effectiveness of phytopreparation tincture used in gastroenteral pathology of the digestive system. Immunological studies have shown that under the influence of a therapeutic drug, the activity of cell elements in immune organs increases. With pathologies of the digestive system in calves, metabolic disorders of protein, a decrease in the indicators of the form elements of blood are revealed. The drug used contributed to the normalization of blood hematological indicators, ensuring a decrease in leukocytes to 8.8x109/L,an increase in erythrocytes by 1.5%, total protein by 3.7%, globulins - by 8.4%.

Keywords: performance, component, erythrocyte, leukocyte, total protein, albumin.

In the modern functioning of the pharmaceutical industry, many drugs are used for therapeutic purposes. Among the entire range of medicines, the group of medicinal herbal preparations occupies a special place. This category of pharmaceutical agents is distinguished by the wide therapeutic effect and the low risk of side effects. The current state of pharmaceutical science in the field of pharmacognosy is characterized by incomplete research of medicinal plants [1, 2, 3]. One of the reasons for this is insufficient attention of scientists in the field of pharmacognosy to new and little-studied types of plant raw materials. Representatives of the walnut family are valuable plants widely used in the food industry. However, walnut raw materials have not yet been widely used in scientific medicine.

Currently, the use of a wide range of antibiotics plays an important role in increasing the effectiveness of the treatment of diseases caused by various microorganisms [4, 5]. However, antibiotic therapy also has its drawbacks. Frequent use of a group of antimicrobial drugs in medicine and veterinary medicine increases the frequency of emergence of resistant strains of microorganisms. Increasing resistance to antibiotics is currently of great socio-economic importance and is considered a threat to national security in the developed countries of the world [6, 7]. In addition, taking antibiotics can lead to various side effects, including allergic reactions, decreased immunity, and an increase in fungal infections in the body. In this regard, an important and urgent problem of modern pharmacy is the search for new types of antibacterial drugs [8, 9].

The productivity of animals is directly related to their genetic ability to deliver nutrients to organs and tissues, convert them into nutrients, and then use them as products. The efficiency of this transformation is determined by the level of metabolism in the body. Tissues in the animal

body consist of many cells in which complex metabolic processes are continuously taking place [10, 11].

Most living cells are capable of long life by performing their special functions, self-regulation and self-reproduction. For this, it is necessary to continuously supply enough necessary oxygen, nutrients and biologically active substances to each cell through the blood, and to return to the blood the waste products of metabolism from the cells [12, 13]. Therefore, the composition, structure and functional activity of the cell are formed depending on how regularly and in what quantity the necessary components enter the cells.

Medicinal components, vitamins and minerals in plants play a special role in the proper metabolism of the body. Their deficiency, excess or imbalance in the body is accompanied by a special pathology, characterized by a violation of metabolic metabolism, a decrease in productivity, intolerance to diseases, a slowdown in the growth and development of young animals, a weakening of the reproductive function and fertility of adult animals, and the birth of non-viable offspring [14] . The normal growth and development of the calf's body requires a large amount of minerals. Their lack leads to slow development, reduced productivity, weakening of the immune system [15].

Taking into account the above, vitamins and their preparations are widely used in practical livestock and poultry farming. Being part of coenzymes, vitamins are catalysts involved in the metabolism of many substances and necessary structural elements that have a significant impact on the functioning of all systems, including the immune system [16].

The environment is rich in natural sources of vitamins and minerals, it is, of course, plants. Recently, in the field of veterinary medicine, the use of plant-based medicines in the treatment of metabolic disorders in children has been showing results. Walnuts can be included among such properties [7]. Walnut and its products (leaves and fruits) include fat - 15%, carbon - 30 g/kg, lysine - 3.0%, multienzyme complex - 1.5%, calcium - 26.0%, phosphorus - 8, 2%, sulfur - 24 g/kg, magnesium - 35 mg/kg, zinc - 950 mg/kg, copper - 158 mg/kg, manganese - 13 mg/kg, cobalt - 44 mg/kg, iodine - 38 mg/kg , mercury - 0.9 mg/kg, vitamin A - 400000 IU, vitamin D3 - 200000 IU, vitamin E - 200 mg/kg, phospholipids - not less than 5% and essential oils [17, 18]. It is clear that these minerals are very necessary for human and animal life.

In our research, on the basis of walnut tincture, which was used as a therapeutic drug, for the first time, the immune indicators of calves were studied in hematological and different functional conditions. As a result, the possibility of using the drug for functional activation of non-specific factors of the immune system was confirmed, and the optimal dosage and method of using the drug were determined.

Materials and methods of research

Due to insufficient feeding of female animals, dyspepsia occurs in calves, as a result of which symptoms such as lack of quality colostrum, underdevelopment of digestive organs, and improper digestion of colostrum are formed. Detailed information about the optimal dosage and methods of using the drug is indicated in our previous articles [19].

Dyspepsia can be simple and toxic. Simple dyspepsia is accompanied by disturbances in the function of the stomach and intestines. Meanwhile, during toxic dyspepsia, the metabolism is disturbed and the whole body is poisoned. Toxic dyspepsia can be a consequence of simple dyspepsia. The use of medicinal plants is more effective than other synthetic drugs in the treatment and prevention of diseases of the gastrointestinal tract in newborn calves. Medicinal plants have the ability to strengthen the anti-inflammatory action, normalize the functional activity of digestive systems, and reduce exudation in the inflammatory site. In addition, it improves the functioning of motor and secretory functions, the enzymatic activity and acidic environment of the stomach, and activates the production of bile. In the treatment of gastro-intestinal diseases in calves, decoctions of plants with astringent properties, such as willow, rosehip, rosehip, sorrel, plantain, show good therapeutic properties.

Targeted use of new, promising phytopreparations requires morphofunctional and biochemical analysis of organs in the animal body. In this regard, an important element in the assessment of structural changes is the reaction of calves to pathological changes during the use of medicinal plants against diseases of the digestive system.

Since 2020, the use of walnut infusion or decoction during the dyspepsia of calves has been studied among the teachers of the department. Tools and equipment used during the research: hematological analyzer, distiller, electric water distiller, bidistillator, electric laboratory scale, weighing cabinet, electric calorimeter, pH meter, centrifuge, thermostat.

Hematological, biochemical and immunological indicators of calves were studied in the process of conducting studies on the therapeutic effect of infusion prepared from walnuts on calves suffering from dyspepsia. We determined the amount of leukocytes, erythrocytes, and hemoglobin in the blood in the BioChem Sa7 analyzer and by generally accepted methods. That is, the composition of hemoglobin and erythrocytes was determined by a photoelectric erythrohemometer based on the method of I.I. Sipko, and the number of leukocytes was calculated in the Goryaev chamber. The level of total protein in blood serum was determined by the refractometric method RL 140, the level of protein fractions was determined by I.P. Chondrachin was determined based on the turbidimetric nephelometric method.

Results and and iscussion

Treatment is carried out taking into account the severity of the disease. Treatment measures should first of all be aimed at elimination of the etiology of the disease, maintenance of water exchange, acid-alkaline balance. In a mild form of animal disease, a dietary ration for therapeutic purposes is sufficient. It is very necessary to carry out comprehensive treatment measures in the severe course of the disease. In the course of the research, 20 calves suffering from simple dyspepsia in "Azat" farm, Almaty region, Rayymbek district, were selected and divided into 10 experimental and control groups. Calves in the experimental group were treated with 250 ml of walnut infusion twice a day, while calves in the control group were treated with medicinal preparations used in the farm (Table 1).

Hematological studies have shown that walnut infusion has an effective effect on the amount of red blood cells and hemoglobin in the blood of animals. As can be seen from the table, the concentration of erythrocytes in the cubs of the experimental group was $6.02x10^{12}$/l in the first days of the study, and at the end of the study it was $8.12x10^{12}$/l, which corresponds to the physiological norm of the animals and is 14.8% higher than the cubs in the control group ($P< 0.05$). Data are presented in tables.

Table 1 - Treatment pattern

Group	Number of calves	Administered medications	Input method	Amount of drug	Input frequency
I	10	Walnut infusion	In the form of tincture	250 ml	2 times a day for 3 days in a row
II	10	Bicillin 3	For muscle meat	5-7 thousand IU/kg	1 time a day for 5 consecutive days
Note: I - experimental group; II - Control group					

The results of the study show that the hemoglobin level in the blood of the control group animals was 96.60±4.15 in the first days of the study, and at the end of the study it was 100.30 g/l, while in the experimental group these changes were 98.47±5.25 - 106.22 g/l. was. The observed changes indicate that erythropoiesis, protein metabolism and other metabolic processes were strengthened due to the increase in hepatoprotective functions of the liver in the animals of the experimental group under the influence of the used drug.

Table 2 - Morphological parameters of the blood of calves when using walnut tincture

Indicators	Control	Experience	Compared to control %	Normal size
Early days of research				
Erythrocytes, 10x12	6,36±0,42	6,02±0,61	94,6	5-7,5
Leukocytes, 10x9	15,32±1,19	14,79±1,64	97,3	4,5-12
Hemoglobin, g/l	96,60±4,15	98,47±5,25	101,9	90-120
Last days of research				
Erythrocytes, 10x12	7,07±0,63	8,12±0,89	114,8	5-7,5
Leukocytes, 10x9	13,87±2,10	12,06±1,86	86,9	4,5-12
Hemoglobin, g/l	100,30±5,78	106,22±6,05	105,9	90-120

The concentration of leukocytes decreased to $12.06x10^9$/l compared to the first day of the experiment and the values of control group animals ($P<0.05$), that is, it corresponded to the physiological norm. This data is evidence of the absence of pathological changes in the body of animals, the formation of cellular factors of non-specific protection of the body, and the strengthening of the immune system.

In the control group, the level of leukocytes was higher than the physiological norm, that is, $13,87x10^9$/l ($P<0.05$). The presence of leukocytosis, the deviation of the leukocyte amount from the physiological level is a manifestation of the presence of a pathological process in the body, and the improper formation of the immune system.

During the analysis of the indicators of immunobiological reactivity (table 3), the concentration of total protein in the blood of both groups (62,42 g/l in the control and 61,79 g/l in the experimental group) and the amount of albumin (in the animals of the experimental group the indicator was at the level of 24,77 g/l, while the control group 25,34 g/l) was at the same level during the first days of the study.

The concentration of α- and β-globulins in the blood of calves was higher in the control group than in the experimental group and was 11,23 and 11,44 g/l, while in the experimental group these indicators were 11,01 and 11,22 g/l. appeared at the level. The results of the study show that the amount of γ-globulin fractions in the blood was somewhat higher in the animals of the experimental group (12,39 g/l), while in the control group this indicator was 11,05 g/l.

Table 3 - Biochemical parameters of the blood of calves when using walnut tincture

Group	Protein	Albumin, g/l	α-globulin, g/l	β- globulin, g/l	γ- globulin, g/l
Early days of research					
Control	62,42±3,43	24,77±2,13	11,23±0,76	11,44±0,69	11,05±079
Experience	61,79±2,86	25,34±2,72	11,01±0,66	11,22±0,73	12,39±0,89
Last days of research					
Control	63,46±3,28	26,71±0,59	11,56±0,36	12,30±0,48	12,09±0,52
Experience	66,48±3,90	24,07±0,59*	12,58±0,47*	12,89±0,31	15,77±0,73**
Note: * —P<0,05 ** —P<0,01					

By the end of the research, it was observed that the total protein concentration in the blood serum of the animals of the experimental group increased by 5.2% compared to the control. Along with an increase in total protein, there is an increase in globulins in the blood of animals of the experimental group, but on the contrary, we can observe a simultaneous decrease in the concentration of albumin. Thus, the amount of α-globulins in the experimental group increased by 11.2%, β-globulins by 5.6%, and the concentration of γ-globulins by 30.4%. These indicators in the control group are 12.09±0.52.

A decrease in serum albumin is very common. We think that the decrease in the indicator is due to the increased permeability of the capillaries and the release of albumin into the lymph and intercellular space. According to the research, we can see that the number of albumins decreased from 26.71±0.59 in the control group to 24.07±0.59 in the experimental group. Thus, the use of walnut infusion during dyspepsia in calves has an effective effect on the normalization of the level of protein and protein fractions. Indicators of intestinal microflora of calves are shown in Figure 1.

Conclusion

One of the main tasks of any branch of animal husbandry is to obtain and maintain healthy offspring. However, the health of animals of all ages can be weakened due to the conditions of keeping, feeding and using animals, as well as the widespread use of antibiotics in animal husbandry in recent years, which leads to a lack of symbiotic microflora in the animal body, which participates in the digestion of food, the synthesis of amino acids and vitamins, and has a positive effect on immunity. also has an antagonistic effect on pathogenic and conditionally pathogenic microflora.

Symptoms of dyspepsia in the calves of the farm where the experiments were conducted were observed in 80.0% of the studied calves. The most common causes of the disease are: violation of the regime of feeding and housing and, as a result, a decrease in resistance in calves born prematurely. Clinically, dyspepsia in sick calves is manifested by a general depressed state, the animals often lie down, do not pay attention to their surroundings, periodically tremble, and lick their sides. There is an increase in intestinal peristalsis, during auscultation of the intestine, it is characterized by such symptoms as loud and constant rumbling, increased defecation acts, stool mass dilution, sharp sour-rotten smell, change in the color of stool. Immunological studies show that under the influence of walnut tincture, the activity of immune cell elements in the organs of the digestive system increases.

Due to the development of dyspepsia and dehydration in the morphological composition of blood, sick calves have clear erythrocytosis, hyperchromia and an increase in hematocrit. High levels of alkaline phosphatase, bilirubin, ALT and AST are observed in the biochemical content of blood in sick calves. Pathology of the digestive system, i.e. protein metabolic disorder during dyspepsia, abnormalities in morphological indicators were detected. Use of phytopreparation results in reduction of hematological parameters of blood, including leukocytes by 7.8%, erythrocytes by 1.5%, total protein by 3.7%, albumins by 2.0%, globulins by 8.4%. formed an increase to.

