



ISSN 2304-585X

ИНДЕКС 76057

2021

Microbiology and virology

МИКРОБИОЛОГИЯ ЖӘНЕ



ВИРУСОЛОГИЯ

№1-2(32-33)

«Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы»
Жауапкершілігі шектеулі серіктестігі

МИКРОБИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ВИРУСОЛОГИЯ

Товарищество с ограниченной ответственностью
«Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии»

№ 1-2 (32-33)

ВЫХОДИТ 4 РАЗА В ГОД

АЛМАТЫ
2021

ISSN 2304-585 X

МИКРОБИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ВИРУСОЛОГИЯ

№ 1-2(32-33)/2021

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 г.

УЧРЕДИТЕЛЬ И ИЗДАТЕЛЬ

© ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии»

Редакционная коллегия

Саданов А.К. – доктор биологических наук, профессор, академик (главный редактор)
 Айткельдиева С.А. – доктор биологических наук (заместитель главного редактора)
 Балгимбаева А.С. – кандидат биологических наук (ответственный секретарь)
 Dr. Azliati Azizan (USA) – PhD
 Березин В.Э. – доктор биологических наук, профессор, член - корреспондент НАН РК
 Богоявленский А.П. – доктор биологических наук, профессор
 Гаврилова Н.Н. – 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
 Саубенова М.Г. – доктор биологических наук, профессор
 Смирнова И.Э. – доктор биологических наук

АДРЕС РЕДАКЦИИ 050010, г. Алматы, ул. Богенбай батыра, 105, тел.+7(727) 291-84-97, 291-97-36
 E-mail: imv_rk@list.ru

ПЕЧАТЬ

ТОО «Print Market.kz»

Адрес: г. Алматы, ул. Казыбек би, 125

Тел.: 8 (727) 328-14-67, 225-00-68

Территория распространения –

Республика Казахстан

Периодичность – 4 номера в год

Тираж 500 экземпляров

МИКРОБИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ВИРУСОЛОГИЯ

СОДЕРЖАНИЕ**ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ**

А.Ж. Алыбаева, М.Г. Саубенова, Е.А. Олейникова, А.В. Чижаева, А.А. Айтжанова, А.А. Амангелді, И.Ю. Потороко
 Молочнокислые бактерии против антибиотикорезистентных патогенов..... 4

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

С.Б. Байсейіт, А.М. Баймухаметова, Г.В. Лукманова, Н.Т. Сактаганов, Д.А. Исмагулова, Т.И. Глебова, Н.Г. Кливлеева, Е.И. Исаева
 Вирусы гриппа А и В, циркулирующие на территории южного Казахстана в эпидемический период 2020-2021 гг..... 20

И.Э. Смирнова, Э.Р. Файзулина, Л.Г. Татаркина, Г.Б. Баймаханова, Г.А. Спанкулова, А.Е. Елубаева
 Фосфатмобилизующие бактерии из почв Алматинской области Казахстана..... 27

С.А. Сулейменова, Е.Т. Касымбеков, К.О. Карамендин, А.И. Кыдырманов, С. Гудман
 Характеристика микробиома основных биотопов каспийского тюленя..... 37

Н.Н. Гаврилова, И.А. Ратникова, А.В. Алимбетова, С.Э. Оразымбет, Л.А. Кошелева, Р.Ж. Каптагай, О.А. Беликова, В.Г. Мельников
 Изучение эффективности пробиотика, предназначенного против бруцелллёза, при профилактике и лечении колибактериоза, сальмонелллёза и пастерелллёза в опыте на белых мышях..... 46

МАЗМҰНЫ

ШОЛЫМА МАҚАЛАЛАР

А.Ж. Алыбаева, М.Г. Саубенова, Е.А. Олейникова,
А.В. Чижаева, А.А. Айтжанова, А.А. Амангелді,
И.Ю. Потороко
Молочнокислые бактерии против
антибиотикорезистентных патогенов 12

БІРТУМА МАҚАЛАЛАР

С.Б. Байсейіт, А.М. Баймухаметова, Г.В. Лукманова,
Н.Т. Сактаганов, Д.А. Исмагулова, Т.И. Глебова,
Н.Г. Кливлеева, Е.И. Исаева
2020-2021 жылдар эпидемиялық кезеңдегі оңтүстік
Қазақстан аумағындағы А және В тұмау вирустар
айналымы..... 23

И.Э. Смирнова, Э.Р. Файзулина, Л.Г. Татаркина,
Г.Б. Баймаханова, Г.А. Спанкулова, А. Е. Елубаева
Қазақстанның Алматы облысының топырағынан
алынған фосфатмобилиздеуші бактериялар..... 32

С.А. Сулейменова, Е.Т. Қасымбеков,
К.О. Карамендин, А.И. Қыдырманов, С. Гудман
Каспий итбалықтарының негізгі биотоптарының
микробиомына сипаттама..... 41

Н.Н. Гаврилова, И.А. Ратникова, А.В. Алимбетова,
С.Э. Оразымбет, Л.А. Кошелева, Р.Ж. Каптагай,
О.А. Беликова, В.Г. Мельников
Ақ тышқандар тәжірибесінде пастереллез,
сальмонеллезге қарсы, колибактериозды емдеу және
алдын-алу кезінде тағайындалған пробиотиктің
тиімділігін зерттеу..... 53

CONTENTS

REVIEW RESEARCH PAPERS

A.ZH. Alybayeva, M.G. Saubenova, E.A. Oleinikova,
A.V. Chizhayeva, A.A. Aitzhanova, A.A. Amangeldi,
I.Yu. Potoroko
Lactic bacteria against antibiotic-resistant pathogens..... 12

ORIGINAL RESEARCH PAPERS

S.B.Baiseit, A.M. Baimukhametova, G.V. Lukmanova,
N.T. Saktaganov, D.A. Ismagulova, T.I. Glebova,
N.G. Klivleyeva, E.I. Isaeva
Influenza A and B viruses circulating in the territory of southern
Kazakhstan during 2020-2021 epidemic period..... 24

I.E. Smirnova, E.R. Fayzulina, L.G. Tatarkina,
G.B. Baimakhanova, G.A. Spankulova, A. E. Elubayeva
Phosphate-mobilizing bacteria from soils of almaty region of
kazakhstan..... 32

S.A. Suleimenova, E.T. Kasymbekov, K.O. Karamendin,
A.I. Kydyrmanov, S. Goodman
Characteristics of the microbiome of the main biotopes of the
caspien seal..... 42

N.N. Gavrilova, I.A. Ratnikova, A.V. Alimbetova,
S.E. Orazymbet, L.A. Kosheleva, R.Zh. Kaptagay,
O.A. Belikova, V.G. Melnikov
Studying the effectiveness of a probiotic intended against
brucellosis in the prevention and treatment of colibacteriosis,
salmonellosis and pasterellosis in experiment on white
mice..... 53

ОБЗОРНЫЕ СТАТЬИ

МРНТИ 34.27.29, 34.27.59, 76.03.43

А.Ж. АЛЫБАЕВА¹, М.Г. САУБЕНОВА¹, Е.А. ОЛЕЙНИКОВА¹, А.В.ЧИЖАЕВА¹,
А.А. АЙТЖАНОВА¹, А.А. АМАНГЕЛДІ¹, И.Ю. ПОТОРОКО²¹ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии»,
Алматы, Казахстан²ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет» (НИУ),
Челябинск, РоссияМОЛОЧНОКИСЛЫЕ БАКТЕРИИ
ПРОТИВ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ПАТОГЕНОВ<https://doi.org/10.53729/MV-AS.2021.01-02.01>

Аннотация

Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам - одна из самых серьезных проблем XXI века. Многие из ранее эффективных антибиотиков больше не применимы из-за широкого распространения штаммов резистентных микробов. Вездесущность устойчивых организмов раскрывается в ряде статей. Устойчивость бактерий к антибиотикам очень активно исследуется, измеряется и отслеживается на эпидемиологическом уровне. Особенное внимание уделяется исследованию антимикробных свойств молочнокислых бактерий, так как они обладают различными преимуществами в качестве средств борьбы с антибиотикорезистентными патогенами.

Ключевые слова: антибиотикорезистентные патогены, лекарственная устойчивость, антибиотики, молочнокислые бактерии.

Устойчивость к противомикробным препаратам стала одной из основных проблем безопасности для человечества. Антибиотикорезистентность микроорганизмов вырабатывается при постоянном воздействии противомикробных препаратов. Безвредные микроорганизмы (бактерии, грибки, вирусы и паразиты) приобретают устойчивость к противомикробным препаратам (антибиотикам, противовирусным и противогрибковым препаратам и другим антимикробным средствам), подвергаясь их постоянному воздействию [1-4]. Кризис устойчивости к антибиотикам связан с чрезмерным и неправильным использованием этих лекарств [5-8]. И в результате процесса адаптации некоторые микроорганизмы могут выживать и размножаться в наличие антимикробного препарата, который в нормальных условиях их инактивирует.

Эпидемиологические исследования продемонстрировали прямую связь между потреблением антибиотиков и появлением и распространением устойчивых штаммов бактерий. Мобильные генетические элементы, включая плазмиды, интегроны и профаги [9], способствуют дальнейшему распространению и продвижению генетической рекомбинации антибиотикорезистентных генов путем горизонтального переноса генов (трансформации, конъюгации или трансдукции)[10]. Горизонтальный перенос генов может позволить передавать устойчивость к антибиотикам между различными видами бактерий. Устойчивость также может возникать спонтанно в результате мутации. Антибиотики устраняют чувствительных к лекарствам конкурентов, оставляя устойчивые бактерии для воспроизводства в ходе естественного отбора [11]. Клинически значимая устойчивость к антибиотикам связана с увеличением числа госпитализаций пациентов с инфекциями, вызванными такими устойчивыми к антибиотикам патогенами, что может привести к неэффективности лечения и смертности из-за снижения эффективности

терапевтического использования антибиотиков [12]. Ежегодно количество инфекций, вызываемых в Европе бактериями с множественной лекарственной устойчивостью (наиболее часто *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*), оценивается приблизительно в 400 000, а смертей - в 25 000 человек [13].