In the calves of the experimental group, the level of the disease is characterized by a low level. Complete elimination of disease symptoms was registered on the 9th day of treatment. Clinical recovery of calves in this group was 7 days on average, therapeutic efficiency was 90.0%. The amount of pathogenic microflora increased in calves in the control group, which contributed to gastrointestinal disorders. This shows that the used egg preparation creates favorable conditions for the development of representatives of normal flora and prevents the rapid development of pathogenic microflora. Calves that did not receive the drug were significantly behind the body weight of the animals of the experimental group. The weight of the calves treated with phytopreparation was 13.0% ($p<0.01$) more than the calves in the control group. The average daily weight gain of animals in the control group was 24.0% less in 15 days after birth, and 31.0% ($p\leq0.05$) in 1 month, compared to animals receiving the drug. We recommend using a complex of therapeutic measures for calf dyspepsia of various etiologies 2 times a day for 5 days in the amount of 250 ml with food.

The results obtained from this study are used in the creation of educational materials, scientific articles and methodical guidelines related to diseases of the gastrointestinal tract of calves, as well as in the educational process, including conducting laboratory-practical classes and lectures in the "Veterinary" specialty.

Funding

This article was prepared as a result of scientific research of the scientific project AR19177538 "development and pharmacotherapeutic justification of phytopreparations from walnuts for the treatment and Prevention of Juvenile dyspepsia" (Contract No. 168-ZHG4, 17.05.2023), approved by the competition for grant funding for research of young scientists under the project "Zhas Galym" for 2023-2025 with a period of 35 months.

References:

1 M. N. Musaev, N. R. Budulov, Z. G. Musaev, H. M. Gajdarbekova *Sposob lecheniya i profilaktiki zheludochno-kishechnyh zabolevanij novorozhdennyh telyat* / pod red., Veterinarnyj vrach.M., 2016, 4 : 32-36. (https://cyberleninka.ru/article/n/sposob-lecheniya-i-profilaktika-zheludochno-kishechnyh-zabolevaniy-novorozhdennyh-telyat)

2 Zamanbekov N.A., Turyspaeva SH.ZH., Ospankulov A., Ahmetova M.S., Omarova U.K. Vliyanie nastoya iz list'ev podorozhnika na nektorye pokazateli nespecificheskoj rezistentnosti organizma telyat. Mat. XVI Mezhd nauchno-prakt. konf. «Aktual'nye voprosy sovremennoj nauki», Tomsk, 21.11.2018. Izd. «NIC Vestnik Nauki-Izd. Dendra».146-152. (https://www.elibrary.ru/ip_restricted.asp?rpage=https%3A%2F%2Fwww%2Eelibrary%2Eru%2Fitem%2Easp%3Fid%3D36977568)

3 Sh. Turzhigitova, N.Zamanbekov, Y. Korabayev, Zh. Kaziyev, A.Tuganbay. Technology for Obtaining Dosage Forms (Tinctures, Extracts) from Local Plant Raw Materials and studying their Toxicity. *Jornal of Pharmaceutical Scienes and Resarch* Vol. 15(8), August 2022: 3540-3548. (doi: 10.52711/0974-360X.2022.00594)

4 K. E. Boranbayeva, N. A. Zamanbekov, R. S. Sattarova, G. N. Spiridonov, A. A. Zhylgeldiyeva Sh. B. Turzhigitova. Comparative Pharmacotherapeutic effectiveness of Therapeutic Ointments in infectious Keratoconjunctivitis in cattle. *Research J. Pharm. and Tech*. 16(1): January 2023: 46-54. (doi: 10.52711/0974-360X.2023.00009)

5 A. G. Shahov end dr. Metodicheskie rekomendacii po ocenke i korrekcii immunnogo statusa zhivotnyh / *Novye metody issledovanij po problemam veterinarnoj mediciny. CH. III. Metody issledovanij po problemam nezaraznoj patologii u produktivnyh zhivotnyh.* M. 2007: 115. (doi: 10.52711/0974-360X.2023.00009)

6 Vishnevec Zh.V., Prusakova A.A., Goncharenko V.V. Ispol'zovanie lekarstvennyh rastenij v veterinarii. *Mat. XIV-Mezhd. nauchno-prakt. konf. «Agrarnaya nauka – sel'skomu hozyajstvu».- Kniga 2, Barnaul*, 2019: 269-271. (https://e.lanbook.com/journal/issue/306494)

7 F. P. Petryankin, O. YU. Petrova. *Bolezni molodnyaka zhivotnyh : uchebnoe posobie dlya studentov vuzov, obuchayushchihsya po special'nosti «Veterinariya» /–* 2-e izd., pererab. i dop., Sankt-Peterburg; Moskva; Krasnodar : Lan', 2014 : 352. (https://e.lanbook.com/book/44761)

8 Vahrusheva T.I. *Patomorfologicheskaya ocenka i diagnostika dispepsii telyat. ZHurnal «Vestnik KrasGAU»*, 2020, 10. (https://cyberleninka.ru/article/n/patomorfologicheskaya-otsenka-i-diagnostika-dispepsii-telyat/viewer)

9 Ivashkin V.T., Sheptulin A.A., Kiprianis V.A. Funkcional'naya dispepsiya. M MedPressInform, 2017. (https://www.med-press.ru/catalog/769/13368/)

10 Andreeva A.V. Effect of probiotic preparations on the intestinal microbiome / *Journal of Engineering and Applied Sciences*. 2018, 13(S8): 6467-6472. (doi: 10.1177/1756283X12459294)

11 Sh.B.Turzhigitova, Zamanbekov N.A., Kobdikova N.K., Korabaev E.M., Zhylgeldieva A.A. A New Environmentally Safe Phytopreparation the inscresing the Protective Function of Calves. *Jornal of Pharmaceutical Scienes and Resarch* Vol. 2021, 14(2): 887-894. (doi: 10.5958/0974-360X.2021.00158.X)

12 Korneeva O.S. *Fitoterapiya pri boleznyah zhivotnyh. Veterinariya, 2008,3:47-63.* (https://repo.vsavm.by/bitstream/123456789/5122/1/j-2018-1-40-43.pdf)

13 Corrective Effect of Gentabiferon-S on Weaned Piglet Immune Status and Its Effectiveness in Prevention of Intestinal Infections. A. G. Shakhov [et al.] *Russian Agricultural Sciences*. 2019, 45(1): 89-93. (doi: 10.3103/S1068367419010130)

14 Bombela T. V. *Metodologicheskie osnovy farmakognosticheskogo izucheniya, standartizacii syr'ya polimorfnyh vidov lekarstvennyh rastenij na primere roda euphrasia. 14.04.02 – farmacevticheskaya himiya, farmakognoziya.* Dokt. diss. Perm', 2017.

(https://www.dissercat.com/content/metodologicheskie-osnovy-farmakognosticheskogo-izucheniya-standartizatsii-syrya-polimorfnykh)

15 Kondrahin I.P. *ZHaңa tuғan bұzaulardyң dispepsiyasy – zhetistikter men problemalar. Veterinariya*, 2003, 1: 39-43. (http://rmebrk.kz/journals/2571/26886.pdf)

16 Abrosimova E.A. *Konceptualizaciya mira rastenij v veterinarnoj klinicheskoj terminologii.* Omsk, 2023. (https://cyberleninka.ru/article/n/kontseptualizatsiya-mira-rasteniy-v-veterinarnoy-klinicheskoy-terminologii)

17 Vahrusheva T. *Dispepsii telyat: patomorfologicheskaya ocenka i diagnostika. ZHurnal: Veterinariya sel'skohozyajstvennyh zhivotnyh*, 2021, 10 (https://panor.ru/articles/dispepsii-telyat-patomorfologicheskaya-otsenka-i-diagnostika/70122.html#)

18 Shumov YU. *Lechenie dispepsii u telyat bez antibiotikov. Nauchno-prakticheskij zhurnal «ZHivotnovodstvo Rossii»*, 2023. (https://zzr.ru/zzr-2023-09-010)

19 Korabaev E.M., Zamanbekov N.A., Zhylgeldieva A.A., Kobdikova N.K., Sh.B.Turzhigitova, N. Baiberekov. Study of changes in the dynamics of amino acids contained in walnuts during storage and use for medicinal purposes. *Scientific and practical journal of Zhangir Khan West Kazakhstan, Agrarian-Technical University Science and education.* 2023, 4-1 (73) (https://ojs.wkau.kz/index.php/gbj/issue/view/80)

А.А. ЖЫЛЬГЕЛДИЕВА[1*], Е.М. КОРАБАЕВ[1], Н.А. ЗАМАНБЕКОВ[1], П.Х. СОБИЕХ[2], Н.К. КОБДИКОВА[1], Ш.Б. ТУРЖИГИТОВА[1], М.С. БАЙМУРЗАЕВА[1], Н.С. БАЙБЕРЕКОВ[1]

[1]Казахский национальный аграрный исследовательский университет, Алматы, Казахстан

[2]Вармино-Мазурский университет, Ольштын, Польша

*e-mail: asel_issik@mail.ru

ВЛИЯНИЕ ФИТОПРЕПАРАТА, ПРИМЕНЯЕМОГО ПРИ ДИСПЕПСИИ ТЕЛЯТ, НА МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КРОВИ

Аннотация

Регулярное употребление орехов благотворно влияет на сердечно-сосудистую систему. Исследования многих ученых показывают, что лекарственные средства, полученные из грецких орехов, создают условия для поддержания эластичности сосудов, снижения артериального давления и повышения тонуса сердечной мышцы.

Гормон эпифиза мелатонин, содержащийся в грецких орехах, способствует адаптации кожи организма к солнечному свету, повышению настроения, а также нормализует сон. В данной статье рассматриваются нормы пищеварительной системы молодняка под воздействием фитопрепарата, морфоструктурные особенности при патологическом процессе. В ходе проведенных морфологического, биохимического и иммунобиологического исследований были получены данные, свидетельствующие о наличии в пищеварительной системе молодняка патологий, влияющих на снижение продуктивности животных. Получены ценные данные о лечебно-профилактической эффективности настойки фитопрепарата, применяемой при гастроэнтеральной патологии пищеварительной системы телят. Иммунологические исследования показали, что под действием лекарственного препарата повышается активность клеточных элементов в иммунных органах.

Ключевые слова: продуктивность, компонент, эритроциты, лейкоциты, общий белок, альбумин.

ҒТАМР: 35:616.07

А.А. ЖЫЛЬГЕЛДИЕВА[1*], Е.М. КОРАБАЕВ[1], Н.А. ЗАМАНБЕКОВ[1], П.Х. СОБИЕХ[2], Н.К. КОБДИКОВА[1], Ш.Б. ТУРЖИГИТОВА[1], М.С. БАЙМУРЗАЕВА[1], Н.С. БАЙБЕРЕКОВ[1]
[1]Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Алматы, Қазақстан
[2]Вармин-Мазурск университеті, Ольштын, Польша
[*]e-mail: asel_issik@mail.ru

БҰЗАУЛАРДЫҢ ДИСПЕПСИЯСЫ КЕЗІНДЕ ҚОЛДАНЫЛҒАН ФИТОПРЕПАРАТТЫҢ ҚАННЫҢ МОРФОЛОГИЯЛЫҚ ЖӘНЕ БИОХИМИЯЛЫҚ КӨРСЕТКІШТЕРІНЕ ӘСЕРІ

doi:10.53729/MV-AS. 2024.01.14

Түйін

Жаңғақты үнемі тұтыну жүрек-қан тамырлары жүйесіне жағымды әсер етеді. Көптеген ғалымдардың зерттеулері көрсеткендей, бұл грек жаңғағынан алынған дәрілік заттар тамырлардың серпімділігін сақтауға, қан қысымын төмендетуге және жүрек бұлшық етінің тонусын арттыруға жағдай жасайды. Жаңғақ құрамындағы эпифиз гормоны мелатонин ағза терісінің күн сәулесіне бейімделуіне, көңіл-күйдің жоғарылауына ықпал етеді, сонымен қатар, ұйқыны қалыпқа келтіреді.

Бұл мақалада фитопрепарат әсерінен төлдердің ас қорыту жүйелері нормасы,патологиялық процесс кезіндегі мофологиялық құрылымның ерекшеліктері қарастырылады. Жүргізілген морфологиялық, биохимиялық және иммунобиологиялық зерттеу барысында төлдердің ас қорыту жүйесінде жануарлардың өнімділігінің төмендеуіне әсер ететін патологиялар бар екенін көрсететін мәліметтер, ас қорыту жүйесіндегі гастроэнтеральды патологияда қолданылған фитопрепарат тұнбасының емдік-профилактикалық тиімділігі жайлы құнды деректер алынды. Иммунологиялық зерттеулер көрсеткендей емдік препараттың әсерінен иммундық органдардағы жасуша элементтерінің белсенділігі артатындығы дәлелденді. Бұзаулардағы ас қорыту жүйесінің патологиясы кезінде ақуыздың метаболикалық бұзылулары, қанның формалық элементтері көрсеткіштерінің төмендеуі анықталды. Қолданылған препарат қанның гематологиялық көрсеткіштерінің қалыпқа келуіне ықпал етіп, лейкоциттердің 8,8х10^9/л дейін төмендеуін, эритроциттердің 1,5%, жалпы ақуыз 3,7%, глобулиндер - 8,4%-ға дейін жоғарылауын қамтамасыз етті.

Кілтті сөздер: өнімділік, компонент, эритроцит, лейкоцит, жалпы белок, альбумин.

Фармацевтика саласының қазіргі заманғы жұмыс істеуі жағдайында ккөптеген дәрілік заттар емдік мақсатта қолданылады. Дәрі-дәрмектің барлық ассортиментінің ішінде дәрілік шөптік препараттар тобы ерекше орын алады. Фармацевтикалық агенттердің бұл санаты терапевтік әсердің кеңдігін және жанама әсерлердің пайда болу қаупінің төмендігімен ерекшелінеді. Фармакогнозия саласындағы фармацевтика ғылымының қазіргі жағдайы дәрілік өсімдіктердің толық зерттелінбеуімен сипатталады [1, 2, 3]. Мұның себептерінің бірі-фармакогнозия саласындағы ғалымдардың өсімдік шикізатының жаңа және аз зерттелген түрлеріне жеткіліксіз назар аударуы. Жаңғақ тұқымы өкілдері тамақ өнеркәсібінде кеңінен қолданылатын құнды өсімдіктер болып табылады. Алайда жаңғақ шикізаты ғылыми медицинада әлі кең қолданыста болған жоқ.

Қазіргі уақытта антибиотиктердің үлкен ассортиментінің қолданылуы әртүрлі микроорганизмдер тудыратын ауруларды емдеудің тиімділігін арттыруда маңызды рөл атқарады [4, 5]. Дегенмен, антибиотикалық терапияның да кемшіліктері бар. Микробтарға қарсы препараттар тобын медицина және ветеринария саласында жиі қолдану микроорганизмдердің төзімді штаммдарының пайда болу жиілігін арттырады. Антибиотиктерге төзімділіктің артуы қазіргі уақытта үлкен әлеуметтік-экономикалық маңызға ие болып, әлемнің дамыған елдерінде ұлттық қауіпсіздікке төнген қауіп ретінде

қарастырылады [6, 7]. Сонымен қатар, антибиотиктерді қабылдау әртүрлі жанама әсерлерге, соның ішінде аллергиялық реакцияларға, иммунитеттің төмендеуіне, сондай-ақ денеде саңырауқұлақ инфекцияларының көбеюіне әкелуі мүмкін. Осыған байланысты қазіргі фармацияның маңызды және өзекті мәселесі бактерияға қарсы препараттардың жаңа түрлерін іздеу болып табылады [8, 9].

Жануарлардың өнімділігі, олардың ағзасына түскен азықтық заттарды мүшелер мен ұлпаларға жеткізіп, оларды қоректік заттарға айналдырып, содан кейін өнім ретінде қолданылатын генетикалық қабілетімен тікелей байланысты. Бұл трансформацияның тиімділігі организмдегі зат алмасу деңгейімен анықталынады. Жануарлар ағзасындағы ұлпалар олар күрделі метаболикалық процестер үздіксіз жүріп тұратын көптеген жасушалардан тұрады [10, 11].

Көптеген тірі жасушалар өзінің ерекше функцияларын орындау, өзін-өзі реттеу және өзін-өзі көбейту барысында ұзақ өмір сүруге қабілетті. Бұл үшін әр жасушаға қан арқылы үздіксіз, жеткілікті мөлшерде қажетті оттегі, қоректік және биологиялық белсенді заттар жеткізілініп, ал қайтадан қанға жасушалардан зат алмасудың қалдық өнімдері бөлініп тұруы қажет [12, 13]. Сондықтан, жасушаларға енетін қажетті компоненттердің тұрақтылығына және мөлшеріне байланысты жасушаның құрамы, құрылымы және функционалдық қызметі түзіледі.

Өсімдіктер құрамындағы емдік компоненттер, витаминдер мен минералдардың ағзада жүретін зат алмасу процесстеріндегі алатын орны ерекше. Олардың жетіспеушілігі, артық болуы немесе теңгерімсіздігінің сәйкестенбеуі зат алмасу қызметінің бұзылуымен, өнімділіктің төмендеуімен, ауруларға деген төзімсіздігімен, жас төлдердің өсу мен даму қабілетінің баяулауымен, ересек жануарлардың көбею функциясы мен тууы қабілетінің әлсіреуімен, өміршең емес ұрпақтардың өмірге келуімен ерекшелінетін арнайы патологиямен бірге жүреді [14]. Бұзау ағзасының қалыпты өсіп-жетілуі өте көп мөлшерде минералды заттарды қажет етеді. Олардың жетіспеушілігі дамудың баяулауына, өнімділіктің төмендеуіне, иммундық жүйенің әлсіреуіне әкеледі [15].

Жоғарыда айтылғандарды ескере отырып, дәрумендер мен олардың препараттары практикалық мал және құс шаруашылығында кеңінен қолданылады. Коферменттердің құрамында бола отырып, витаминдер көптеген заттардың алмасуына қатысатын катализаторлар және барлық жүйелердің жұмысына, оның ішінде, иммундық жүйеге айтарлықтай әсер ететін қажетті құрылымдық элементтер болып табылады [16].

Қоршаған ортада витаминдер мен минералды заттардың табиғи көзіне бай өсімдіктер болып табылады. Соңғы кездері ветеринария саласында зат алмасуының бұзылуынан болатын төл ауруларын емдеуде өсімдік тектес дәрілік заттарды қолдану өз нәтижесін беруде. Сондай өзсімдіктер қатарына грек жаңғағын жатқызуға болады [7]. Грек жаңғағы және одан алынған өнімдердің құрамына (жапырағы және жемісі) май - 15%, көміртегі - 30 г/кг, лизин - 3,0%, мультиэнзимдік кешен - 1,5 %, кальций - 26,0 %, фосфор - 8,2%, күкірт -24 г/кг, магний -35 мг/кг, мырыш - 950 мг/кг, мыс - 158 мг/кг, марганец - 13мг/кг, кобальт - 44 мг/кг, йод - 38 мг/кг, сынап - 0,9 мг/кг, витамин А - 400000МЕ, витамин Д3 - 200000 МЕ, витамин Е - 200 мг/кг, фосфолипидтер- 5%-дан кем емес және эфир майлары кіреді [17, 18]. Бұл минералды заттар адам және жануар тіршілігінде өте керекті екендігі айдан анық.

Біздің зерттеулерімізде емдік препарат ретінде қолданылған грек жаңғағы тұнбасының негізінде алғаш рет гематологиялық және әр түрлі функционалды жағдайларда бұзаулардың иммундық көрсеткіштері зерттелді. Нәтижесінде, препаратты иммундық жүйенің ерекшеленбеген факторларын функционалды белсендіру үшін қолдану мүмкіндігі расталынып, препаратты қолданудың оңтайлы дозасы мен әдісі анықталды

Зерттеу материалдары мен әдістері

Аналық малдарды азықтандыруда рационының толық қанды болмауына байланысты бұзауларда диспепсия пайда болады, нәтижесінде, төл сапалы уыз сүтіне жарымай, ас

қорыту мүшелерінің дамымауы, ұлтабарға түскен уызды дұрыс қорытпау секілді белгілер қалыптасады. Препаратты қолданудың оңтайлы дозасы мен дайындау әдістері туралы мәліметтер алдыңғы мақалаларымызда толық көрсетілген [19].

Диспепсия қарапайым және уытты түрінде болуы мүмкін. Қарапайым диспепсия асқазан және ішек функциясының бұзылуымен бірге жүреді. Ал, уытты диспепсия кезінде зат алмасу бұзылып, бүкіл ағза уланады. Уытты диспепсия қарапайым диспепсияның салдары болуы мүмкін. Дәрілік өсімдіктерді қолдану негізінен жаңа туған бұзаулардағы асқазан-ішек жолдарының аурулары кезіндегі емдік-профилактикалық іс-шаралар кезінде басқа синтетикалық препараттарға қарағанда тиімді. Дәрілік өсімдіктер айқын қабынуға қарсы- әрекетті күшейтіп, ас қорыту жүйелерінің функционалдық қызметін қалыпқа келтіретін, қабыну ошағында экссудацияны азайтатын қабілетке ие. Сонымен қатар, моторикалық және секреторлық функциялардың жұмысын, қарынның ферментативті белсенділігі мен қышқылдық ортасын жақсартып, өт шығаруды белсендіреді. Бұзаулардағы асқазан-ішек жолдары ауруларын емдеуде тұтқыр қасиеттері бар ива, итмұрын, шәйқурай, қымыздық, жолжелкен секілді өсімдіктердің қайнатпалары жақсы емдік қасиет көрсетеді.

Жаңа, болашағы бар фитопрепараттарды мақсатты пайдалану жануарлардың ағзасындағы мүшелерді морфофункционалды және биохимиялық талдауды қажат етеді. Осыған байланысты, құрылымдық өзгерістерді бағалаудың маңызды элементі бұзаулардың ас қорыту жүйесі ауруларына қарсы дәрілік өсімдіктерді қолдану кезіндегі патологиялық өзгерістерге реакциясы.

Грек жаңғағы тұнбасын немесе қайнатпасын төлдердің диспесиясы кезінде қолдану кафедра ұстаздары арасында 2020 жылдан бері зерттелуде. Зерттеу барысында қолданылған құрал – жабдықтар: гематологиялық анализатор, дистиллятор, электрлік аквадистиллятор, бидистиллятор, электрлік зертханалық таразы, тартқыш шкаф, электрлік калориметр, РН-метр, центрифуга, термостат**.**

Диспепсиямен ауырған бұзауларға грек жаңғағынан дайындалған тұнбаның емдік әсеріне зерттеулер жүргізу процесінде бұзаулардың гематологиялық, биохимиялық және иммунологиялық көрсеткіштері зерттелді. Қандағы лейкоциттер, эритроциттер, гемоглобин мөлшерін BioChem Sa7 анализаторында және жалпы қабылданған әдістер бойынша анықтадық. Яғни, гемоглобин мен эритроциттердің құрамы И.И.Сипко әдісіне сүйене отырып фотоэлектрлік эритрогемометрімен анықталды, лейкоциттер саны Горяев камерасында есептелді. Қан сарысуындағы жалпы ақуыздың деңгейі заттың сыну көрсеткіші бойынша RL 140 рефрактометриялық әдіспен, ақуыз фракцияларының деңгейі И.П. Кондрахиннің турбидиметриялық нефелометриялық тәсіліне негізделініп анықталды.

Нәтижелер және оларды талдау

Емдеу аурудың ауырлығын ескере отырып жүзеге асырылады. Емдік шаралар бірінші кезекте аурудың этиологиясын жоюға, су алмасуын, қышқылдық-сілтілік тепе-теңдікті ұстауға бір қалыпты ұстауға бағытталғаны жөн. Жануарлар ауруының жеңіл түрінде емдік мақсаттағы диеталық рационның өзі жеткілікті. Аурудың ауыр ағымында кешенді қажет емдеу шараларын өткізу өте қажет. Зерттеу жүргізу барысында Алматы облысы, Райымбек ауданы, «Азат» шаруа қожалығындағы диспепсияның қарапайым түріне шалдыққан 20 бұзау іріктелініп, 10 бастан тәжірибелік және бақылау тобына бөлінді. Тәжірибе тобындағы бұзауларға 250 мл мөлшерде, күніне екі рет грек жаңғағы тұнбасы қолданылса, бақылау тобындағы төлдерді шаруашылықта қолданылып жүрген дәрілік препараттармен емдедік (1-кесте).

Гематологиялық зерттеулер көрсеткендей грек жаңғағының тұнбасы эритроциттер және жануарлардың қанындағы гемоглобин мөлшеріне тиімді әсер етеді. Кестеден көріп отырғанымыздай, тәжірибелік топтағы төлдерде эритроциттердің концентрациясы зерттеудің алғашқы күндері $6,02x10^{12}$/л болса зерттеудің соңында $8,12x10^{12}$/л құрады, бұл жануарлардың физиологиялық нормасына сәйкес келеді және бақылау тобындағы

төлдерге қарағанда 14,8% - ға жоғары (P<0,05) екендігін көрсетеді. Деректер кестелерде ұсынылған.

Кесте 1 - Емдеу үлгісі

Топ	Бұзаулар саны	Енгізілетін дәрі-дәрмектер	Енгізу әдісі	Препарат мөлшері	Енгізу жиілігі
I	10	Грек жаңғағы тұнбасы	Тұнба түрінде ішке	250 мл	Күніне 2 рет 3 күн қатарынан
II	10	Бициллин 3	Бұлшық етке	5-7 мың ә.б./кг	Күніне 1 рет 5 күн қатарынан
Ескерту: I-тәжірибелік топ, II- бақылау тобы					

Зерттеу нәтижелері көрсеткендей, бақылау тобы жануарларының қанындағы гемоглобин деңгейі зерттеудің алғашқы күндері 96,60±4,15 болса, зерттеудің соңында 100,30 г/л құрады, ал тәжірибелік топта бұл күндері бұл өзгерістер 98,47±5,25 – 106,22 г/л. болды. Байқалған өзгерістер қолданылған препараттың әсерінен тәжірибелік топтағы жануарларда бауырдың гепатопротекторлық функцияларының жоғарылауына байланысты эритропоэздің, ақуыз алмасуының және басқа метаболикалық процестердің қуаттанғанын айқындайды.