Некоторые области современной медицины зависят от наличия эффективных антибиотиков, так химиотерапия для лечения рака, трансплантация органов, операция по замене тазобедренного сустава, интенсивная терапия для недоношенных новорожденных и многие другие мероприятия не могли быть выполнены без эффективных антибиотиков. Фактически, инфекции, вызванные штаммами бактерий с множественной лекарственной устойчивостью, являются одними из основных факторов, влияющих на заболеваемость и смертность пациентов, подвергающихся этим процедурам. Отчет Техасского университета, опубликованный в 2014 году, показал высокий уровень устойчивости к антибиотикам при инфекциях у онкологических больных с нейтропенией, связанной с химиотерапией. Недавнее исследование Варшавского медицинского университета, посвященное инфекциям после ортотопической трансплантации печени, показало высокую долю изолятов устойчивых к антибиотикам бактерий [14]. Инфекции, распространенные в отделениях интенсивной терапии новорожденных, становится все труднее, а иногда и невозможно лечить [15]. Виды *стафилококков*, в первую очередь *S. epidermidis* и *S. aureus*, вызывают около 60–70% инфекций, и в этих учреждениях были зарегистрированы многочисленные вспышки метициллин-резистентного *S. aureus* [16].

Неправильно назначенные антибиотики также способствуют развитию устойчивости бактерий [17]. Исследования выявили, что показания к лечению, выбор средства или продолжительность антибактериальной терапии в 30–50% случаев неверны [17,18]. Кроме того, от 30% до 60% антибиотиков, назначаемых в отделениях интенсивной терапии, оказались ненужными, неподходящими или неоптимальными [18].

Определение риска для здоровья человека, предназначенное для оценки вероятности заболевания и смерти в связи с инфекцией, вызванной антибиотикоустойчивыми бактериями, состоит из четырех основных элементов: идентификации опасности, оценки воздействия, оценки «доза-реакция», и характеристики риска [19]. Антибиотикорезистентные бактерии и гены устойчивости к антибиотикам были предложены как новые загрязнители окружающей среды из-за нежелательной повышенной распространенности, вызванной деятельностью человека, и потенциальной угрозы передачи из окружающей среды человеку [20]. Источниками наибольшего бремени являются сточные воды, сбрасываемые из домов и больниц, предприятий по производству антибиотиков и загонов для животных [10].

Потребительский спрос на природные средства борьбы с патогенами вместо синтетических пищевых консервантов и традиционных антибиотиков растет. Основное внимание в разработке альтернативных мер борьбы с резистентными микроорганизмами уделяется стратегиям с механизмами действия, отличными от антибиотиков: использованию бактериофагии, моноклональных антител, вакцин, бактериоцинов, биологически активных веществ [21, 22]. Преимущество использования бактериофагов и бактериоцинов состоит в их избирательности действия и, соответственно, возможности восстановления нормального биоценоза без негативного влияния на полезную микробиоту организма. Внедрение в клиническую практику индивидуальных подходов с применением препаратов совместно с функциональными продуктами, нормализующими микрoэкологические нарушения кишечника, позволило бы повысить эффективность терапии больных инфекциями смешанной этиологии [23].

Ведутся исследования антимикробных свойств молочнокислых бактерий против антибиотикорезистентных патогенов. Молочнокислые бактерии (МКБ) обладают различными преимуществами в качестве потенциальных пробиотиков и могут рассматриваться в качестве альтернативы антибиотикам при производстве продуктов животного происхождения. МКБ - безопасные микроорганизмы, способные подавлять

вредоносные микробы, продуцируя различные ингибирующие соединения. Они привлекают все большее внимание исследователей, поскольку не только препятствуют развитию бактерий, грибов и вирусов, но и обладают антимутагенной активностью [24] и повышают иммунный статус человека [25-28], что удачно сочетается с их незаменимым вкладом в производство ферментированной пищи с высокими биологическими качествами и повышенной сохранностью. Продуцируемые ими слабые органические кислоты, перекись водорода, диацетил, бактериоцины, пептиды и другие соединения обладают выраженной антагонистической активностью [29-36]. Механизмы ингибирования патогенов пробиотическими МКБ включают продукцию ингибирующих соединений, предотвращение адгезии патогенов, конкуренцию за питательные вещества, модуляцию иммунной системы хозяина, улучшение усвояемости питательных веществ, конверсию и снижение биодоступности токсина.

Пероральное введение пробиотических молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum*, *L. casei* и *L. fermentum* ослабляет инфекцию вируса гриппа [37-39] и уменьшает частоту респираторных вирусных инфекций [40]. Различные исследователи сообщили о потенциальном влиянии МКБ на снижение риска инфекций и кишечных расстройств, связанных с патогенами, такими как *Salmonella spp.*, *E. coli*, *Campylobacter* или *Clostridium spp.* МКБ-пробиотики используются в профилактических и терапевтических целях для лечения инфекций, вызываемых этими патогенами [41]. Пробиотические МКБ продемонстрировали способность прикрепляться к эпителиальным клеткам кишечника и уменьшать колонизацию патогенными микроорганизмами, а также повышать показатели роста и улучшать иммунную систему хозяина [42-44].

МКБ подходят для животноводства в качестве пробиотиков из-за их способности изменять среду культивирования, путем производства различных метаболитов, включая широкий спектр ингибирующих веществ [45,46].

Хотя для молочнокислых бактерий наиболее характерна антибактериальная активность, особый интерес представляют их противогрибковые метаболиты [33, 36, 47-49]. Антагонистическая активность в отношении дрожжевых микроорганизмов обычно менее выражена, тем не менее, имеются сведения о подавлении молочнокислыми бактериями роста условно-патогенных дрожжей [50] или их перехода к мицелиальной форме и образованию биопленок. Есть сведения о том, что молочнокислые бактерии микробиоты контролируют колонизацию слизистых *C. albicans*, действуя антагонистически [51], а продуцируемые ими метаболиты обладают фунгистатическими свойствами [52-54], а также ингибируют их рост подобно врожденным иммунным клеткам человека [55]. Пробиотические виды *Lactobacillus* способны нарушить дифференцировку клеток биопленки *C. albicans* и снизить их количество, как секрецией экзометаболитов, так и путем межклеточных взаимодействий [56]. Применение в комплексной схеме лечения пробиотических и антимикотических препаратов способствует повышению уровня индигенной микробной флоры и снижению условно-патогенной бактериально-грибковой микробиоты, повышает иммунологическую реактивность организма [57-59].

Применение бактериоцинов молочнокислых бактерий для лечения бактериальных инфекций, ассоциированных с антибиотико-резистентными штаммами патогенных бактерий хорошо себя зарекомендовало как потенциальная терапевтическая стратегия борьбы с множественной лекарственной устойчивостью [22,59-62].

По итогам исследований, самый эффективный состав для борьбы с *Salmonella spp.* состоял из эфирного масла тимьяна (1,0%) со следующими штаммами МКБ: *Lactobacillus plantarum* LUHS122, *Lactobacillus casei* LUHS210, и *Lactobacillus uvarum* LUHS245 [63]. В недавнем исследовании сообщается об ингибирующей активности штамма *Enterococcus faecium* LCW44, выделенного из сырого верблюжьего молока, против *Listeria sp.* и *Staphylococcus aureus* [64]. *Lactobacillus casei* TN-2, выделенный из ферментированного верблюжьего молока показал антимикробную активность против кишечной палочки и золотистого стафилококка. Очищенный бактериоцин казеинин TN-2, продуцируемый этим штаммом, проявлял широкий спектр антимикробных свойств в отношении патогенов

пищевого происхождения, включая некоторые устойчивые к антибиотикам штаммы [65]. Кроме того, штамм *Lactobacillus acidophilus* AA105, выделенный из сырого верблюжьего молока, сильно ингибировал *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp., *Salmonella paratyphi*, *Shigella* sp. и *Escherichia coli* [66]. Benmechernene и соавторы [67] продемонстрировали противомикробную активность штамма *Leuconostoc mesenteroides*, продуцирующего бактериоцин, против других МКБ, таких как *Lactobacillus* sp., *Lactococcus* sp. и некоторых патогенных бактерий, таких как *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Listeria* sp. Рядом авторов показана высокая антагонистическая активность молочнокислых бактерий в отношении резистентных форм бактериальных патогенов: метициллин-устойчивого золотистого стафилококка [68], *E. coli* [69], *Enterococcus faecalis* [70], *Aspergillus flavus* [71].

Исследование МКБ имеет также большой потенциал в связи с протеолитической активностью молочнокислых бактерий и продукцией биоактивных пептидов, которые могут оказывать синергетический эффект в сочетании с традиционными антибиотиками.

Однако недавние исследования показали, что МКБ потенциально могут распространять устойчивость к антибиотикам по всей пищевой цепочке [72], например, приобретать гены устойчивости к антибиотикам от устойчивых бактерий в сыром молоке и впоследствии передавать мобильный ген устойчивости другим бактериям во время обработки пищевых продуктов [73]. За последнее десятилетие устойчивые к антибиотикам МКБ часто выделялись из ферментированных продуктов, таких как молочные продукты, вино и мясо [74]. Кроме того, также сообщалось о генах, устойчивых к антибиотикам, на конъюгативных плазидах или транспозонах в МКБ, которые потенциально могут приводить к горизонтальному переносу генов [75]. Устойчивые к антибиотикам МКБ были обнаружены с использованием последовательностей ДНК, которые отвечают за признаки устойчивости к антибиотикам. Egervärn и соавторы [76] сообщили о появлении устойчивости к антибиотикам у *Lactobacillus reuteri* и *L. plantarum*. Кроме того, сообщается, что *Lactobacillus*, *Pediococcus* и *Leuconostoc* spp. обладают высокой устойчивостью к ванкомицину [77], а некоторые лактобациллы высокоустойчивы к бацитрацину, цефокситину, ципрофлоксацину, фузидовой кислоте, стрептомицину, сульфадиазину, тейкопланину и ванкомицину [78]. Большая часть зарегистрированных МКБ, устойчивых к антибиотикам, была выделена из пищевых источников. Они включают в себя наиболее часто используемые пробиотические виды, такие как *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus*, *L. reuteri* или *L. rhamnosus* или бактерии йогуртовой закваски *L. delbrueckii* [79 – 81].