Кесте 2 - Грек жаңғағы тұнбасын қолдану кезіндегі бұзаулар қанының морфологиялық көрсеткіштері

Көрсеткіштер	Бақылау	Тәжірибе	Бақылаумен салыстырғанда %	Қалыпты мөлшер
Зерттеудің алғашқы күндері				
Эритроциттер, 10x12	6,36±0,42	6,02±0,61	94,6	5-7,5
Лейкоциттер, 10x9	15,32±1,19	14,79±1,64	97,3	4,5-12
Гемоглобин, г/л	96,60±4,15	98,47±5,25	101,9	90-120
Зерттеудің соңғы күндері				
Эритроциттер, 10x12	7,07±0,63	8,12±0,89	114,8	5-7,5
Лейкоциттер, 10x9	13,87±2,10	12,06±1,86	86,9	4,5-12
Гемоглобин, г/л	100,30±5,78	106,22±6,05	105,9	90-120

Лейкоциттердің концентрациясы тәжірибенің алғашқы күнімен және бақылау тобы жануарлары көрсеткіштерін салыстырғанда 12,06x109/л дейін төмендеді (P<0,05), яғни, физиологиялық нормаға сәйкестенді. Бұл дерек жануарлар ағзасында патологиялық өзгерістердің жоқтығының, дененің ерекшеленбеген қорғанысының жасушалық факторларының қалыптасқанының, иммундық жүйесінің қуаттанғанының айғағы.

Бақылау тобында лейкоциттер деңгейі физиологиялық нормадан жоғары болды, яғни, 13, 87x109/л (P<0,05). Лейкоцитоз байқалуы, лейкоцит мөлшерінің физиологиялық деңгейден ауытқуы ағзада әлі де патологиялық процестің бар екенінің, иммундық жүйенің дұрыс қалыптаспағанының көрінісі.

Иммунобиологиялық реактивтілік көрсеткіштерін талдау барысында (кесте 3) екі топтың қанындағы жалпы ақуыздың концентрациясы (бақылауда 63,42, ал, тәжірибелік топта 61,79 г/л) және альбумин мөлшері (тәжірибе тобының жануарларындағы көрсеткіш 26,34 г / л деңгейінде болса, бақылау тобында 25,92 г/л) зерттеудің алғашқы күндері шамамен бір деңгейде болды.

Бұзаулардың қанындағы α-және β-глобулиндердің концентрациясы тәжірибе тобындағы жануарларға қарағанда бақылау тобында жоғары болды және 11,23 және 11,44 г/л құрады, ал, тәжірибе тобындағы бұл көрсеткіштер 11,01 және 11,22 г / л. деңгейінде көрінді. Зерттеу нәтижелері көрсеткендей, қандағы γ-глобулиндік фракциялар мөлшері тәжірибе тобының жануарларында біршама жоғары болды (12,39 г/л), ал бақылау тобында бұл көрсеткіш 11,05 г/л .

Кесте 3 - Грек жаңғағы тұнбасын қолдану кезіндегі бұзаулар қанының биохимиялық көрсеткіштері

Топ	Жалпы белок	Альбуминдер, г/л	α-глобулиндер, г/л	β-глобулиндер, г/л	γ-глобулиндер, г/л
Зерттеудің алғашқы күндері					
Бақылау	63,42±3,43	25,92±2,13	11,23±0,76	11,44±0,69	11,05±079
Тәжірибе	61,79±2,86	26,34±2,72	11,01±0,66	11,22±0,73	12,39±0,89
Зерттеудің соңғы күндері					
Бақылау	63,46±3,28	26,71±0,59	11,56±0,36	12,30±0,48	12,09±0,52
Тәжірибе	66,48±3,90	24,07±0,59*	12,58±0,47*	12,89±0,31	15,77±0,73**
Ескерту: * —P<0,05 ** —P<0,01					

Зерттеулердің соңына қарай тәжірибелік топтың жануарлары қан сарысуындағы жалпы ақуыз концентрациясы бақылаумен салыстырғанда 5,2% - ға жоғарылағаны байқалды. Жалпы ақуыздың жоғарылауымен бірге тәжірибе тобының жануарларының қанындағы глобулиндердің ұлғаюы байқалса, керісінше, альбумин концентрациясының бір мезгілде төмендеуін байқаймыз. Сонымен, α-глобулиндердің мөлшері бақылаумен салыстырғанда тәжірибелік топта 11,2%-ға, β-глобулиндер 5,6%-ға, ал γ- глобулиндер концентрациясы айттарлықтай 30,4%-ға өсті. Бақылау тобындағы бұл көрсеткіштер 12,09±0,52.

Қан сарысуындағы альбуминдердің төмендеуі өте жиі байқалады. Көрсеткіштің төмендеуі капиллярлардың өткізгіштігі артып, альбуминдердің лимфаға және жасушааралық кеңістікке шығып кетуі деп ойлаймыз. Зерттеулер көрсеткендей, альбуминдер саны бақылау тобында зерттеудің соңында 26,71±0,59 болса, тәжірибелік топта 24,07±0,59-ға дейін төмендегенін көруімізге болады. Сонымен, грек жаңғағы тұнбасын бұзаулардың дисепсиясы кезінде қолдану белок және белок фракцияларының деңгейінің қалыпқа келуіне тиімді ықпал етеді. Бұзаулардың ішек микрофлорасының көрсеткіштері 1- сызбада көрсетілген.

Қорытынды

Мал шаруашылығының кез-келген саласының басты міндеттерінің бірі - сау төл алу және оны сақтау. Алайда, барлық жастағы жануарлардың денсаулығы жануарларды ұстау, азықтандыру және пайдалану жағдайларына, сондай-ақ, соңғы жылдарда мал шаруашылығында антибиотиктерді кеңінен қолдануға байланысты әлсіреуі мүмкін, бұл жануарлар ағзасында азықты қорытуға, аминқышқылдары мен дәрумендердің синтезіне қатысатын симбиотикалық микрофлораның жетіспеушілігіне әкеледі, иммунитетке оң әсер етеді, сонымен қатар патогендік және шартты патогендік микрофлораға антагонистік әсер етеді.

Тәжірибелер жүргізілген шаруашылықтағы бұзаулардағы диспепсия белгілері зерттелетін төлдің 80,0% - нан байқалды. Аурудың ең көп тараған себептері: азықтандыру және ұстау тәртібінің бұзылуы және соның салдарынан уақытынан ерте өмірге келген бұзаулардағы төзімділіктің төмендеуі. Клиникалық тұрғыдан, ауру бұзаулардағы диспапсия жалпы депрессиялық күймен көрінеді, жануарлар жиі жатады, айналасына назар аудармайды, мезгіл-мезгіл дірілдейді, бүйірін жалай береді. Ішек перистальтикасының жоғарылауы байқалады, ішектің аускультациясы кезінде-қатты және тұрақты гүрілдеу, дефекация актілерінің жоғарылауы, нәжіс массасы сұйылуы және өткір қышқыл-шірік иісті, нәжістің түсінің өзгеруі секілді белгілермен сипатталынады.

Иммунологиялық зерттеулер көрсеткендей грек жаңғағы тұнбасының әсерінен ас қорыту жүйесі органдарда иммундық жасуша элементтерінің белсенділігі артады.

Қанның морфологиялық құрамында диспепсия мен дегидратацияның дамуына байланысты ауру бұзауларда айқын эритроцитоз, гиперхромия және гематокрит мөлшерінің жоғарылауы байқалады. Ауру бұзаулардағы қанның биохимиялық құрамында сілтілі фосфатаза, билирубин, АлАТ және Асаттың жоғары көрсеткіштері байқалады. Ас қорыту жүйесінің патологиясы, яғни, диспепсия кезінде ақуыздың метаболикалық бұзылуы, морфологиялық көрсеткіштердің ауытқуы анықталды. Фитопрепаратты қолдану қанның гематологиялық көрсеткіштерінің, соның ішінде, лейкоциттердің 7,8% - ға төмендеуін, эритроциттердің 1,5%-ға, жалпы ақуыздың 3,7%- ға, альбуминдердің 2,0%-ға, глобулиндер - 8,4%-ға жоғарылауын қалыптастырды.

Тәжірибелік топтағы бұзауларда аурудың өту деңгейі жеңіл болғанымен сипатталады. Ауру симптомдарының толық жойылуы емдеудің 9 - шы күні тіркелді. Бұл топтағы бұзаулардың клиникалық қалпына келуі орта есеппен 7 күн, емдік тиімділігі 90,0% құрады. Бақылау тобындағы бұзауларда патогендік микрофлораның мөлшері көбейе өсті, бұл асқазан-ішек жолдарының бұзылуына ықпал етті. Бұл қолданылған фитопрепараттың қалыпты флора өкілдерінің дамуы үшін қолайлы жағдай туғызатынын және патогендік микрофлораның қарқынды дамуына жол бермейтінін көрсетеді. Дәрілік препаратты қабылдамаған бұзаулар тәжірибе тобының жануарларының дене салмағынан айтарлықтай артта қалды. Фитопрепарат қолданылған бұзаулардың салмағы бақылау тобындағы бұзауларға қарағанда 13,0% - ға ($p<0,01$) артық болды. Бақылау тобындағы жануарлардың орташа тәуліктік салмақ қосуы туғаннан кейінгі 15 күнде препаратты қабылдаған жануарлармен салыстырғанда 24,0% – ға, ал 1 айлық кезеңде 31,0% - ға ($p\leq0,05$) аз болды. Әр түрлі этиологиядағы бұзау диспепсиясына арналған терапевтік шаралар кешенін күніне 2 рет, 5 күн тамақпен 250 мл мөлшерде ішке қолдануды ұсынамыз.

Осы зерттеудің алынған нәтижелері бұзаулардың асқазан-ішек жолдарының ауруларына қатысты оқу құралдарын, ғылыми мақалалар мен әдістемелік нұсқаулықтарды жасау кезінде, сондай-ақ оқу процесінде, оның ішінде «Ветеринария» мамандығы бойынша оқитын зертханалық-практикалық сабақтар өткізу және дәрістер оқу кезінде пайдаланылуда.

Қаржыландыру

Бұл мақала 2023-2025 жылдарға арналған «Жас ғалым» жобасы бойынша жас ғалымдардың зерттеулерін гранттық қаржыландыру конкурсында 35 ай іске асыру мерзімімен мақұлданған AP19177538 «Төлдердің диспепсиясын емдеу және алдын алу мақсатында грек жаңғағынан фитопрепарат әзірлеу және фармакотерапевтік негіздеу» тақырыбындағы (келісім шарт № 168-ЖГ4, 17.05.2023 жыл) ғылыми жобаның ғылыми зерттеулері нәтижесінде дайындалды.

Әдебиеттер:

1 Мусаев М. Н., Будулов Н. Р., Мусаев З. Г., Гайдарбекова Х. М. Способ лечения и профилактики желудочно-кишечных заболеваний новорожденных телят / *Ветеринарный врач*.М., 2016, 4: 32-36. (https://cyberleninka.ru/article/n/sposob-lecheniya-i-profilaktika-zheludochno-kishechnyh-zabolevaniy-novorozhdennyh-telyat)

2 Заманбеков Н.А., Турыспаева Ш.Ж., Оспанкулов А., Ахметова М.С., Омарова У.К. Влияние настоя из листьев подорожника на некторые показатели неспецифической резистентности организма телят. *Мат. XVI Межд научно-практ. конф. «Актуальные вопросы современной науки»*, Томск, 21.11.2018. Изд. «НИЦ Вестник Науки-Изд. Дендра».146-152. (https://www.elibrary.ru/ip_restricted.asp?rpage=https%3A%2F%2Fwww%2Eelibrary%2Eru%2Fitem%2Easp%3Fid%3D36977568)

3 Sh. Turzhigitova, N.Zamanbekov, Y. Korabayev, Zh. Kaziyev, A.Tuganbay. Technology for Obtaining Dosage Forms (Tinctures, Extracts) from Local Plant Raw Materials and studying their

Toxicity. *Jornal of Pharmaceutical Scienes and Resarch* Vol. 15(8), August 2022: 3540-3548. (DOI: 10.52711/0974-360X.2022.00594)

4 K. E. Boranbayeva, N. A. Zamanbekov, R. S. Sattarova, G. N. Spiridonov, A. A. Zhylgeldiyeva Sh. B. Turzhigitova. Comparative Pharmacotherapeutic effectiveness of Therapeutic Ointments in infectious Keratoconjunctivitis in cattle. *Research J. Pharm. and Tech*. 16(1): January 2023: 46-54. (doi: 10.52711/0974-360X.2023.00009)

5 Шахов А. Г. и др. *Методические рекомендации по оценке и коррекции иммунного статуса животных* / Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины. Ч. III. Методы исследований по проблемам незаразной патологии у продуктивных животных. М. 2007: 115. (doi: 10.52711/0974-360X.2023.00009)

6 Вишневец Ж.В., Прусакова А.А., Гончаренко В.В. Использование лекарственных растений в ветеринарии. *Мат. XIV-Межд. научно-практ. конф. «Аграрная наука – сельскому хозяйству».*- Книга 2, Барнаул, 2019: 269-271. (https://e.lanbook.com/journal/issue/306494)

7 Петрянкин Ф. П., Петрова О. Ю. *Болезни молодняка животных : учебное пособие для студентов вузов, обучающихся по специальности «Ветеринария»* /– 2-е изд., перераб. и доп., Санкт-Петербург; Москва; Краснодар : Лань, 2014 : 352. (https://e.lanbook.com/book/44761)

8 Вахрушева Т.И. *Патоморфологическая оценка и диагностика диспепсии телят. Журнал «Вестник КрасГАУ»,* 2020, 10. (https://cyberleninka.ru/article/n/patomorfologicheskaya-otsenka-i-diagnostika-dispepsii-telyat/viewer)

9 Ивашкин В.Т., Шептулин А.А., *Киприанис В.А. Функциональная диспепсия. М МедПрессИнформ*, 2017. (https://www.med-press.ru/catalog/769/13368/)

10 A.V. Andreeva Effect of probiotic preparations on the intestinal microbiome / *Journal of Engineering and Applied Sciences*. 2018, 13(S8):. 6467-6472. (doi: 10.1177/1756283X12459294)

11 Sh.B.Turzhigitova, Zamanbekov N.A., Kobdikova N.K., Korabaev E.M., Zhylgeldieva A.A. A New Environmentally Safe Phytopreparation the inscresing the Protective Function of Calves. *Jornal of Pharmaceutical Scienes and Resarch.* 2021, 14(2): 887-894. (DOI: 10.5958/0974-360X.2021.00158.X)

12 Корнеева О.С. Фитотерапия при болезнях животных. *Ветеринария*, 2008,3:47-63. (https://repo.vsavm.by/bitstream/123456789/5122/1/j-2018-1-40-43.pdf)

13 A. G. Shakhov [et al.] Corrective Effect of Gentabiferon-S on Weaned Piglet Immune Status and Its Effectiveness in Prevention of Intestinal Infections // *Russian Agricultural Sciences*. 2019, 45(1): 89-93. (http://dx.doi.org/10.3103/S1068367419010130)

14 Бомбела Т. В. *Методологические основы фармакогностического изучения, стандартизации сырья полиморфных видов лекарственных растений на примере рода euphrasia. 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия. Докт. дисс.* Пермь, 2017. (https://www.dissercat.com/content/metodologicheskie-osnovy-farmakognosticheskogo-izucheniya-standartizatsii-syrya-polimorfnykh)

15 Кондрахин И.П. *Жаңа туған бұзаулардың диспепсиясы – жетістіктер мен проблемалар.* Ветеринария, 2003. 1: 39-43. (http://rmebrk.kz/journals/2571/26886.pdf)

16 Абросимова Е.А. *Концептуализация мира растений в ветеринарной клинической терминологии.* Омск, 2023. (https://cyberleninka.ru/article/n/kontseptualizatsiya-mira-rasteniy-v-veterinarnoy-klinicheskoy-terminologii)

17 Вахрушева Т. *Диспепсии телят: патоморфологическая оценка и диагностика. Журнал: Ветеринария сельскохозяйственных животных,* 2021, 10 (https://panor.ru/articles/dispepsii-telyat-patomorfologicheskaya-otsenka-i-diagnostika/70122.html#)

18 Шумов Ю. *Лечение диспепсии у телят без антибиотиков*. *Научно-практический журнал «Животноводство России», 2023.* (https://zzr.ru/zzr-2023-09-010)

19 Корабаев Е.М., Заманбеков Н.А., Кобдикова Н.К., Жыльгелдиева А.А., Туржигитова Ш.Б., Байбереков Н. Жаңғақ құрамындағы аминқышқылдары динамикасыныңсақтау кезіндегі өзгерістерін зерттеу және емдік мақсатта қолдану. *Жәңгір хан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университетінің ғылыми-практикалық журналы,* 2023 1, 4-1 (73) (https://ojs.wkau.kz/index.php/gbj/issue/view/80)

IRSTI: 62.09.99

G.M. KALDYBEKOVA[1], SH.N. AKHMETSADYKOVA[2],
A.A. SAPARBEKOVA[1], M. VINCEKOVIĆ[3]
[1]M. Auezov South Kazakhstan University, Shymkent, Kazakhstan
[2]Kazakh research institute of livestock and fodder production, Almaty, Kazakhstan
[3]University of Zagreb, Zagreb, Croatia
*e-mail: freelife.1986@mail.ru

OBTAINING PROTEIN HYDROLYZATE FROM RESIDUAL BREWER'S YEAST FOR USE AS A FEED ADDITIVE

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.15

Abstract

The object of study was yeast waste from a brewery located in Shymkent. The amount of waste produced from yeast of the species *Saccharomyces cerevisiae*currently ranks second in beer production. When producing one dal of beer, on average, about 3 kg of residual yeast is formed, which, in modern brewery capacities, results in hundreds of tons of waste per month. This waste has a short shelf life, which is further shortened in summer due to the heat. The problem is compounded by the fact that to meet consumer demand in the summer, manufacturers increase production. The application of spent yeast as animal feed in the form in which it leaves production is complicated by the presence of a bitter taste.

In this work, yeast was used up to the 10th generation inclusive, similar to the generation numbers directly in production. During the experiment, the initial bitterness of the yeast, with a value of 84.2 BU, was completely eliminated through treatment with a complex of chemical and physical methods. During the production process up to and including the 3rd generation, the number of surviving cells of the treated yeast was 100-98%, but by the 10th generation this figure dropped to 30%. After treating the residual yeast of 4-10 generations with ultrasound, the activity of the yeast cells completely stops. During the experiment, a protein hydrolyzate was obtained, and data on its physicochemical parameters were obtained. The protein content was 61.5%, including the essential amino acid of lysine 9.3%, and fat content was 2.85%.

Keywords: waste, residual yeast, generation, *S. cerevisiae*, vitamins.

In the modern world, one of the pressing problems is the effective use of production waste as secondary resources. Many types of production in our country are accompanied by the generation of waste, which has a negative impact on the environment [1]. One of the byproducts of production is residual yeast generated in the course of beer production, primarily composed of *S. cerevisiae* cells. These cells play a pivotal role in converting sugars present in the wort into ethyl alcohol and carbon dioxide, as well as in the generation of secondary compounds throughout the fermentation stages. [2].

Due to its composition, *S. cerevisiae* yeast can be used as animal feed, having a positive effect on animal health and productivity [3-4]. In addition, the trend towards reducing and stopping the use of antibiotics contributes to the active search for natural compounds that improve the health and productivity of animals [5]. The yeast *S. cerevisiae* can be used in active, inactive and enriched forms [6].Currently, the use of residual yeast formed during the brewing process is widely used as a cheap source of protein, minerals and B vitamins in animal feed. Residual yeast can be supplied as a liquid suspension or in dry form [7].

Nevertheless, a significant issue is linked to the restricted shelf life of residual yeast. Simultaneously, the utilization of cells in their entirely native form may pose complications when fully assimilated within the body [8].

Another noteworthy obstacle hindering the utilization of these byproducts as feed is the apparent bitterness of residual yeast, which arises from the iso-alpha acids formed in hops when added to the wort [9].

To address these challenges, methodologies are employed with the objective of deactivating cell membranes and extending the vitality of yeast cells. This facilitates an enhancement in the concentration of nutritional components and an improvement in the digestibility of cellular substances [10]. In this context, unconventional approaches are applied for the elimination of residual brewer's yeast, specifically employing diverse techniques to compromise the membranes of yeast cells [11].

The purpose of the work is to investigate the properties of residual yeast for use as a secondary resource material.

Materials and methods of research

Materials of research

The material of investigation encompasses residual yeast byproducts derived from a brewery situated in the city of Shymkent. The primary strain of dry yeast employed in beer production is *S.cerevisiae*, constituting a living microorganism characterized as a non-pathogenic, single-celled microscopic fungus. The residual yeast cells undergo separation at the culmination of the bulk fermentation process, with a minor portion designated for re-fermentation and the remainder classified as waste. In the course of beer production, yeast is utilized for up to the 10th generation. Notably, the production of 550 hectoliters of beer results in the generation of approximately 1600 kilograms of residual brewer's yeast.

Methods of research

The moisture content of residual yeast, mass fractions of ash, crude protein and lipids were determined according to GOST 28178-89.

Staining of *S.cerevisiae* cells was carried out using the Gram method [13].

Determination of acidity of residual brewer's yeast.

To extract acidic substances, 10 ml of residual yeast, 1 ml of 3N hydrochloric acid and 20 ml of isooctane were added to a centrifuge flask with a capacity of 50 ml, after shaking on a laboratory shaker for 10 minutes at 1250 rpm, shaken, then centrifuged at 3000 rpm for 4 minutes, kept in the dark for 30 minutes, and then the optical density of the clear extract was measured using a spectrophotometer (Cary-50 dual beam scanning spectrophotometer (Varian)) at a wavelength of 275 nm relative to pure isooctane.

Throughout the course of the study, procedures were implemented to mitigate the bitter taste of the yeast. This involved a sequence of steps, commencing with the washing of the yeast using water, followed by centrifugation for a duration of 5 minutes at a velocity of 3000 revolutions per minute (rpm). Subsequently, homogenization was conducted under a pressure of 20 atmospheres utilizing an ultrasonic homogenizer (HD 410). Following the homogenization process, the yeast underwent immersion in an alkaline solution for a duration of 10 minutes at a temperature of 60 °C. Subsequent to this immersion, neutralization was achieved by employing hydrochloric acid to adjust the pH to 7, and the yeast was subsequently subjected to drying through a freeze-drying process, utilizing a freeze dryer model LGJ-1A-80 (refer to Figure 1).

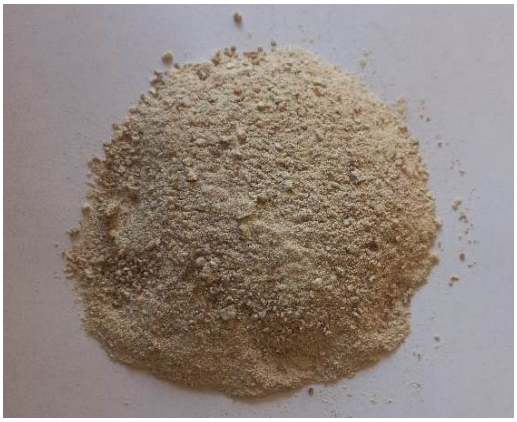


Figure 1 - Driedyeast in a freeze dryer

The content of vitamins and amino acids in residual brewer's yeast was determined using a high-performance liquid chromatograph (Varian ProStar (Varian, Australia).

Results and discussion

In the course of the brewing process, hops are introduced to the wort, imparting a bitter taste to the beer attributed to the presence of alpha and beta isoacids in its composition. Following fermentation, the discarded yeast retains this bitter taste, rendering it unsuitable for utilization as feed for livestock.

During the experimental phase, the initial bitter taste of residual yeast, quantified at 84.2 Bitterness Units (BU), was completely eradicated, resulting in a measure of 0 BU. Post-lyophilization, the integrity of the yeast cells was scrutinized employing a JSM-6490LM scanning electron microscope equipped with an INCA Energy 350 energy-dispersive microanalysis system (refer to Figure 2).

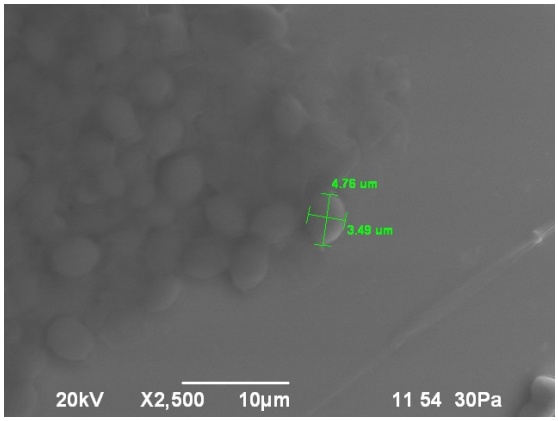


Figure 2 - Appearance of yeast after lyophilization

As can be seen, after processing and drying the residual yeast, the yeast cell membrane was not damaged.

Optical microscope observations showed that residual yeast survived the treatment and remained active afterwards (Figure 3). The number of living yeast cells from the 1st to the 10th generation was studied separately. Living cells in 1 ml of a suspension of treated residual yeast were detected using a Goryaev chamber. If the number of surviving cells after the 1st and 3rd generations of treated yeast was 100-98%, then it can be observed that by the 10th generation this figure dropped to 30%.

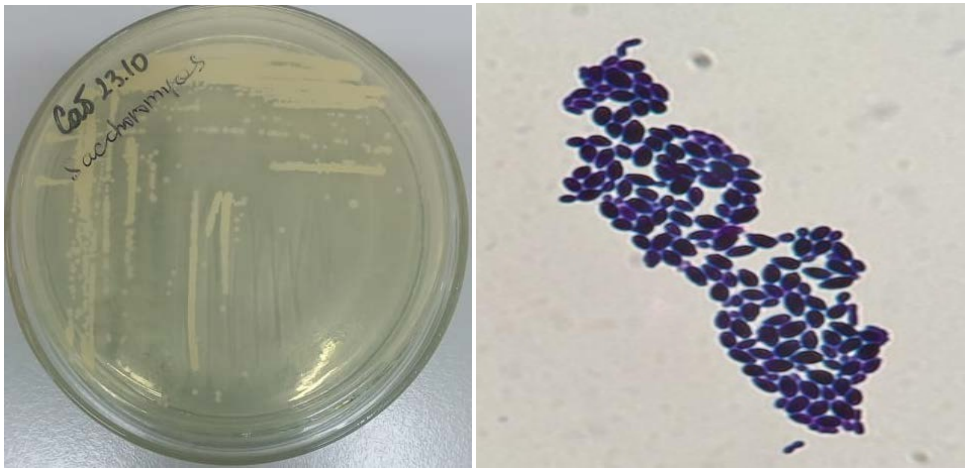


Figure 3- *S.cerevisiae*: a) colonies on Sabouraud agar;b) microphotography (magnification x 1000)

On Sabouraud agar medium, *S.cerevisiae* manifests as diminutive circular colonies exhibiting a white or grayish-white hue, characterized by smooth peripheries, convex topography, and a soft consistency.

Adding live yeast *S.cerevisiae* to the feed ration improves nutrient and nitrogen absorption [13], as this yeast strain accelerates the growth of fibrolytic bacteria in the rumen of animals [14]. In this regard, in the future, the possibilities of using yeast cells of 1-3 generations as a probiotic will be studied. The possibility of using protein hydrolysate as a source of biologically active substances has been studied for yeast cells of 4-10 generations.

To increase the release of intracellular metabolites from generation 4-10 cells by damaging their cell membrane, the ultrasonic disintegration method was used(200W ultrasonic device UP200St). This method allows the release of intracellular components from the cell with the least energy expenditure.