Глобальный рост антибиотикорезистентности патогенных микроорганизмов подчеркивает необходимость разработки альтернативных или дополнительных противомикробных стратегий. Ограничения, связанные с антибиотиками нового поколения, привели к относительному отсутствию эффективных вариантов на рынке и вынудили искать новые альтернативы. В настоящее время проводятся многочисленные научные исследования для оценки антимикробного потенциала различных веществ, формул или активных ингредиентов, в том числе, особое внимание привлекают к себе МКБ, которые, показывают активность против резистентных форм бактериальных патогенов. Однако эти микроорганизмы также могут вносить вклад в распространение генов антибиотикорезистентности, этот фактор следует учитывать при разработке пробиотических препаратов и пищевых заквасок.

Литература:

1 Кулмагамбетов И.Р., Треножникова Л.П., Нурманбетова Ф.Н., Сарсенбаева С.С., Международные программы профилактики и борьбы с антибиотикорезистентностью // Известия НАН РК: серия биологическая и медицинская. - 2014. - №6(306). - С. 65-72.

2 Саданов А.К., Березин В.Э., Треножникова Л.П., Балгимбаева А.С., Ултанбекова Г.Д. Микозы человека и противогрибковые препараты: Монография, Алматы: Kausar Studio, 2016. - 289 с.

3 Baimakhanova B.B., Balgimbayeva A.S., Trenozhnikova L.P., Hasenova A.H., Baimakhanova G.B. Study on the distribution and drug resistance of opportunistic pathogenic microflora in the structure of infectious and inflammatory diseases in the central region of the Republic of Kazakhstan / European Congress of Biotechnology, Lecce, Italia, 13-19 may, 2014 // Journal of Biotechnology – 2014. - P. 595.

4 Lukmanova G.V., Klivleyeva N.G., Glebova T.I., Saktaganov N.T., Ongarbayeva N.S., Baimukhametova A.M. Study of the 2019 A/H1N1 influenza virus susceptibility to chemotherapy drugs in ovo // Biotechnology & Biotechnological Equipment / Issue sup1: Special Issue:European Biotechnology Congress 2020. Poster Abstracts: Volume 35, 2021. - Pages: S62-128. Published online: 26 Feb 2021. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/13102818.2020.1871545>

5 Gould IM, Bal AM. New antibiotic agents in the pipeline and how they can overcome microbial resistance//Virulence.- 2013.-4(2).-P.185–191.

6 Wright GD. Something new: revisiting natural products in antibiotic drug discovery. Can J Microbiol. 2014;60(3):147–154.

7 Sengupta S, Chattopadhyay MK, Grossart HP. The multifaceted roles of antibiotics and antibiotic resistance in nature. Front Microbiol. 2013;P.4:47.

8 Centers for Disease Control and Prevention, Office of Infectious Disease Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. Available at: <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013>.

9 Martínez, J.L., Coque, T.M., Baquero, F., 2015. What is a resistance gene? Ranking risk in resistomes. Nat. Rev. Microbiol. 13, P.116.

10 Vikesland, P.J., Pruden, A., Alvarez, P.J., Aga, D., Bürgmann, H., Li, X.-d., Manaia, C.M., Nambi, I., Wigginton, K., Zhang, T., 2017. Toward a comprehensive strategy to mitigate dissemination of environmental sources of antibiotic resistance. Environ. Sci. Technol. 55, P.13061–13069.

11 Read AF, Woods RJ. Antibiotic resistance management. Evol Med Public Health. 2014;2014(1):P.147.

12 Hidron, A.I., Edwards, J.R., Patel, J., Horan, T.C., Sievert, D.M., Pollock, D.A., Fridkin, S.K., 2008. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006–2007. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 29, P.996–1011.

13 ECDC/EMA *The bacterial challenge: time to react*. Stockholm: European Center for Disease Prevention and Control; 2009.

14 Kawecki D, Pacholczyk M, Lagiewska B, Sawicka-Grzelak A, Durlak M, Mlynarczyk G, et al. Bacterial and fungal infections in the early post-transplantation period after liver transplantation: etiologic agents and their susceptibility. *Transplant Proc.* 2014;46(8):P.2777–2781.

15 Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, Shankaran S, Laptook AR, Walsh MC, et al. Neonatal outcomes of extremely preterm infants from the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics.* 2010;126(3). P.443–56.

16 Patel SJ, Saiman L. Antibiotic resistance in neonatal intensive care unit pathogens: mechanisms, clinical impact, and prevention including antibiotic stewardship. *Clin Perinatol.* 2010;37(3):P.547–63.

17 Centers for Disease Control and Prevention, Office of Infectious Disease Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. Apr, 2013.

18 Luyt CE, Brechot N, Trouillet JL, Chastre J. Antibiotic stewardship in the intensive care unit. *Crit Care.* 2014;18(5).P.480.

19 Ashbolt, N.J., Amézquita, A., Backhaus, T., Borriello, P., Brandt, K.K., Collignon, P., Coors, A., Finley, R., Gaze, W.H., Heberer, T., 2013. Human health risk assessment (HHRA) for environmental development and transfer of antibiotic resistance. Environ. Health Perspect. 121, P.993.

20 Pruden, A., Pei, R., Storteboom, H., Carlson, K.H., 2006. Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: studies in northern Colorado. Environ. Sci. Technol. 40, P.7445–7450.

21 Андрюков Б.Г., Недашковская Е.П. Вступая в пост-антибиотиковую эру: перспективные стратегии поиска новых альтернативных стратегий борьбы с инфекционными заболеваниями // Здоровье. Медицинская экология. Наука. – 2018. - №3(75). – С. 36-50.

22 Алексюк М.С., Алексюк П.Г., Богоявленский А.П., Березин В.Э. Фаги *Pseudomonas aeruginosa* – как альтернативный подход в антимикробной терапии // Вестник КазНМУ. – 2018. - №3. – С. 172 – 177.

23 Мазуник Н. Н. Клинические особенности, диагностика и лечение смешанных форм острых респираторных вирусных инфекций у детей: автореф. ... канд. мед. наук: 14.00.10. - инфекционные болезни диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук М., 2007. – 24 с.

- 24 Savitskaya I.S., Bondarenko, V.M. Inhibition of mutagen activity of colon metabolites by normal microbiocenosis // Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii, i immunobiologii. – 2008. -Issue 3. – P. 53-58.
- 25 Jeong D., Kim D-H., Il-Byeong Kang, Kim H., Song K-Y., Kim H-S., Seo K-H. Characterization and antibacterial activity of a novel exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* DN1 isolated from kefir // Food Control. – 2017. – Vol. 78. – P. 436-442.
- 26 Oliveira F.E., Rossoni R.D., Barros P.P., Begnini B.E., Junqueira J.C., Cardoso Jorge A.O., Pereira Leão M.V., Oliveira L.D. Immunomodulatory effects and anti-*Candida* activity of lactobacilli in macrophages and in invertebrate model of *Galleria mellonella* // Microbial Pathogenesis. – 2017. – Vol. 110. – P. 603-611.
- 27 Sandes S., Alvim L., Silva B., Acurcio L., Santos C., Campos M., Santos C., Nicoli J., Neumann E., Nunes Á. Selection of new lactic acid bacteria strains bearing probiotic features from mucosal microbiota of healthy calves: Looking for immunobiotics through *in vitro* and *in vivo* approaches for immunoprophylaxis applications // Microbiological Research. – 2017. – Vol. 200. – P. 1-13.
- 28 Dargahi N., Johnson J., Donkor O., Vasiljevic T., Apostolopoulos V. Immunomodulatory effects of *Streptococcus thermophilus* on U937 monocyte cell cultures // Journal of Functional Foods. – 2018. – Vol. 49. – P. 241-249.
- 29 Стоянова Л. Г., Устюгова Е. А., Нетрусов А. И. Антимикробные метаболиты молочнокислых бактерий: разнообразие и свойства (обзор) // Прикладная биохимия и микробиология. – 2012. – Т. 48, № 3. – С. 259–275.
- 30 Arena M.P., Capozzi V., Russo P., Drider D., Spano G., Fiocco D. Immunobiosis and probiosis: antimicrobial activity of lactic acid bacteria with a focus on their antiviral and antifungal properties // Appl Microbiol Biotechnol. – 2018. – Vol. 102(23). – P. 9949-9958.
- 31 Saladino F., Luz C., Manyes L., Fernández-Franzón M., Meca G. In vitro antifungal activity of lactic acid bacteria against mycotoxigenic fungi and their application in loaf bread shelf life improvement // Food Control. - 2016. - Vol. 67. - P. 273-277.
- 32 Le Lay C., Coton E., Le Blay G., Chobert J.-M., Haertlé Th., Choiset Y., Van Long N.N., Meslet-Cladière L., Mounier J. Identification and quantification of antifungal compounds produced by lactic acid bacteria and propionibacteria // International Journal of Food Microbiology. - 2016. - Vol. 239. - P. 79–85.
- 33 Inglin R.C., Stevens M.J.A., Meile L., Lacroix Ch., Meile L. High-throughput screening assays for antibacterial and antifungal activities of *Lactobacillus* species // Journal of Microbiological Methods, - 2015. - Vol. 114. - P. 26–29.
- 34 Schnürer J., Magnusson J. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives // Trends Food Sci. Technol. – 2005. – Vol. 16. – P. 70–78.
- 35 Dalié D.K.D., Deschamps A.M., Richard-Forget F. Lactic acid bacteria—Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review // Food Control. – 2010. – Vol. 21. – P. 370–380.
- 36 Crowley S., Mahony J., van Sinderen D. Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives // Trends Food Sci. Technol. – 2013. – Vol. 33. – P. 93–109.
- 37 Maeda N., Nakamura R., Hirose Y., Murosaki S., Yamamoto Y., Kase T., Yoshikai Y. Oral administration of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 enhances protection against influenza virus infection by stimulation of type I interferon production in mice // Int Immunopharmacol. – 2009. – Vol. 9. – P.1122–1125.
- 38 Boge T., Remigy M., Vaudaine S., Tanguy J., Bourdet-Sicard R., van der Werf S. A probiotic fermented dairy drink improves antibody response to influenza vaccination in the elderly in two randomized controlled trials // Vaccine. – 2009. – Vol. 27. – P. 5677–5684.
- 39 Olivares M., Diaz-Ropero M.P., Sierra S., Lara-Villoslada F., Fonolla J., Navas M., Rodriguez J.M., Xaus J. Oral intake of *Lactobacillus fermentum* CECT5716 enhances the effects of influenza vaccination // Nutrition. – 2007. - Vol.23. - P. 254–260.
- 40 Rautava S., Salminen S., Isolauri E. Specific probiotics in reducing the risk of acute infections in infancy a randomised, double-blind, placebo-controlled study // Br J Nutr. – 2009. – Vol. 101. – P. 1722–1726.
- 41 G. Tellez, C. Pixley, R. Wolfenden, S. Layton and B. Hargis, “Probiotics/Direct Fed Microbials for Salmonella Control in Poultry,” Food Research International, Vol. 45, No. 2, 2012, P. 628-633.
- 42 Soomro, R. N., M. E. Abd El-Hack, S. S. Shah, A. E. Taha, M. Alagawany, A. A. Swelum, E. O. S. Hussein, H. A. Ba-Aawdh, I. Saadeldin, and M. A. El-Edel, et al. 2019. Impact of restricting feed and probiotic supplementation on growth performance, mortality and carcass traits of meat-type quails. Anim. Sci. J. 90:P.1388–1395