The viability of yeast after using the ultrasonic disintegration method was checked by sowing them on Sabouraud agar medium. As a result, the vital activity of the cells was not observed, which indicates the effectiveness of the method for destroying the cell membrane.

The chemical composition of residual brewer's yeast that has undergone decomposition has been studied, the results are presented in Table 1. According to the results, liquid waste from brewing production should be considered as a valuable secondary raw material, since it contains a sufficient amount of nitrogenous compounds, carbohydrates, fats, minerals and vitamins [15].

Table 1 - Chemical and mineral composition of yeast after ultrasonic disintegration

Indicator name	Content
Mass fraction of protein, %	62,3
Mass fraction of lipid, %	2,7
Sodium, mg /100g	1118
Potassium, mg /100g	8037
Calcium, mg /100g	26,1
Magnesium, mg /100g	259

One of the arguments in favor of processing beer waste into animal feed is its high content of vitamins necessary for the organism. The composition of water-soluble vitamins in brewer's yeast was studied using a Varian ProStar high-performance liquid chromatograph on a reverse-phase column. The results of the study are presented in Table 2. As the number of generations increased, a quantitative change in the content of a number of water-soluble vitamins was observed, while their qualitative composition remained the same.

Table 2 - Vitamin composition of yeast after ultrasonic disintegration

Indicator name	Generation number							Average value
	4	5	6	7	8	9	10	
	Content							
Vitamin B1, mg/kg	1,14	1,12	1,11	1,11	1,08	1,08	1,06	1,1±0,03
Vitamin B2, mg/kg	10,2	10,2	10,5	10,5	11,0	11,0	11,0	10,63±0,37
Vitamin B3, mg/kg	45	45	45	43	43	43	43	43,86±1,07
Vitamin B6, mg/kg	2,5	2,5	2,5	2,6	2,6	2,6	2,6	2,66±0,05
Vitamin B12, mg/kg	0,6	0,6	0,6	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59±0,005

To assess the protein value of the resulting hydrolysate, its amino acid composition was studied on a Varian ProStar high-performance liquid chromatograph on a reverse-phase column. The results of the study are presented in Table 3. As can be seen from the table, the hydrolysate contains all the proteinogenic amino acids necessary for animals.

Table 3 - Amino acid composition of residual brewer's yeast after ultrasonic disintegration

Amino acids	Amino acids, g/100 g dry product							Average value
	generation number							
	4	5	6	7	8	9	10	
Essential amino acid	35,1	34,1	34,9	34,5	35,3	35,5	35,3	34,96±1,54
Cysteine	1,8	1,7	1,8	1,6	1,8	1,9	1,8	1,77±0,1
Histidine	2,8	2,6	2,8	2,7	2,9	2,8	2,8	2,77±0,1
Arginine	4,9	4,9	4,8	4,7	5,0	4,8	4,9	4,85±0,1
Alanin	0,7	0,6	0,8	0,6	0,7	0,7	0,7	0,69±0,07
Asparticacid	0,7	0,7	0,8	0,8	0,6	0,7	0,8	0,73±0,74
Glutamicacid	13,5	13,4	13,5	13,3	13,4	13,5	13,5	13,44±0,08
Serin	1,3	1,2	1,1	1,3	1,3	1,4	1,3	1,27±0,1
Glycine	3,7	3,6	3,6	3,7	3,8	3,8	3,9	3,73±0,11
Tyrosine	5,7	5,4	5,7	5,8	5,8	5,9	5,6	5,7±0,16
Nonessential amino acids	26,6	26,4	26,2	26,2	26,5	26,7	26,8	26,49±0,49
Threonine	5,5	5,5	5,3	5,5	5,4	5,5	5,4	5,44±0,08
Methionine	2,3	2,3	2,2	2,1	2,3	2,3	2,4	2,27±0,1
Lysine	9,3	9,2	9,2	9,3	9,4	9,5	9,5	9,34±0,13
Valin	5,4	5,4	5,3	5,2	5,2	5,3	5,5	5,32±0,11
Phenylalanine	4,1	4,0	4,2	4,1	4,2	4,1	4,0	4,1±0,08

Based on the results of the research, the following stages have been identified in the process of extracting protein hydrolysate from brewer's yeast residues:

- reception of raw materials;
- eliminating the bitterness of brewer's yeast residues;
- ultrasonic treatment;
- drying the hydrolysate in a spray dryer;
- packaging and storage.

The physicochemical characteristics of the proposed product in the form of a protein hydrolysate are given in Table 4.

Table 4 - Physico-chemical characteristics of the product offered in the form of protein hydrolysate

Product	Mass fraction, %			
	moisture	minerals	protein	fat
Proteinhydrolysate	7,5	5,4	61,5	2,85

The protein hydrolysate derived from residual brewer's yeast byproducts may subsequently serve as a comprehensive animal feed, distinguished by its elevated protein content and vitamin composition.

Conclusion

Based on the results obtained, the following conclusions can be drawn: when processing yeast waste, the bitterness of yeast was completely eliminated.When processing and drying yeast residues in a lyophilizer after the 1st and 3rd generations, the survival rate of yeast remained at the level of 100-98%, and after the 10th generation this figure decreased to 30%.After the 4th and 10th generation, when residual yeast is treated with ultrasound, the activity of yeast cells completely stops. The content of individual vitamins changes as the number of generations increases, while the qualitative vitamin composition is maintained.The protein content in the product offered in the form of protein hydrolysis is 61.5%, including the essential amino acid lysine 9.3%

References:

1 Schlabitz C., Lehn D., Volken de Souza C.F. A review of Saccharomyces cerevisiae and the applications of its byproducts in dairy cattle feed: Trends in the use of residual brewer's yeast. *Journal of Cleaner Production,* 2022, 332: 130059 (doi:10.1016/j.jclepro.2021.130059)

2 Maicas S. The Role of Yeasts in Fermentation Processes. *Microorganisms,* 2020, 8: 1142 (doi:10.3390/microorganisms8081142)

3 Pang Y., Zhang H., Wen H., Wan H.,Wu H., ChenY., Li S., Zhang L, Sun X., Li B. and Liu X. Yeast Probiotic and Yeast Products in Enhancing Livestock Feeds Utilization and Performance: An Overview. *Journal Fungi (Basel),* 2022, 8: 1191 (doi:10.3390/jof8111191)

4 Elghandour M. M. Y., Tan Z. L., Abu Hafsa S. H., Adegbeye M. J., Greiner R., Ugbogu E. A., Cedillo Monroy J., Salem A. Z. M. (2020). Saccharomyces cerevisiae as a probiotic feed additive to non and pseudo-ruminant feeding: a review. *Journal ApplMicrobiol,* 2020, 128(3): 658-674 (doi: 10.1111/jam.14416)

5 Alugongo G. M., Xiao J. X., Chung Y. H., Dong S. Z ., Li S. L., Yoon I., Wu Z. H., Cao Z.J. Effects of Saccharomyces cerevisiae fermentation products on dairy calves: Performance and health. *Journal Dairy Science,* 2017, 100(2): 1189-1199 (doi.org/10.3168/jds.2016-11399)

6 Jiang Y., Ogunade I.M., Arriola K.G., Qi M., Vyas D., Staples C.R., Adesogan A.T.(2017). Show more Effects of the dose and viability of *Saccharomyces cerevisiae*. 2. Ruminal fermentation, performance of lactating dairy cows, and correlations between ruminal bacteria abundance and performance measures. *Journal of dairy science,* 2017, 100,(10): 8102-8118 (doi: 10.3168/jds.2016-12371)

7 Mosoni P., Chaucheyras-Durand F., Béra-Maillet C., Forano E. Quantification by real-time PCR of cellulolytic bacteria in the rumen of sheep after supplementation of a forage diet with readily fermentable carbohydrates: effect of a yeast additive. *ApplMicrobiol,* 2007, 103(6): 2676-85 (doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03517.x)

8 Tao Z., Yuan H., Liu M., Liu Q., Zhang S., Liu H., Jiang Y., Huang D., Wang T. Yeast Extract: Characteristics, Production, Applications and Future Perspectives. *Journal Microbiol Biotechnology,* 2023, 33(2):151–166 (doi: 10.4014/jmb.2207.07057)

9 Guedes C.M., Gonçalves D., Rodrigues M.A.M., Dias-da-Silva A. Effects of a Saccharomyces cerevisiae yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows. *Animal Feed Science and Technology,* 2008, 145(s 1–4):27–40 (doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.06.037)

10 Faradzheva E. D., SHahov S. V., Korablin R. V., Pribytkov A. V. (2002). Novye vidy biologicheski aktivnyh dobavok iz vtorichnyh resursov pivovareniya. *Sb. nauch. tr. Voronezh. gos. tekhnol. akad*.,12, 59 – 61.

11 Liu D., Ding L., Sun J., Boussetta N.,Vorobiev E. Yeast cell disruption strategies for recovery of intracellular bio-active compounds — A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies,* 2016, 36:181-192 (doi:10.1016/j.ifset.2016.06.017)

12 GOST - 28178-87. Fodder yeast. Test methods. (https://docs.cntd.ru/document/1200024383).

13Eremina I.A., Kriger O.V. *Laboratornyj praktikum po mikrobiologii. Uchebnoe posobie.Kemerovskij tehnologicheskij institute pishhevoj promyshlennosti.* Kemerovo, 2005.

14 Bitencourt L.L., Silva J.R.M., de Oliveira B.M.L., Dias Júnior G.S.,LopesF., Siécola Júnior S., Zacaroni O., de F., Pereira M.N. Diet digestibility and performance of dairy cows supplemented with live yeast. *Scienta Agricola,* 2011, 68: 301-307 (doi.org/10.1590/S0103-90162011000300005)

15 Mosoni P.,Chaucheyras-DurandF.,Béra-MailletC.,ForanoE. Quantification by real-time PCR of cellulolytic bacteria in the rumen of sheep after supplementation of a forage diet with readily fermentable carbohydrates: effect of a yeast additive. *J. Appl.Microbiol,* 2007, 103: 2676–2685 (doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03517.x.)

16 Mahneva, E. YU., Pavlov I. N. (2013). Perspektivy ispol'zovaniya i ocenka pivnyh drozhzhej. *Bijskij tekhnologicheskij institut (filial) Altajskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta im. I. I. Polzunova*, g. Bijsk : sb. tr. konf., 489 – 493.

Г.М. КАЛДЫБЕКОВА[1*], Ш.Н. АХМЕТСАДЫКОВА[2],
А.А. САПАРБЕКОВА[1], М. ВИНЦЕКОВИЧ [3]
[1]М. Әуезов атындағы Оңтүстік-Қазақстан университеті, Шымкент, Қазақстан
[2]Қазақ мал шаруашылығы және жемшөп өндірісі ғылыми зерттеу институты, Алматы, Казахстан
[3] Загреб Университеті, Загреб, Хорватия
*e-mail:freelife.1986@mail.ru

АЗЫҚТЫҚ ҚОСПА РЕТІНДЕ ҚОЛДАНУҒА АРНАЛҒАН АҚУЫЗ ГИДОЛИЗАТЫН ҚАЛДЫҚ СЫРА АШЫТҚЫЛАРЫНАН АЛУ

Түйін

Зерттеу нысаны ретінде Шымкент қаласында орналасқан сыра қайнату зауытының қалдық ашытқылары қолданылды. *Saccharomyces cerevisiae* ашытқы түрлерінен өңделіп шығатын қалдық мөлшері, бүгінгі таңда, сыра өндірісінде екінші орынға ие. Бір дал сыра қайнату үшін, орташа есеппен 3 кг қалдық ашытқылары түзіледі, ал заманауи сыра қайнату зауыттардың көлеміне байланысты бұл қалдық бір айда жүздеген тоннаға дейін жетеді. Бұл қалдықты сақтау мерзімі өте қысқа, ал жазғы уақыттың ыстығына байланысты қосымша қысқарады. Мұнда туындап тұрған мәселе, тұтынушылық сұранысты қанағаттандыру үшін, жазғы уақытта өндіріс қуаттылығы жоғарлайды. Қалдық сыра ашытқыларын, тікелей өндірістен шыққан күйінде малға азық ретінде қолдануда, оның өткір жағымсыз дәміне байланысты күрделене түсті.

Жұмыста 10-шы генерацияға дейінга ашытқылар қолданылды, тікелей өндірістің генерация нөміріне сәйкес. Зерттеу барысында қалдық сыра ашытқылардың бастапқы өткір дәмінің мәні 84,2 BU болды, оны химиялық және физикалық әдістермен кешенді өндеу арқылы толығымен жойылды. Өндіріс орындарындағы 3-ші генерацияға дейінгі өнделген ашытқы жасушалардың өміршеңдігі 100-98% құрайды, дегенімен 10-шы генерацияға дейін бұл көрсеткіш 30%-ға дейін түседі. 4-10 генерациядан кейінгі қалдық ашытқыларды ультрадыбыспен өңдегеннен кейін, жасушалардың белсенділігі толығымен тоқтайды. Зерттеу барысында ақуыз гидролизаты алынды және оның физика-химиялық көрсеткіштері туралы мәліметтер алынды: ақуыз мөлшері 61,5%, сонын ішінде алмастырылмайтын амин қышқылы 9,3%, май мөлшері 2,85 %.

Кілтті сөздер: қалдықтар, қалдық аштықылар, генерация, *S. cerevisiae*, дәрумендер.