43 Mohammadreza, K., H. Seyyed-Hamed, J. Faramin, N. Mehran, S. Alireza, T. K. Isam, L. Vito, and T. Vincenzo. 2020. Effects of dietary chicory (*chicorium intybus* L.) and probiotic Blend as natural feed Additives on performance traits, Blood Biochemistry, and gut microbiota of broiler chickens. *Antibiotics* 9:P.5.

44 Salehizadeh, M., M. H. Modarressi, S. N. Mousavi, and M. T. Ebrahim. 2020. Evaluation of lactic acid bacteria isolated from poultry feces as potential probiotic and its in vitro competitive activity against *Salmonella typhimurium*. *Vet. Res. Forum* 11:P.67–75.

45 Gaggia F., Mattarelli P., Biavati B. (2010). Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *Int. J. Food Microbiol.* 141 S15–S28. 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.031

46 FAO (2016). “Probiotics in animal nutrition – Production, impact and regulation,” in *Makkar FAO Animal Production and Health Paper No. 179*, ed. Harinder P. S. (Rome: FAO).

47 Le Lay C., Mounier J., Vasseur V., Weill A., Le Blay G., Barbier G., Coton E. In vitro and in situ screening of lactic acid bacteria and propionibacteria antifungal activities against bakery product spoilage molds // *Food Control*. - 2016. - Vol. - P. 247-255.

48 Ryu E.H., Yang E.J., Woo E.Rh., Chang H.Ch. Purification and characterization of antifungal compounds from *Lactobacillus plantarum* HD1 isolated from kimchi // *Food Microbiology*. - 2014. - Vol. 41. - P. 19-26.

49 Inturri R., Trovato L., Li Volti G., Oliveri S., Blandino G. In vitro inhibitory activity of *Bifidobacterium longum* BB536 and *Lactobacillus rhamnosus* HN001 alone or in combination against bacterial and *Candida* reference strains and clinical isolates // *Heliyon*. – Vol. 5, Issue 11, - e02891.

50 Стоянова Л. Г., Габриэлян Н.И., Крупенио Т.В., Шарапченко С.О. Антагонистическое взаимодействие штаммов *Lactococcus Lactis* ssp. *Lactis* и *Klebsiella pneumoniae* // *Медицинский алфавит* №38/2017, том №4. – С. 18-24.

51 Ramsdale M., Selway L., Stead D., J. Walker, Z. Yin, S.M. Nicholls, J. Crowe, E.M. Sheils, A.J.P. Brown. MNL1 regulates weak acid-induced stress responses of the fungal pathogen *Candida albicans* // *Molecular Biology of the Cell* Vol. – 2008. – Vol. 19. – P. 4393–4403.

52 Cottier F., Tan A.S., Xu X., Wang Y., Pavelka N. IG1 Regulates Resistance of *Candida albicans* against the fungistatic effect of weak organic acids // *Eukaryot Cell*. – 2015. – Vol. 14(10). – P. 1054-1061.

53 Scaffaro R., Lopresti F., D'Arrigo M., Marino A., Nostro A. Efficacy of poly(lactic acid)/carvacrol electrospun membranes against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* in single and mixed cultures // *Applied Microbiology and Biotechnology*. - 2018. - V.102, Issue 9. – P. 4171–4181.

54 Cottier F., Tan A.S.M., Yurieva M., Liao W., Lum J., Poidinger M., Zolezzi F., Pavelka N. The Transcriptional Response of *Candida albicans* to Weak Organic Acids, Carbon Source, and MIG1 Inactivation Unveils a Role for HGT16 in Mediating the Fungistatic Effect of Acetic Acid // *G3 (Bethesda)*. - 2017. - Vol. 7(11). – P. 3597-3604.

55 Komalapriya C., Kaloriti D., Tillmann A.T., Yin Z., Herrero-de-Dios C., Jacobsen M.D., Belmonte R.C., Cameron G., Haynes K., Grebogi C., de Moura A.P., Gow N.A., Thiel M., Quinn J., Brown A.J., Romano M.C. Integrative Model of Oxidative Stress Adaptation in the Fungal Pathogen *Candida albicans* // *PLoS One*. – 2015. – Vol. 10(9): e0137750. doi: 10.1371/journal.pone.0137750.

56 Matsubara V.H., Wang Y., Bandara H.M., Mayer M.P., Samaranayake L.P. Probiotic lactobacilli inhibit early stages of *Candida albicans* biofilm development by reducing their growth, cell adhesion, and filamentation // *Appl Microbiol Biotechnol*. – 2016. – Vol. 100(14). – P. 6415-6426.

57 Файзуллина Е.В., Файзуллин В. А., Глушко Н.И. Новые подходы к диагностике и лечению кандидоза желудка // *Проблемы медицинской микологии*. - 2003. - Т.5, №2. - С.47.

58 Грачева Н.М., В.М. Бондаренко Пробиотические препараты в терапии и профилактике дисбактериоза кишечника // *Инфекционные болезни*. - 2004. - Т.2, №2. - С. 53-58.

59 Бондаренко В.М., Воробьев А. А. Дисбиозы и препараты с пробиотической функцией // *Микробиол.* – 2004, № 1. - С. 84-92.

60 Nishie M., Nagao J-I., Sonomoto K. Antibacterial peptides "bacteriocins": an overview of their diverse characteristics and applications // *Biocontrol Sci.* – 2012. – Vol. 17(1). – P. 1-16.

61 Вальшев А.В., Вальшева Н.А. Комбинация антибиотиков и бактериоцинов – эффективный способ борьбы с резистентными микроорганизмами // *Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН*. – 2016. - №4. – 6 с.

62 Mills S., Ross R.P., Hill C. Bacteriocins and bacteriophage; a narrow-minded approach to food and gut microbiology // *FEMS Microbiol Rev.* – 2017. – Vol. 41(Supp_1). – P. 129-S153.

63 E. Bartkiene, M. Ruzauskas, V. Bartkevics, I. Pugajeva, P. Zavistanaviciute, V. Starkute, E. Zokaityte, V. Lele, A. Dauksiene, M. Grashorn, L. E. Hoelzle, A. Mendybayeva, R. Ryshyanova,

R.Gruzauskas. Study of the antibiotic residues in poultry meat in some of the EU countries and selection of the best compositions of lactic acid bacteria and essential oils against *Salmonella enterica*. Poultry Science. Volume 99, Issue 8, 2020, Pages 4065-4076

64A. Vimont, B. Fernandez, R. Hammami, A. Ababsa, H. Daba, I. Fliss. Bacteriocin-producing *Enterococcus faecium* LCW 44: a high potential probiotic candidate from raw camel milk. Front Microbiol, 8 (2017), P. 865

65 X. Lü, P. Hu, Y. Dang, B. Liu. Purification and partial characterization of a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus casei* TN-2 isolated from fermented camel milk (Shubat) of Xinjiang Uygur Autonomous region, China. Food Control, 43 (2014), P. 276-283

66 A.E. Abo-Amer. Inhibition of foodborne pathogens by a bacteriocin-like substance produced by a novel strain of *Lactobacillus acidophilus* isolated from camel milk. Appl Biochem Microbiol, 49 (2013), P. 270-279

67 Z. Benmechernene, H.F. Chentouf, B. Yahia, G. Fatima, M. Quintela-Baluja, P. Calo-Mata, et al. Technological aptitude and applications of *Leuconostoc mesenteroides* bioactive strains isolated from Algerian raw camel milk. BioMed Res Int (2013), P. 1-14

68 Bartkiene, E., V. Lele, V. Sakiene, P. Zavistanaviciute, M. Ruzauskas, J. Bernatoniene, V. Jakstas, P. Viskelis, D. Zadeike, and G. Juodeikiene. 2019. Improvement of the antimicrobial activity of lactic acid bacteria in combination with berries/fruits and dairy industry by-products. J. Sci. Food Agric. 99:P.3992–4002

69 Byakika S., Mukisa I.M., Mugabi R., Muyanja C. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria starters against acid tolerant, antibiotic resistant, and potentially virulent *E. coli* isolated from a fermented sorghum-millet beverage // International Journal of Microbiology. – 2019. – Vol. 2019. – Article ID 2013539. – 10 p.

70 Manzoor A., Ul-Haq I., Baig S., Qazi J.I., Seratlic S. Efficacy of Locally Isolated Lactic Acid Bacteria Against Antibiotic-Resistant Uropathogens // Jundishapur J Microbiol. - 2016. – Vol. 9(1): e18952.

71 Kwak M.-K., Liu R., Kang S.-O. Antimicrobial activity of cyclic dipeptides produced by *Lactobacillus plantarum* LBP-K10 against multidrug-resistant bacteria, pathogenic fungi, and influenza A virus // Food Control. - 2018. - Vol. 85. - P. 223-234.

72 Mathur, R. Singh. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria—a review. Int. J. Food Microbiol., 105 (3) (2005), P. 281-295

73 S. Gazzola, C. Fontana, D. Bassi, P. Cocconcelli. Assessment of tetracycline and erythromycin resistance transfer during sausage fermentation by culture-dependent and-independent methods,- Food Microbiol., 30 (2) (2012), P. 348-354

74 M. Gueimonde, B. Sánchez, C.G. de los Reyes-Gavilán, A. Margolles. Antibiotic resistance in probiotic bacteria,- Front. Microbiol., 4 (2013), P. 202

75. B.M. Marshall, S.B. Levy. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. Clin. Microbiol. Rev., 24 (4) (2011), P. 718-733

76 Egervärn M, Roos S, Lindmark H: Identification and characterization of antibiotic resistance genes in *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus plantarum*. J Appl Microbiol. 2009, 17: P.1658-1668.

77 Gueimonde M, Sánchez B, de Los Reyes-Gavilán CG, Margolles A: Antibiotic resistance in probiotic bacteria. Front Microbiol. 2013, 4: P.202.

78 Danielsen M, Wind A: Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents. Int J Food Microbiol. 2003, 82: P.1-11.

79 Ammor MS, Flórez AB, Van Hoek AHAM, de Los Reyes-Gavilán CG, Aarts HJM, Margolles A, Mayo B: Molecular characterization of intrinsic and acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria and *bifidobacteria*. J Mol Microbiol Biotechnol. 2008, 14: P.6-15.

80 Korhonen JM, Danielsen M, Mayo B, Egervärn H, Axelsson L, Huys G: Antimicrobial susceptibility and proposed microbiological cut-off values of lactobacilli by phenotypic determination. Int J Probiot Prebiot. 2008, 3:P. 257-268.

81 Mayrhofer S, van Hoeck AHAM, Mair C, Huys G, Arts HJM, Kneifel W: Antibiotic susceptibility of members of the *Lactobacillus acidophilus* group using broth microdilution and molecular identification of their resistance determinants. Int J Food Microbiol. 2010, 144: P. 81-87.

А.Ж. АЛЫБАЕВА¹, М.Г. САУБЕНОВА¹, Е.А. ОЛЕЙНИКОВА¹, А.В.ЧИЖАЕВА¹,
А.А. АЙТЖАНОВА¹, А.А. АМАНГЕЛДІ¹, И.Ю. ПОТОРОКО²
«Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы» ЖШС,
Алматы, Қазақстан
«Оңтүстік Орал мемлекеттік университеті» (ҰЗУ) ЖББ ФМАОО, Челябинск, Ресей

АНТИБИОТИККЕ ТӨЗІМДІ ПАТОГЕНДЕРГЕ ҚАРСЫ СҮТҚЫШҚЫЛДЫ БАКТЕРИЯЛАР

Түйін

Микроорганизмдердің антибиотикке төзімділігі - 21 ғасырдың ең үлкен проблемаларының бірі. Бұрын тиімді антибиотиктердің көпшілігі төзімді микробтық штамдардың кең таралуына байланысты қолданылмайды. Төзімді организмдердің барлық жерде кездесетіндігі бірқатар мақалаларда көрсетілген. Бактериялардың антибиотикке төзімділігі эпидемиологиялық деңгейде өте белсенді зерттелуде, өлшенуде және бақылануда. Сүтқышқылды бактериялардың микробқа қарсы қасиеттерін зерттеуге ерекше назар аударылады, өйткені, олардың антибиотикке төзімді қоздырғыштарымен күресу құралы ретінде әр түрлі артықшылықтары бар.

Кілтті сөздер: антибиотикке төзімділік патогендері, дәріге төзімділік, антибиотиктер, сүт қышқылды бактериялар.

IRSTI 34.27.29, 34.27.59, 76.03.43

A.ZH. ALYBAYEVA¹, M.G. SAUBENOVA¹, E.A. OLEINIKOVA¹, A.V.CHIZHAYEVA¹,
A.A. AITZHANOVA¹, A.A. AMANGELDI¹, I.YU. POTOROKO²

¹LLP «Research and Production Center for Microbiology and Virology», Almaty, Kazakhstan

²FSAEI of «South Ural State University» (NRU), Chelyabinsk, Russia

LACTIC BACTERIA AGAINST ANTIBIOTIC-RESISTANT PATHOGENS

<https://doi.org/10.53729/MV-AS.2021.01-02.01>

Summary

Antibiotic resistance of microorganisms is one of the greatest challenges of the 21st century. Many of the previously effective antibiotics are no longer applicable due to the widespread prevalence of resistant microbial strains. The ubiquity of resistant organisms is revealed in a number of articles. Bacterial resistance to antibiotics is very actively researched, measured and monitored at the epidemiological level. Particular attention is paid to the study of the antimicrobial properties of lactic acid bacteria, since they have various advantages as a means of combating antibiotic-resistant pathogens.

Key words: antibiotic-resistant pathogens, drug resistance, antibiotics, lactic acid bacteria.

Antimicrobial resistance has become a major safety concern for humankind. Antibiotic resistance of microorganisms is developed with constant exposure to antimicrobial drugs. Disease-causing microorganisms (bacteria, fungi, viruses and parasites) acquire resistance to antimicrobial drugs (antibiotics, antiviral and antifungal drugs and other antimicrobial agents), being constantly exposed to them [1-4]. The crisis of antibiotic resistance is associated with the overuse and misuse of these drugs [5-8]. And as a result of the adaptation process, some microorganisms can survive and propagate in the presence of an antimicrobial drug, which, under normal conditions, inactivates them.

Epidemiological studies have shown a direct link between antibiotic consumption and the emergence and spread of resistant bacterial strains. Mobile genetic elements, including plasmids, integrons and prophages [9], contribute to the further spread and advancement of genetic recombination of antibiotic-resistant genes through transformation, conjugation or transduction, which are collectively called horizontal gene transfer [10]. Horizontal gene transfer can allow the transfer of antibiotic resistance between different bacterial species. Resistance can also arise

spontaneously as a result of mutation. Antibiotics eliminate drug-susceptible competitors, leaving resistant bacteria to reproduce by natural selection [11]. Clinically significant antibiotic resistance is associated with an increase in the number of hospitalizations of patients with infections caused by such antibiotic-resistant pathogens, which can lead to treatment failure and death due to a decrease in the effectiveness of therapeutic use of antibiotics [12]. The annual number of infections caused by multidrug-resistant bacteria in Europe (most often *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecium*, *Streptococcus pneumoniae*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*) is estimated at approximately 400 000, and deaths at 25 000 [13].

Several areas of modern medicine depend on the availability of effective antibiotics, such as chemotherapy for cancer, organ transplants, hip replacement surgery, intensive care for premature infants, and many other interventions could not be performed without effective antibiotics. In fact, infections caused by strains of multidrug-resistant bacteria are among the main factors influencing the morbidity and mortality of patients undergoing these procedures. A 2014 report from the University of Texas showed high levels of antibiotic resistance in infections in cancer patients with chemotherapy-associated neutropenia. A recent study by the Medical University of Warsaw on infections after orthotopic liver transplantation showed a high proportion of isolates of antibiotic-resistant bacteria [14]. Infections common in neonatal intensive care units are becoming more difficult and sometimes impossible to treat [15]. Staphylococcal species, primarily *S. epidermidis* and *S. aureus*, cause about 60–70% of infections, and numerous outbreaks of methicillin-resistant *S. aureus* have been reported in these institutions [16].

Inappropriate antibiotics also contribute to the development of bacterial resistance [17]. Studies have shown that the indications for treatment, the choice of means or the duration of antibiotic therapy in 30-50% of cases are incorrect [17, 18]. In addition, 30% to 60% of antibiotics prescribed in intensive care units have been found to be unnecessary, inappropriate, or suboptimal [18].

The human health risk assessment, designed to assess the likelihood of illness and death due to infection with antibiotic-resistant bacteria, consists of four main elements: hazard identification, exposure assessment, dose-response assessment, and risk characterization [19]. Antibiotic-resistant bacteria and antibiotic resistance genes have been proposed as new environmental pollutants due to the unwanted human-induced increased prevalence and the potential threat of environmental transmission to humans [20]. The sources of the greatest burden are wastewater discharged from homes and hospitals, antibiotic factories and animal pens [10].

Consumer demand for natural remedies to combat pathogens instead of synthetic food preservatives and traditional antibiotics is growing. The focus in the development of alternative measures to combat resistant microorganisms is on strategies with mechanisms of action other than antibiotics: the use of bacteriophagy, monoclonal antibodies, vaccines, bacteriocins, biologically active substances [21,22]. The advantage of using bacteriophages and bacteriocins lies in their selectivity of action and, accordingly, the possibility of restoring normal biocenosis without negatively affecting the beneficial microbiota of the body. The introduction into clinical practice of individual approaches with the use of drugs together with functional products that normalize microecological disorders of the intestine would increase the effectiveness of therapy for patients with infections of mixed etiology [23].

Research is underway on the antimicrobial properties of lactic acid bacteria against antibiotic-resistant pathogens. Lactic acid bacteria (LAB) have various advantages as potential probiotics and can be considered as an alternative to antibiotics in the manufacture of animal products. LAB are safe microorganisms capable of suppressing harmful microbes by producing various inhibitory compounds. They are attracting more and more attention of researchers, since they not only prevent the development of bacteria, fungi and viruses, but also have antimutagenic activity [24] and increase the human immune status [25-28], which is successfully combined with their irreplaceable contribution to the production of fermented food with high

biological qualities and increased safety. The weak organic acids, hydrogen peroxide, diacetyl, bacteriocins, peptides and other compounds produced by them have a pronounced antagonistic activity [29-36]. The mechanisms of pathogen inhibition by probiotic LAB include the production of inhibitory compounds, prevention of pathogen adhesion, competition for nutrients, modulation of the host immune system, improvement of nutrient absorption, conversion and reduction of toxin bioavailability.