МРНТИ: 62.09.99

Г.М. КАЛДЫБЕКОВА[1*], Ш.Н. АХМЕТСАДЫКОВА[2],
А.А. САПАРБЕКОВА[1], М. ВИНЦЕКОВИЧ [3]
[1]Южно-Казахстанский университет им. М. Ауэзова, Шымкент, Казахстан
[2]Казахский научно-исследовательский институт животноводства и кормопроизводства, Алматы, Казахстан
[3] Университет Загреб, Загреб, Хорватия
*e-mail:freelife.1986@mail.ru

ПОЛУЧЕНИЕ БЕЛКОВОГО ГИДРОЛИЗАТА ИЗ ОСТАТОЧНЫХ ПИВНЫХ ДРОЖЖЕЙ ДЛЯ ПРИМЕНЕНИЯ В КАЧЕСТВЕ КОРМОВОЙ ДОБАВКИ

doi:10.53729/MV-AS.2024.01.15

Аннотация

В качестве объекта исследования были использованы отходы дрожжей пивоваренного завода, расположенного в городе Шымкент. Количество производимых отходов из дрожжей вида *Saccharomyces cerevisiae* на сегодняшний день занимают второе место в производстве пива. При производстве одного дала пива, в среднем, образуется около 3 кг остаточных дрожжей, что, при современных мощностях пивоваренных заводов, сотни тонн отходов в месяц. Эти отходы имеют

малый срок хранения, который в летний период дополнительно сокращается из-за жары. Проблема усугубляется тем, что для удовлетворения потребительского спроса летом производители наращивают производство. Применение отработанных дрожжей в качестве корма для животных в том виде, в каком они выходят с производства, осложнено наличием у них горького вкуса.

В работе использовались дрожжи до 10-й генерации включительно, аналогично номерам генераций непосредственно на производстве. В ходе эксперимента начальную горечь дрожжей, в значении 84,2 BU, удалось полностью устранить путем обработки комплексом химических и физических методов. В процессе производства до 3-й генерации включительно количество выживших клеток обработанных дрожжей составляло 100–98%, однако к 10-й генерации этот показатель снизился до 30%. После обработки остаточных дрожжей 4–10 генераций ультразвуком активность дрожжевых клеток полностью останавливается. В ходе эксперимента получен белковый гидролизат, и данные о его физико-химических показателях: содержание белка составило 61,5%, том числе незаменимой аминокислоты лизина - 9,3%, содержание жира - 2,85%.

Ключевые слова: отходы, остаточные дрожжи, генерация, *S.cerevisiae*, витамины.

В настоящее время одной из актуальных проблем всего мира является использование отходов спиртового производства в качестве вторичного ресурсного материала. Отходы многих производств нашей страны оказывают негативное воздействие на окружающую среду[1]. Одним из видов таких отходов являются остаточные пивные дрожжи, образующиеся в процессе производства пива и состоящие в основном из клеток *S. cerevisiae*, отвечающих за трансформацию содержащихся в сусле сахаров в этиловый спирт, углекислый газ и образование вторичных соединений на стадиях брожения [2].

Благодаря своему составу дрожжи *S. cerevisiae* используются в качестве корма для животных, что положительно влияет на здоровье скота и, соответственно, на продуктивность [3-4]. Кроме того, тенденция к сокращению и прекращению использования антибиотиков способствует активному поиску природных соединений, улучшающих здоровье и продуктивность животных [5].*S. cerevisiae* можно использовать в активной, неактивной и обогащенной форме [6].В настоящее время известно и широко применяется использование остаточных дрожжей, образующихся в процессе пивоварения, в качестве дешевого источника белка, минеральных веществ и витаминов группы Вв кормах для животных. Остаточные дрожжи могут поставляться в виде жидкой суспензии или в сушеном виде [7].

Однако серьезным недостатком использования остаточных пивных дрожжей является то, что они имеют малый срок хранения, и в то же время использование клеток целиком в нативном виде может приводить к некоторым осложнениям при их полном усвоении в организме [8].

Другой важной проблемой, препятствующей использованию этих отходов в качестве корма, является ощутимая горечь остаточных дрожжей, возникающая из-за образующихся в хмеле изо-альфа кислот при добавлении в сусло [9].

Для устранения указанных недостатков применяют методы, вызывающие инактивацию клеточной мембраны и останавливающие жизнь клеток, что увеличивает количество питательных компонентов в запасе и увеличивает усвояемость клеточных веществ [10]. В связи с этим для удаления остаточных пивных дрожжей применяют нетрадиционные методы, в частности, различные методы повреждения мембран дрожжевых клеток [11].

Цель работы – исследовать свойства остаточных дрожжей для использования в качестве вторичного ресурсного материала.

Материалы и методы исследования

Материалы исследования

Материал исследования – остаточные дрожжевые отходы пивоваренного завода, расположенного в городе Шымкент. В основном при производстве пива используются

сухие дрожжи *S. cerevisiae*. Остаточные дрожжевые клетки отделяются в конце процесса массового брожения. Небольшое их количество используется для повторного брожения, а остальная часть являются отходами. При производстве пива дрожжи используются до 10-ой генерации. При приготовлении 550 дал пива за один производственный цикл образуется около 1600 кг остаточных пивных дрожжей.

Методы исследования

Влажность остаточных дрожжей, массовые доли золы, сырого протеина и липидов определяли по ГОСТ 28178-89[12].

Окрашивание клеток *S. cerevisiae*проводилось по методу Грамма [13].

Определение кислотности остаточных пивных дрожжей.

Для извлечения кислых веществ в центрифужную колбу емкостью 50 мл добавляли 10 мл остаточных дрожжей, 1 мл 3н. соляной кислоты и 20 мл изооктана, после встряхивания на лабораторном шейкере в течение10 мин при 1250 об/мин центрифугировали при 3000 об/мин в течение 4 минут, выдерживали 30 минут в темноте, а затем измеряли оптическую плотность прозрачного экстракта на спектрофотометре (двухлучевой сканирующий спектрофотометр Cary-50 (Varian)) при длине волны 275 нм относительно чистого изооктана.

В процессе работы проводилась обработка с целью удаления горького вкуса у дрожжей. Для этого дрожжи промывались водой и центрифугировались в течение 5 минут со скоростью 3000 об/мин. Затем проводили их гомогенизацию при 20 атм. (ультразвуковой гомогенизатор HD 410). После гомогенизации дрожжи выдерживали в щелочном растворе в течение 10 минут при температуре +60˚С, нейтрализовали соляной кислотой до pH 7 и высушивали в лиофильной сушилке (лиофильная сушка LGJ-1A-80) (рисунок 1).

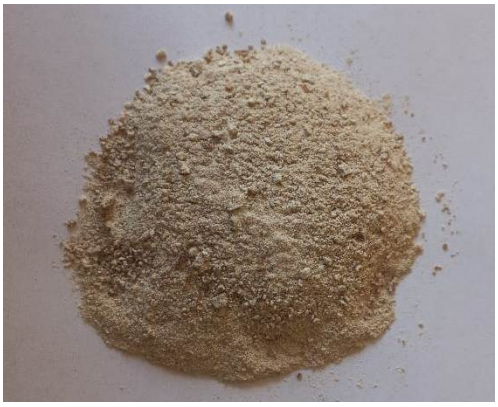


Рисунок 1 - Дрожжи, высушенные в лиофильной сушилке

Содержание витаминов и аминокислот в остаточных пивных дрожжах определяли на высокоэффективном жидкостном хроматографе (Varian ProStar (Varian, Австралия).

Результаты и обсуждение

В процессе пивоварения в сусло добавляют хмель, который, благодаря присутствующим в его составе альфа- и бета-изокислотам, придает пиву горьковатый привкус. После брожения отбрасываемые дрожжи сохраняют вкус горечи, что делает их непригодными для применения в качестве корма для сельскохозяйственных животных.

В ходе эксперимента горький вкус остаточных дрожжей, при начальном значении 84,2 BU, удалось полностью устранить (0 BU) .

После лиофилизации целостность дрожжевых клеток исследовали с помощью сканирующего электронного микроскопа JSM-6490LM с системой энергодисперсионного микроанализа INCA Energy 350 (рисунок2).

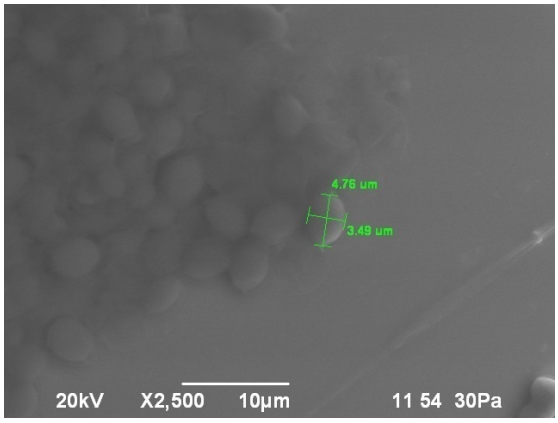


Рисунок 2- Внешний вид дрожжей после лиофилизации

Как видно, после обработки и высушивания остаточных дрожжей мембрана дрожжевых клеток не пострадала.

Микроскопические исследования показали, что остаточные дрожжи выживают в процессе обработки и сохраняют активность (рисунок3). Численность живых клеток дрожжей с 1-й по 10-ю генерацию изучали отдельно. Живые клетки в 1 мл суспензии обработанных остаточных дрожжей выявляли с помощью камеры Горяева. Если количество выживших клеток после 1-й и 3-й генерации обработанных дрожжей составляло 100-98%, то можно наблюдать, что к 10-й генерации этот показатель снизился до 30%.

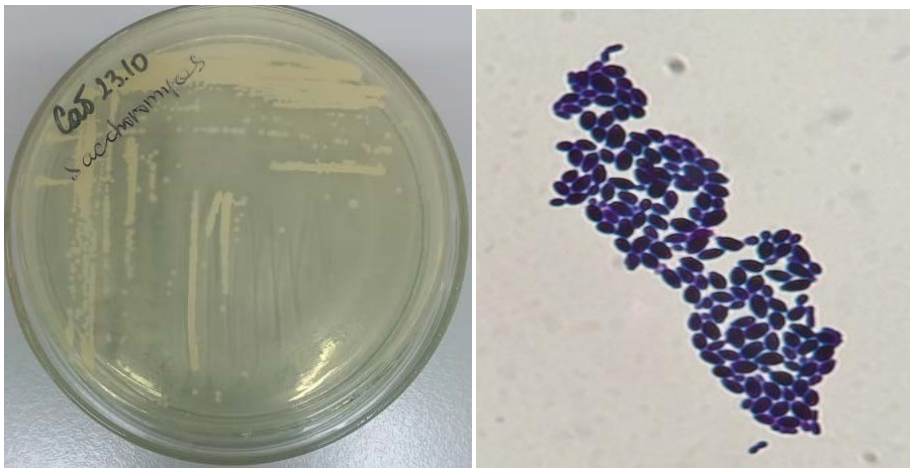


Рисунок 3 - *S.cerevisiae:* а) колонии на агаре с Сабуро; б) микрофотография(увл. х 1000)

На агаре Сабуро *S.cerevisiae* образует мелкие круглые колонии белого или серовато-белого цвета с ровными краями, выпуклые, мягкой консистенции.

Добавление в кормовой рацион живых дрожжей *S.cerevisiae* способствует улучшению усвоения питательных веществ и азота [14], поскольку данный штамм дрожжей ускоряет рост фибролитических бактерий в рубце животных[15]. В связи с этим, в будущем будет проведено изучение возможностей использования клеток дрожжей 1-3 генераций в качестве пробиотика. Возможность использования в качестве источника биологически активных веществ, то есть гидролизата белка, изучена для клеток дрожжей 4-10 генераций.

Для увеличения высвобожденияв внутриклеточных метаболитов клеток 4-10 генераций путем повреждения их клеточной мембраны применялся метод ультразвуковой

дезинтеграции (ультразвуковое устройство UP200St мощностью 200 Вт). Этот метод позволяет высвободить внутриклеточные компоненты из клетки с наименьшими затратами энергии.

Жизнеспособность дрожжей после применения метода ультразвуковой дезинтеграции проверяли путем посеваих на агаризованную среду Сабуро. В результате жизненная активность клеток не наблюдалось, что указывает на результативность метода для разрушения клеточной мембраны.

Изучен химический состав остаточных пивных дрожжей, подвергшихся распаду, результаты представлены в таблице 1. Согласно результатам жидкие отходы пивоваренного производства следует рассматривать как ценное вторичное сырье, поскольку они содержат достаточное количество азотистых соединений, углеводов, жиров, минеральных веществ и витаминов [16].

Одним из аргументов в пользу переработки отходов пивного производства в корма для животных является большое содержание в них необходимых для организма витаминов.

Таблица 1 - Химический и минеральный состав дрожжей после ультразвуковой дезинтеграции

Наименование показателя	Содержание
Массовая доля белка, %	62,3
Массовая доля липида, %	2,7
Натрий, мг/100г	1118
Калий, мг/100г	8037
Кальций, мг/100г	26,1
Магний, мг/100г	259

Исследование состава водорастворимых витаминов в пивных дрожжах проводилось на высокоэффективном жидкостном хроматографе Varian ProStar на колонке с обращенной фазой. Результаты исследования представлены в таблице 2.По мере увеличения числа генераций наблюдалось количественное изменение содержания ряда водорастворимых витаминов, при этом их качественный состав оставался прежним.

Таблица 2 - Витаминный состав дрожжей после ультразвуковой дезинтеграции

Наименование показателя	Номер генерации							Среднее значение
	4	5	6	7	8	9	10	
	содержание							
Витамин В1, мг/кг	1,14	1,12	1,11	1,11	1,08	1,08	1,06	1,1±0,03
Витамин В2, мг/кг	10,2	10,2	10,5	10,5	11,0	11,0	11,0	10,63±0,37
Витамин В, мг/кг	45	45	45	43	43	43	43	43,86±1,07
Витамин В6, мг/кг	2,5	2,5	2,5	2,6	2,6	2,6	2,6	2,66±0,05
Витамин В12, мг/кг	0,6	0,6	0,6	0,59	0,59	0,59	0,59	0,59±0,005

Для оценки белковой ценности полученного гидролизата провели исследование его аминокислотного состава на высокоэффективном жидкостном хроматографе Varian ProStar на колонке с обращенной фазой. Результаты исследования представлены в таблице 3. Как видно из таблицы, гидролизат содержит все необходимые для животных протеиногенные аминокислоты.