Oral administration of probiotic lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum*, *L. casei*, and *L. fermentum* attenuates influenza virus infection [37–39] and reduces the incidence of respiratory viral infections [40]. Various researchers have reported on the potential effect of LAB in reducing the risk of infections and intestinal disorders associated with pathogens such as *Salmonella* spp., *E. coli*, *Campylobacter* or *Clostridium* spp. LAB probiotics are used for preventive and therapeutic purposes to treat infections caused by these pathogens [41]. Probiotic LAB have been shown to attach to intestinal epithelial cells and reduce colonization by pathogenic microorganisms, as well as increase growth rates and improve the host immune system [42–44].

LAB are suitable for animal husbandry as probiotics due to their ability to change the culture environment by producing various metabolites, including a wide range of inhibitory substances [45,46].

Although antibacterial activity is most characteristic of lactic acid bacteria, their antifungal metabolites are of particular interest [33,36,47-49]. Antagonistic activity against yeast microorganisms is usually less pronounced; nevertheless, there is information about suppression of opportunistic pathogenic yeast growth by lactic acid bacteria [50] or their transition to mycelial form and biofilm formation. There is evidence that lactic acid bacteria of the microbiota control the colonization of mucous membranes of *C. albicans*, acting antagonistically [51], and the metabolites they produce have fungistatic properties [47-49], and also inhibit their growth similar to innate human immune cells [55]. Probiotic *Lactobacillus* species are capable of disrupting the differentiation of *C. albicans* biofilm cells and reducing their number, both by the secretion of exometabolites and by intercellular interactions [56]. The use of probiotic and antimycotic drugs in a complex treatment regimen promotes an increase in the level of indigenous microbial flora and a decrease in opportunistic bacterial-fungal microbiota, and increases the body's immunological reactivity [57-59].

The use of bacteriocins of lactic acid bacteria for the treatment of bacterial infections associated with antibiotic-resistant strains of pathogenic bacteria has proven itself as a potential therapeutic strategy for combating multidrug resistance [22,59-62].

According to the research results, the most effective formulation for combating *Salmonella* spp., consisted of essential oil of thyme (1.0%) with the following LAB strains: *Lactobacillus plantarum* LUHS122, *Lactobacillus casei* LUHS210, and *Lactobacillus uvarum* LUHS245 [63]. A recent study reports the inhibitory activity of *Enterococcus faecium* LCW44 isolated from raw camel milk against *Listeria* sp. and *Staphylococcus aureus* [64]. *Lactobacillus casei* TN-2 isolated from fermented camel milk showed antimicrobial activity against *E. coli* and *Staphylococcus aureus*. The purified bacteriocin caseicin TN-2 produced by this strain exhibited a wide range of antimicrobial properties against foodborne pathogens, including some antibiotic-resistant strains [65]. In addition, the *Lactobacillus acidophilus* AA105 strain isolated from raw camel milk strongly inhibited *Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp., *Salmonella paratyphi*, *Shigella* sp. and *Escherichia coli* [66]. Benmechernene et al. [67] demonstrated the antimicrobial activity of the bacteriocin-producing *Leuconostoc mesenteroides* strain against other LAB, such as *Lactobacillus* sp., *Lactococcus* sp. and some pathogenic bacteria such as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria* sp. A number of authors have shown a high antagonistic activity of lactic acid bacteria against resistant forms of bacterial pathogens: methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [68], *E. coli* [69], *Enterococcus faecalis* [70], *Aspergillus flavus* [71].

LAB research also has great potential in connection with the proteolytic activity of lactic acid bacteria and the production of bioactive peptides, which can have a synergistic effect in combination with traditional antibiotics.

However, recent studies have shown that LAB have the potential to spread antibiotic resistance throughout the food chain [72], for example, acquire antibiotic resistance genes from resistant bacteria in raw milk and subsequently pass the mobile resistance gene to other bacteria during food processing [73]. Over the past decade, antibiotic-resistant LAB have often been isolated from fermented foods such as dairy products, wine, and meat [74]. In addition, antibiotic-resistance genes on conjugative plasmids or transposons in the LAB have also been reported, which can potentially lead to horizontal gene transfer [75]. Antibiotic-resistant LAB have been detected using DNA sequences that are responsible for the signs of antibiotic resistance. Egervärn et al. [76] reported the emergence of antibiotic resistance in *Lactobacillus reuteri* and *L. plantarum*. In addition, *Lactobacillus*, *Pediococcus* and *Leuconostoc* spp. are highly resistant to vancomycin [77], and some lactobacilli are highly resistant to bacitracin, cefoxitin, ciprofloxacin, fusidic acid, streptomycin, sulfadiazine, teicoplanin, and vancomycin [78]. Most of the reported antibiotic resistant LAB have been isolated from food sources. These include the most commonly used probiotic species such as *Lactobacillus casei*, *L. acidophilus*, *L. reuteri* or *L. rhamnosus*, or *L. delbrueckii* yoghurt starter bacteria [79–81].

The global increase in antibiotic resistance of pathogenic microorganisms underlines the need to develop alternative or complementary antimicrobial strategies. The restrictions associated with next-generation antibiotics have resulted in a relative lack of effective options on the market and forced the search for new alternatives. Currently, numerous scientific studies are being carried out to assess the antimicrobial potential of various substances, formulas or active ingredients, including the special attention attracted by the LAB, which show activity against resistant forms of bacterial pathogens. However, these microorganisms can also contribute to the spread of genes for antibiotic resistance, this factor should be taken into account when developing probiotic preparations and food starters.

References:

- 1 Kulmagambetov I.R., Trenozhnikova L.P., Nurmanbetova F.N., Sarsenbaeva S.S., Mezhdunarodnye programmy profilaktiki i bor'by s antibiotikorezistentnost'ju. Izvestija NAN RK: serija biologicheskaja i medicinskaja. 2014; 6(306): 65-72.
- 2 Sadanov A.K., Berezin V.Je., Trenozhnikova L.P., Balgimbaeva A.S., Ultanbekova G.D. Mikozy cheloveka i protivogribovye preparaty: Monografija, Almaty: Kausar Studio, 2016. p. 289.
- 3 Baimakhanova B.B., Balgimbayeva A.S., Trenozhnikova L.P., Hasenova A.H., Baimakhanova G.B. Study on the distribution and drug resistance of opportunistic pathogenic microflora in the structure of infectious and inflammatory diseases in the central region of the Republic of Kazakhstan. European Congress of Biotechnology. Lecce, Italia: 13-19 may, 2014. Journal of Biotechnology. 2014; p. 595.
- 4 Lukmanova G.V., Klivleyeva N.G., Glebova T.I., Saktaganov N.T., Ongarbayeva N.S., Baimukhametova A.M. Study of the 2019 A/H1N1 influenza virus susceptibility to chemotherapy drugs in ovo. Biotechnology & Biotechnological Equipment. Issue sup1: Special Issue: European Biotechnology Congress. 2020. Poster Abstracts: Volume 35; 2021. p: S62-128. Published online: 26 Feb 2021. <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/13102818.2020.1871545>
- 5 Gould IM, Bal AM. New antibiotic agents in the pipeline and how they can overcome microbial resistance. Virulence. 2013; 4(2): 185–191.
- 6 Wright GD. Something new: revisiting natural products in antibiotic drug discovery. Can J Microbiol. 2014; 60(3): 147–154.
- 7 Sengupta S, Chattopadhyay MK, Grossart HP. The multifaceted roles of antibiotics and antibiotic resistance in nature. Front Microbiol. 2013; P.4:47.
- 8 Centers for Disease Control and Prevention, Office of Infectious Disease Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. Available at: <http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013>.
- 9 Martínez, J.L., Coque, T.M., Baquero, F., 2015. What is a resistance gene? Ranking risk in resistomes. Nat. Rev. Microbiol. 13, P.116.
- 10 Vikesland, P.J., Pruden, A., Alvarez, P.J., Aga, D., Bürgmann, H., Li, X.-d., Manaia, C.M., Nambi, I., Wigginton, K., Zhang, T., 2017. Toward a comprehensive strategy to mitigate dissemination of environmental sources of antibiotic resistance. Environ. Sci. Technol. 55, P.13061–13069.
- 11 Read AF, Woods RJ. Antibiotic resistance management. Evol Med Public Health. 2014; 2014(1): P.147.

12 Hidron, A.I., Edwards, J.R., Patel, J., Horan, T.C., Sievert, D.M., Pollock, D.A., Fridkin, S.K., 2008. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006–2007. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 29, P.996–1011.

13 ECDC/EMEA *The bacterial challenge: time to react*. Stockholm: European Center for Disease Prevention and Control; 2009.

14 Kawecki D, Pacholczyk M, Lagiewska B, Sawicka-Grzelak A, Durlik M, Mlynarczyk G, et al. Bacterial and fungal infections in the early post-transplantation period after liver transplantation: etiologic agents and their susceptibility. *Transplant Proc.* 2014; 46(8): P.2777–2781.

15 Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF, Shankaran S, Laptook AR, Walsh MC, et al. Neonatal outcomes of extremely preterm infants from the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics.* 2010; 126(3). P.443–56.

16 Patel SJ, Saiman L. Antibiotic resistance in neonatal intensive care unit pathogens: mechanisms, clinical impact, and prevention including antibiotic stewardship. *Clin Perinatol.* 2010; 37(3): P.547–63.

17 Centers for Disease Control and Prevention, Office of Infectious Disease Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. Apr, 2013.

18 Luyt CE, Brechot N, Trouillet JL, Chastre J. Antibiotic stewardship in the intensive care unit. *Crit Care.* 2014; 18(5). P.480.

19 Ashbolt, N.J., Amézquita, A., Backhaus, T., Borriello, P., Brandt, K.K., Collignon, P., Coors, A., Finley, R., Gaze, W.H., Heberer, T., 2013. Human health risk assessment (HHRA) for environmental development and transfer of antibiotic resistance. *Environ. Health Perspect.* 121, P.993.

20 Pruden, A., Pei, R., Storteboom, H., Carlson, K.H., 2006. Antibiotic resistance genes as emerging contaminants: studies in northern Colorado. *Environ. Sci. Technol.* 40, P.7445–7450.

21 Andriukov B.G., Nedashkovskaja E.P. Vstupaja v post-antibiotikovuju jeru: perspektivnye strategii poiska novyh al'ternativnyh strategij bor'by s infekcionnymi zabolevanijami. *Zdorov'e. Medicinskaja jekologija. Nauka.* 2018; 3(75). S. 36-50.

22 Aleksjuk M.S., Aleksjuk P.G., Bogojavlenskij A.P., Berezin V.Je. Fagi *Pseudomonas aeruginosa* – kak al'ternativnyj podhod v antimikrobnoj terapii. *Vestnik KazNMU.* 2018; 3. S. 172 – 177.

23 Mazunik N. N. Klinicheskie osobennosti, diagnostika i lechenie smeshannyh form ostryh respiratornyh virusnyh infekcij u detej: avtoref. ... kand. med. nauk: 14.00.10. - infekcionnye bolezni dissertacii na soiskanie uchenoj stepeni kandidata medicinskih nauk M., 2007. – 24 s.

24 Savitskaya I.S., Bondarenko, V.M. Inhibition of mutagen activity of colon metabolites by normal microbiocenosis. *Zhurnal mikrobiologii, epidemiologii, i immunobiologii.* 2008; Issue 3. P. 53-58.

25 Jeong D., Kim D-H., Il-Byeong Kang, Kim H., Song K-Y., Kim H-S., Seo K-H. Characterization and antibacterial activity of a novel exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* DN1 isolated from kefir. *Food Control.* 2017; Vol. 78. P. 436-442.

26 Oliveira F.E., Rossoni R.D., Barros P.P., Begnini B.E., Junqueira J.C., Cardoso Jorge A.O., Pereira Leão M.V., Oliveira L.D. Immunomodulatory effects and anti-*Candida* activity of lactobacilli in macrophages and in invertebrate model of *Galleria mellonella*. *Microbial Pathogenesis.* 2017; Vol. 110. P. 603-611.

27 Sandes S., Alvim L., Silva B., Acurcio L., Santos C., Campos M., Santos C., Nicoli J., Neumann E., Nunes Á. Selection of new lactic acid bacteria strains bearing probiotic features from mucosal microbiota of healthy calves: Looking for immunobiotics through *in vitro* and *in vivo* approaches for immunoprophylaxis applications. *Microbiological Research.* 2017; Vol. 200. P. 1-13.

28 Dargahi N., Johnson J., Donkor O., Vasiljevic T., Apostolopoulos V. Immunomodulatory effects of *Streptococcus thermophilus* on U937 monocyte cell cultures. *Journal of Functional Foods.* 2018; Vol. 49. P. 241-249.

29 Stoyanova L.G., Ustyugova L.G., Netrusov A.I. Antimicrobniye metabolity molochnokislyh bakteriy: raznoobrazie i svoistva (obzor). *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya.* 2012; 48, 3. p. 259–275. (in russ)

30 Arena M.P., Capozzi V., Russo P., Drider D., Spano G., Fiocco D. Immunobiosis and probiosis: antimicrobial activity of lactic acid bacteria with a focus on their antiviral and antifungal properties. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2018; Vol. 102(23). P. 9949-9958.

31 Saladino F., Luz C., Manyes L., Fernández-Franzón M., Meca G. In vitro antifungal activity of lactic acid bacteria against mycotoxigenic fungi and their application in loaf bread shelf life improvement. *Food Control.* 2016; Vol. 67. - P. 273-277.

- 32 Le Lay C., Coton E., Le Blay G., Chobert J.-M., Haertlé Th., Choiset Y., Van Long N.N., Meslet-Cladière L., Mounier J. Identification and quantification of antifungal compounds produced by lactic acid bacteria and propionibacteria. *International Journal of Food Microbiology*. 2016; Vol. 239. P. 79–85.
- 33 Inglin R.C., Stevens M.J.A., Meile L., Lacroix Ch., Meile L. High-throughput screening assays for antibacterial and antifungal activities of *Lactobacillus* species. *Journal of Microbiological Methods*, 2015; Vol. 114. P. 26–29.
- 34 Schnürer J., Magnusson J. Antifungal lactic acid bacteria as biopreservatives. *Trends Food Sci. Technol.* 2005; Vol. 16. P. 70–78.
- 35 Dalié D.K.D., Deschamps A.M., Richard-Forget F. Lactic acid bacteria—Potential for control of mould growth and mycotoxins: A review. *Food Control*. 2010; Vol. 21. P. 370–380.
- 36 Crowley S., Mahony J., van Sinderen D. Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives. *Trends Food Sci. Technol.* 2013; Vol. 33. P. 93–109.
- 37 Maeda N., Nakamura R., Hirose Y., Murosaki S., Yamamoto Y., Kase T., Yoshikai Y. Oral administration of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 enhances protection against influenza virus infection by stimulation of type I interferon production in mice. *Int Immunopharmacol.* 2009; Vol. 9. P.1122–1125.
- 38 Boge T., Remigy M., Vaudaine S., Tanguy J., Bourdet-Sicard R., van der Werf S. A probiotic fermented dairy drink improves antibody response to influenza vaccination in the elderly in two randomized controlled trials. *Vaccine*. 2009; Vol. 27. P. 5677–5684.
- 39 Olivares M., Diaz-Ropero M.P., Sierra S., Lara-Villoslada F., Fonolla J., Navas M., Rodriguez J.M., Xaus J. Oral intake of *Lactobacillus fermentum* CECT5716 enhances the effects of influenza vaccination. *Nutrition*. 2007; Vol.23. P. 254–260.
- 40 Rautava S., Salminen S., Isolauri E. Specific probiotics in reducing the risk of acute infections in infancy a randomised, double-blind, placebo-controlled study. *Br J Nutr.* 2009; Vol. 101. P. 1722–1726.
- 41 G. Tellez, C. Pixley, R. Wolfenden, S. Layton and B. Hargis, “Probiotics. Direct Fed Microbials for Salmonella Control in Poultry,” *Food Research International*. 2012; Vol. 45 (2). P. 628-633.
- 42 Soomro, R. N., M. E. Abd El-Hack, S. S. Shah, A. E. Taha, M. Alagawany, A. A. Swelum, E. O. S. Hussein, H. A. Ba-Aawdh, I. Saadeldin, and M. A. El-Edel, et al. 2019. Impact of restricting feed and probiotic supplementation on growth performance, mortality and carcass traits of meat-type quails. *Anim. Sci. J.* 90:P.1388–1395
- 43 Mohammadreza, K., H. Seyyed-Hamed, J. Faramin, N. Mehran, S. Alireza, T. K. Isam, L. Vito, and T. Vincenzo. 2020. Effects of dietary chicory (*chicorium intybus* L.) and probiotic Blend as natural feed Additives on performance traits, Blood Biochemistry, and gut microbiota of broiler chickens. *Antibiotics* 9:P.5.
- 44 Salehizadeh, M., M. H. Modarressi, S. N. Mousavi, and M. T. Ebrahim. 2020. Evaluation of lactic acid bacteria isolated from poultry feces as potential probiotic and its in vitro competitive activity against *Salmonella typhimurium*. *Vet. Res. Forum* 11:P.67–75.
- 45 Gaggia F., Mattarelli P., Biavati B. (2010). Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *Int. J. Food Microbiol.* 141 S15–S28. 10.1016/j.ijfoodmicro.2010.02.031
- 46 FAO (2016). “Probiotics in animal nutrition – Production, impact and regulation,” in *Makkar FAO Animal Production and Health Paper No. 179*, ed. Harinder P. S. (Rome: FAO).
- 47 Le Lay C., Mounier J., Vasseur V., Weill A., Le Blay G., Barbier G., Coton E. In vitro and in situ screening of lactic acid bacteria and propionibacteria antifungal activities against bakery product spoilage molds. *Food Control*. 2016; Vol. P. 247-255.
- 48 Ryu E.H., Yang E.J., Woo E.Rh., Chang H.Ch. Purification and characterization of antifungal compounds from *Lactobacillus plantarum* HD1 isolated from kimchi. *Food Microbiology*. 2014; Vol. 41. P. 19-26.
- 49 Inturri R., Trovato L., Li Volti G., Oliveri S., Blandino G. In vitro inhibitory activity of *Bifidobacterium longum* BB536 and *Lactobacillus rhamnosus* HN001 alone or in combination against bacterial and *Candida* reference strains and clinical isolates. *Heliyon*. Vol. 5, Issue 11, e02891.
- 50 Stoyanova L.G., Gabrielyan N.I., Krupenio T.V., Sharapchenko S.O. Antagonisticheskoye vzaimodeistvie shtammov *Lactococcus Lactis* ssp. *Lactis* и *Klebsiella pneumonia*. *Meditsynskiy alfavit*. 2017; 4 (38). p. 18-24. (in russ)
- 51 Ramsdale M., Selway L., Stead D., J. Walker, Z. Yin, S.M. Nicholls, J. Crowe, E.M. Sheils, A.J.P. Brown. MNL1 regulates weak acid-induced stress responses of the fungal pathogen *Candida albicans*. *Molecular Biology of the Cell* Vol. 2008; Vol. 19. P. 4393–4403.