Таблица 3 - Аминокислотный состав остаточных дрожжей после дезинтеграции

Аминокислоты	Аминкислоты, г/ 100 г сухого продукта							Среднее значение
	номер генерации							
	4	5	6	7	8	9	10	
Незаменимые АК	35,1	34,1	34,9	34,5	35,3	35,5	35,3	34,96±1,54
Цистин	1,8	1,7	1,8	1,6	1,8	1,9	1,8	1,77±0,1
Гистидин	2,8	2,6	2,8	2,7	2,9	2,8	2,8	2,77±0,1
Аргинин	4,9	4,9	4,8	4,7	5,0	4,8	4,9	4,85±0,1
Аланин	0,7	0,6	0,8	0,6	0,7	0,7	0,7	0,69±0,07
Аспарагиновая килота	0,7	0,7	0,8	0,8	0,6	0,7	0,8	0,73±0,74
Глутаминовая кислота	13,5	13,4	13,5	13,3	13,4	13,5	13,5	13,44±0,08
Серин	1,3	1,2	1,1	1,3	1,3	1,4	1,3	1,27±0,1
Глицин	3,7	3,6	3,6	3,7	3,8	3,8	3,9	3,73±0,11
Тирозин	5,7	5,4	5,7	5,8	5,8	5,9	5,6	5,7±0,16
Заменимые АК	26,6	26,4	26,2	26,2	26,5	26,7	26,8	26,49±0,49
Треонин	5,5	5,5	5,3	5,5	5,4	5,5	5,4	5,44±0,08
Метионин	2,3	2,3	2,2	2,1	2,3	2,3	2,4	2,27±0,1
Лизин	9,3	9,2	9,2	9,3	9,4	9,5	9,5	9,34±0,13
Валин	5,4	5,4	5,3	5,2	5,2	5,3	5,5	5,32±0,11
Фенилаланин	4,1	4,0	4,2	4,1	4,2	4,1	4,0	4,1±0,08

По результатам исследованийдляпроцесса извлечения белкового гидролизата из остатков пивных дрожжей определены следующие этапы:

- прием сырья;
- устранение горечи остатков пивных дрожжей;
- ультразвуковая обработка;
- сушка гидролизата в распылительной сушилке;
- упаковка и хранение.

Физико-химические показатели предлагаемого продукта в виде белкового гидролизата, полученного по предлагаемой технологии, приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Физико--химические показатели продукта, предлагаемого в виде белкового гидролизата

Продукт	Массовая доля, %			
	влажность	минеральные вещества	белок	жир
Белковой гидролизат	7,5	5,4	61,5	2,85

Белковый гидролизат, полученный из остатков пивных дрожжей, в дальнейшем может быть использован в качестве полноценного корма для животных, богатого белком и витаминами.

Заключение

На основании полученных результатов можно сделать следующие выводы: при переработке отходов дрожжей горечь дрожжей удалось полностью устранить.При обработке и сушке остатков дрожжей в лиофилизаторе после 1-й и 3-й генераций выживаемость дрожжей сохранялась на уровне 100-98%, а после 10-й генерации этот показатель снизился до 30%.После 4 и 10 генераций при обработке остаточных дрожжей ультразвуком активность дрожжевых клеток полностью останавливается. Содержание отдельных витаминов по мере роста числа генераций изменяется, при этом качественный витаминный состав сохраняется.Содержание белка в продукте, предлагаемом в виде гидролиза белка, составляет 61,5%, в том числе незаменимой аминокислоты лизина - 9,3%.

Литература:

1 Schlabitz C., Lehn D., Volken de Souza C.F. A review of Saccharomyces cerevisiae and the applications of its byproducts in dairy cattle feed: Trends in the use of residual brewer's yeast. *Journal of Cleaner Production,* 2022, 332: 130059 (doi:10.1016/j.jclepro.2021.130059)

2 Maicas S. The Role of Yeasts in Fermentation Processes. *Microorganisms,* 2020, 8: 1142 (doi:10.3390/microorganisms8081142).

3 Pang Y., Zhang H., Wen H., Wan H.,Wu H., ChenY., Li S., Zhang L, Sun X., Li B. and Liu X. Yeast Probiotic and Yeast Products in Enhancing Livestock Feeds Utilization and Performance: An Overview. *Journal Fungi (Basel),* 2022, 8: 1191 (doi:10.3390/jof8111191)

4 Elghandour M. M. Y., Tan Z. L., Abu Hafsa S. H., Adegbeye M. J., Greiner R., Ugbogu E. A., Cedillo Monroy J., Salem A. Z. M. (2020). Saccharomyces cerevisiae as a probiotic feed additive to non and pseudo-ruminant feeding: a review. *Journal ApplMicrobiol,* 2020, 128(3): 658-674 (doi: 10.1111/jam.14416)

5 Alugongo G. M., Xiao J. X., Chung Y. H., Dong S. Z., Li S. L., Yoon I.,Wu Z. H., Cao Z.J. Effects of Saccharomyces cerevisiae fermentation products on dairy calves: Performance and health. *Journal Dairy Science,* 2017, 100(2): 1189-1199 (doi.org/10.3168/jds.2016-11399)

6 Jiang Y., Ogunade I.M., Arriola K.G., Qi M., Vyas D., Staples C.R., Adesogan A.T.(2017). Show more Effects of the dose and viability of *Saccharomyces cerevisiae*. 2. Ruminal fermentation, performance of lactating dairy cows, and correlations between ruminal bacteria abundance and performance measures. *Journal of dairy science,* 2017, 100,(10): 8102-8118 (doi: 10.3168/jds.2016-12371)

7 Mosoni P., Chaucheyras-Durand F., Béra-Maillet C., Forano E. Quantification by real-time PCR of cellulolytic bacteria in the rumen of sheep after supplementation of a forage diet with readily fermentable carbohydrates: effect of a yeast additive. *ApplMicrobiol,* 2007, 103(6): 2676-85 (doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03517.x)

8 Tao Z., Yuan H., Liu M., Liu Q., Zhang S., Liu H., Jiang Y., Huang D., Wang T. Yeast Extract: Characteristics, Production, Applications and Future Perspectives. *Journal Microbiol Biotechnology,* 2023, 33(2): 151–166 (doi: 10.4014/jmb.2207.07057)

9 Guedes C.M., Gonçalves D., Rodrigues M.A.M., Dias-da-Silva A. Effects of a Saccharomyces cerevisiae yeast on ruminal fermentation and fibre degradation of maize silages in cows. *Animal Feed Science and Technology,* 2008, 145(s 1–4): 27–40 (doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.06.037)

10 Фараджева Е. Д., Шахов С. В., Кораблин Р. В., Прибытков А. В.Новые виды биологически активных добавок из вторичных ресурсов пивоварения. *Сб. науч. тр. Воронеж. гос. технол. акад*., 2002, 59 – 61.

11 Liu D., Ding L., Sun J., Boussetta N.,Vorobiev E. Yeast cell disruption strategies for recovery of intracellular bio-active compounds — A review. *Innovative Food Science & Emerging Technologies,* 2016, 36:181-192 (doi:10.1016/j.ifset.2016.06.017)

12 ГОСТ - 28178-89. Кормовые дрожжи. Методы испытаний. (https://docs.cntd.ru/document/1200024383)

13 Еремина И.А., О.В. Кригер. *Лабораторный практикум по микробиологии. Учебное пособие. Кемеровский технологический институт пищевой промышленности.* Кемерово, 2005.

14 Bitencourt L.L., Silva J.R.M., de Oliveira B.M.L., Dias Júnior G.S.,LopesF., Siécola Júnior S., Zacaroni O., de F., Pereira M.N. Diet digestibility and performance of dairy cows supplemented with live yeast. *Scienta Agricola,* 2011, 68: 301-307 (doi.org/10.1590/S0103-90162011000300005)

15 Mosoni P.,Chaucheyras-DurandF.,Béra-MailletC.,ForanoE. Quantification by real-time PCR of cellulolytic bacteria in the rumen of sheep after supplementation of a forage diet with readily fermentable carbohydrates: effect of a yeast additive. *J. Appl.Microbiol,* 2007, 103: 2676–2685 (doi: 10.1111/j.1365-2672.2007.03517.x.)

16 Махнева, Е. Ю., Павлов И. Н. Перспективы использования и оценка пивных дрожжей. *Бийский технологический институт (филиал) Алтайского государственного технического университета им. И. И. Ползунова, г. Бийск : сб. тр. конф.*, 2013, 489 – 493.

ПРАВИЛА
издания журнала
«МИКРОБИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ВИРУСОЛОГИЯ»

Журнал публикует статьи фундаментального и прикладного характера. Материалы должны отражать результаты научных исследований и практических достижений в области микробиологии, вирусологии, биотехнологии и экологии.

Оплата за публикацию статьи – 30 000 тенге.

Представленные для опубликования материалы должны удовлетворять следующим требованиям:

Содержать результаты оригинальных научных исследований по актуальным проблемам в области микробиологии, вирусологии, биотехнологии и экологии, ранее не опубликованные и не предназначенные к публикации в других изданиях.

Все статьи принимаются и публикуются одновременно на двух языках (казахском и английском, или русском и английском).

Статьи принимаются в электронном виде (в формате .doc, .docx либо .rtf) через профиль автора на сайте imv-journal.kz.

При невыполнении формальных требований, статья к публикации не принимается.

Статьи, поступившие в редакцию журнала, могут быть проверены с помощью системы Антиплагиат. В случае, если результат проверки выявляет некорректно оформленные заимствования, статья может быть отклонена.

При выполнении формальных требований, статья направляется на рассмотрение членам редколлегии, имеющим ученую степень в научной области, соответствующей содержанию статьи. При этом редакция определяет соответствие статьи профилю журнала, требованиям к оформлению. При соответствии вышеуказанным требованиям направляет ее на рецензирование стороннему специалисту, обладающему высокими профессиональными знаниями и опытом работы по конкретному научному направлению, имеющему ученую степень PhD, доктора или кандидата наук.

К рецензированию не привлекаются специалисты, работающие в одном отделе или департаменте учреждения, где выполнена работа. Рецензент выносит решение о возможности опубликования

Окончательное решение о целесообразности публикации принимается Редакционной коллегией в соответствии с рекомендациями рецензентов.

После принятия Редакционной коллегией решения о допуске статьи к публикации ответственный редактор журнала информирует об этом автора и указывает сроки публикации.

1. Присланные материалы должны содержать:

–Материалы статьи (файлу со статьей присваивается имя по фамилии первого автора).

–Сведения об авторах (фамилия, имя, отчество, ученая степень, звание, должность, место работы, контактные телефоны, электронные адреса (e-mail), идентификационный номер (ORCID).

–Отсканированное сопроводительное письмо.

2. Статья должна содержать:

–МРНТИ – межгосударственный рубрикатор научно-технической информации

–Фамилии авторов статьи (прописными буквами, инициалы следуют перед фамилией);

–Название организации, в которой была выполнена работа и город (строчными буквами);

–Название статьи (прописными буквами полужирным шрифтом);

–Аннотация (в начале статьи перед основным текстом);

–Ключевые слова (не более 5);

–Введение (без заголовка), в котором кратко излагается актуальность и новизна рассматриваемого вопроса;

–Основной текст (включает материалы и методы, результаты и обсуждение, заключение, содержащее краткое изложение основных результатов работы);

–Список литературы (оформляется с указанием фамилии и инициалов автора, полного названия книги (статьи), места издания, названия журнала (года, тома, номера, страницы).

3. Размер одной статьи не должен превышать 15 машинописных страниц (статьи обзорного характера – до 30 стр.), включая аннотацию, таблицы, рисунки, список литературы. В том же файле следует представлять резюме на трех языках (казахском, русском и английском).

4. Статья должна быть набрана на компьютере в редакторе MS Office Word, шрифтом Times New Roman 12 пт, с пробелом между строк 1 компьютерный интервал, поля – верхнее и нижнее 2 см, левое 3 см, правое 1,5 см. Количество рисунков – не более пяти. Аннотация, таблицы, рисунки, список литературы – 11 пт через 1 компьютерный интервал. Ссылки на литературные источники даются цифрами в прямых скобках по мере упоминания и должны быть идентичными на двух языках. Необходимо тщательно следить за точным соответствием обозначений в тексте и на таблицах, рисунках и др. При изложении экспериментального материала должна быть использована международная система единиц (СИ).

5. После статьи на английском языке приводится список литературы в романском алфавите (References) для SCOPUS и других БАЗ ДАННЫХ полностью отдельным блоком, повторяя список литературы к русскоязычной части, независимо от того, имеются или нет в нем иностранные источники. Если в списке есть ссылки на иностранные публикации, они полностью повторяются в списке, готовящемся в романском алфавите (латиница).

В References не используются разделительные знаки («//» и «–»). Название источника и выходные данные отделяются от авторов типом шрифта, чаще всего курсивом, точкой или запятой.

На сайте http://www.translit.ru/ можно бесплатно воспользоваться программой транслитерации русского текста в латиницу, используя различные системы. Программа очень простая, ее легко использовать для готовых ссылок. К примеру, выбрав вариант системы Библиотеки Конгресса США (LC), получаем изображение всех буквенных соответствий. Вставляем в специальное поле весь текст библиографии на русском языке и нажимаем кнопку «в транслит».

6. Статьи, не соответствующие Правилам, не публикуются и не возвращаются автору. Редакция оставляет за собой право производить сокращения и правки статей.

ISSN 2304-585X