- 52 Cottier F., Tan A.S., Xu X., Wang Y., Pavelka N. IG1 Regulates Resistance of *Candida albicans* against the fungistatic effect of weak organic acids. *Eukaryot Cell*. 2015; Vol. 14(10). P. 1054-1061.
- 53 Scaffaro R., Lopresti F., D'Arrigo M., Marino A., Nostro A. Efficacy of poly(lactic acid)/carvacrol electrospun membranes against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* in single and mixed cultures. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2018; V.102, Issue 9. P. 4171–4181.
- 54 Cottier F., Tan A.S.M., Yurieva M., Liao W., Lum J., Poidinger M., Zolezzi F., Pavelka N. The Transcriptional Response of *Candida albicans* to Weak Organic Acids, Carbon Source, and MIG1 Inactivation Unveils a Role for HGT16 in Mediating the Fungistatic Effect of Acetic Acid. *G3 (Bethesda)*. 2017; Vol. 7(11). P. 3597-3604.
- 55 Komalapriya C., Kaloriti D., Tillmann A.T., Yin Z., Herrero-de-Dios C., Jacobsen M.D., Belmonte R.C., Cameron G., Haynes K., Grebogi C., de Moura A.P., Gow N.A., Thiel M., Quinn J., Brown A.J., Romano M.C. Integrative Model of Oxidative Stress Adaptation in the Fungal Pathogen *Candida albicans*. *PLoS One*. 2015; Vol. 10(9): e0137750. doi: 10.1371/journal.pone.0137750.
- 56 Matsubara V.H., Wang Y., Bandara H.M., Mayer M.P., Samaranayake L.P. Probiotic lactobacilli inhibit early stages of *Candida albicans* biofilm development by reducing their growth, cell adhesion, and filamentation. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2016; Vol. 100(14). P. 6415-6426.
- 57 Fajzullina E.V., Fajzullin V. A., Glushko N.I. Novye podhody k diagnostike i lecheniju kandidoza zheludka. *Problemy medicinskoj mikologii*. 2003; V.5 (2). S.47.
- 58 Gracheva N.M., V.M. Bondarenko Probioticheskie preparaty v terapii i profilaktike disbakterioza kishechnika. *Infekcionnye bolezni*. 2004; V.2 (2). S. 53-58.
- 59 Bondarenko V.M., Vorob'ev A. A. Disbiozy i preparaty s probioticheskoy funkciej. *Mikrobiol*. 2004; 1. S. 84-92.
- 60 Nishie M., Nagao J-I., Sonomoto K. Antibacterial peptides "bacteriocins": an overview of their diverse characteristics and applications. *Biocontrol Sci*. 2012; Vol. 17(1). P. 1-16.
- 61 Valyshev A.V., Valysheva N.A. Kombinacija antibiotikov i bakteriocinov – jeffektivnyj sposob bor'by s rezistentnymi mikroorganizmami. *Bjulleten' Orenburgskogo nauchnogo centra UrO RAN*. 2016; 4. p.6.
- 62 Mills S., Ross R.P., Hill C. Bacteriocins and bacteriophage; a narrow-minded approach to food and gut microbiology. *FEMS Microbiol Rev*. 2017; Vol. 41(Supp_1). P. 129-S153.
- 63 E. Bartkiene, M. Ruzauskas, V. Bartkevics, I. Pugajeva, P. Zavistanaviciute, V. Starkute, E. Zokaityte, V. Lele, A Dauksiene, M. Grashorn, L. E. Hoelzle, A. Mendybayeva, R. Ryshyanova, R.Gruzauskas. Study of the antibiotic residues in poultry meat in some of the EU countries and selection of the best compositions of lactic acid bacteria and essential oils against *Salmonella enterica*. *Poultry Science*. Volume 99, Issue 8, 2020, Pages 4065-4076
- 64 A. Vimont, B. Fernandez, R. Hammami, A. Ababsa, H. Daba, I. Fliss. Bacteriocin-producing *Enterococcus faecium* LCW 44: a high potential probiotic candidate from raw camel milk. *Front Microbiol*, 8 (2017), P. 865
- 65 X. Lü, P. Hu, Y. Dang, B. Liu. Purification and partial characterization of a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus casei* TN-2 isolated from fermented camel milk (Shubat) of Xinjiang Uygur Autonomous region, China. *Food Control*, 43 (2014), P. 276-283
- 66 A.E. Abo-Amer. Inhibition of foodborne pathogens by a bacteriocin-like substance produced by a novel strain of *Lactobacillus acidophilus* isolated from camel milk. *Appl Biochem Microbiol*, 49 (2013), P. 270-279
- 67 Z. Benmechernene, H.F. Chentouf, B. Yahia, G. Fatima, M. Quintela-Baluja, P. Calo-Mata, et al. Technological aptitude and applications of *Leuconostoc mesenteroides* bioactive strains isolated from Algerian raw camel milk. *BioMed Res Int* (2013), P. 1-14
- 68 Bartkiene, E., V. Lele, V. Sakiene, P. Zavistanaviciute, M. Ruzauskas, J. Bernatoniene, V. Jakstas, P. Viskelis, D. Zadeike, and G. Juodeikiene. 2019. Improvement of the antimicrobial activity of lactic acid bacteria in combination with berries/fruits and dairy industry by-products. *J. Sci. Food Agric*. 99:P.3992–4002
- 69 Byakika S., Mukisa I.M., Mugabi R., Muyanja C. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria starters against acid tolerant, antibiotic resistant, and potentially virulent *E. coli* isolated from a fermented sorghum-millet beverage. *International Journal of Microbiology*. 2019; Vol. 2019. Article ID 2013539. 10 p.
- 70 Manzoor A., Ul-Haq I., Baig S., Qazi J.I., Seratlic S. Efficacy of Locally Isolated Lactic Acid Bacteria Against Antibiotic-Resistant Uropathogens. *Jundishapur J Microbiol*. 2016; Vol. 9(1): e18952.

- 71 Kwak M.-K., Liu R., Kang S.-O. Antimicrobial activity of cyclic dipeptides produced by *Lactobacillus plantarum* LBP-K10 against multidrug-resistant bacteria, pathogenic fungi, and influenza A virus. Food Control. 2018; Vol. 85. P. 223-234.
- 72 Mathur, R. Singh. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria—a review. Int. J. Food Microbiol., 105 (3) (2005), P. 281-295
- 73 S. Gazzola, C. Fontana, D. Bassi, P. Cocconcelli. Assessment of tetracycline and erythromycin resistance transfer during sausage fermentation by culture-dependent and-independent methods. Food Microbiol., 30 (2) (2012), P. 348-354.
- 74 M. Gueimonde, B. Sánchez, C.G. de los Reyes-Gavilán, A. Margolles. Antibiotic resistance in probiotic bacteria. Front. Microbiol. 4 (2013), P. 202
75. B.M. Marshall, S.B. Levy. Food animals and antimicrobials: impacts on human health. Clin. Microbiol. Rev., 24 (4) (2011), P. 718-733
- 76 Egervärn M, Roos S, Lindmark H: Identification and characterization of antibiotic resistance genes in *Lactobacillus reuteri* and *Lactobacillus plantarum*. J Appl Microbiol. 2009, 17: P.1658-1668.
- 77 Gueimonde M, Sánchez B, de Los Reyes-Gavilán CG, Margolles A: Antibiotic resistance in probiotic bacteria. Front Microbiol. 2013, 4: P.202.
- 78 Danielsen M, Wind A: Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents. Int J Food Microbiol. 2003, 82: P.1-11.
- 79 Ammor MS, Flórez AB, Van Hoek AHAM, de Los Reyes-Gavilán CG, Aarts HJM, Margolles A, Mayo B: Molecular characterization of intrinsic and acquired antibiotic resistance in lactic acid bacteria and *bifidobacteria*. J Mol Microbiol Biotechnol. 2008, 14: P.6-15.
- 80 Korhonen JM, Danielsen M, Mayo B, Egervärn H, Axelsson L, Huys G: Antimicrobial susceptibility and proposed microbiological cut-off values of lactobacilli by phenotypic determination. Int J Probiot Prebiot. 2008, 3:P. 257-268.
- 81 Mayrhofer S, van Hoeck AHAM, Mair C, Huys G, Arts HJM, Kneifel W: Antibiotic susceptibility of members of the *Lactobacillus acidophilus* group using broth microdilution and molecular identification of their resistance determinants. Int J Food Microbiol. 2010, 144: P. 81-87.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

МРНТИ 34.25.29

С.Б. БАЙСЕЙТ¹, А.М. БАЙМУХАМЕТОВА¹, Г.В. ЛУКМАНОВА¹,
Н.Т. САКТАГАНОВ¹, Д.А. ИСМАГУЛОВА¹, Т.И. ГЛЕБОВА¹,
Н.Г. КЛИВЛЕЕВА¹, Е.И. ИСАЕВА²

¹ ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии»,
Алматы, Казахстан

² ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и
микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава РФ,
Москва, Россия

**ВИРУСЫ ГРИППА А И В, ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ НА ТЕРРИТОРИИ
ЮЖНОГО КАЗАХСТАНА В ЭПИДЕМИЧЕСКИЙ ПЕРИОД 2020-2021 гг.**

<https://doi.org/10.53729/MV-AS.2021.01-02.02>

Аннотация

В статье показаны результаты мониторинга циркуляции разных серотипов вируса гриппа на территории южного Казахстана в эпидемический период 2020-2021 гг. С этой целью в период с декабря 2020 г. по февраль 2021 г. в лечебных учреждениях различных регионов южного Казахстана от больных людей получено 370 носоглоточных смывов.

При скрининге образцов в полимеразной цепной реакции в режиме реального времени обнаружен генетический материал как вируса гриппа А (8,11% случаев), так и вируса гриппа В (5,14%). При субтипировании образцов, положительных на грипп типа А, РНК вируса гриппа А/Н1N1/pdm выявлена в 2,97% проб, А/Н3N2 – в 3,51%.

В результате последовательных пассажей биопроб на куриных эмбрионах выделено три гемагглютинирующих агента, идентифицированных в реакции торможения гемагглютинации и реакции ингибции нейраминидазной активности как вирусы гриппа А/Н1N1/pdm, А/Н3N2 и типа В.

Ключевые слова: вирус гриппа, циркуляция, изолят, гемагглютинин, нейраминидаза.

Доля гриппа и ОРЗ составляет до 40% всех заболеваний взрослых, более 80% всей инфекционной патологии и более 60% заболеваний среди детей. В разных странах смертность от гриппа колеблется от 2 до 80 случаев на 100 000 населения. По данным ВОЗ, в мире ежегодные эпидемии гриппа сопровождаются примерно 3–5 млн. случаев тяжелых форм заболевания и 250–500 тысяч случаев смерти [1].

В крупных городах и промышленных регионах заболеваемость гриппом регистрируется постоянно в течение года. Вирусы гриппа сохраняются в организме человека, определяя спорадическую заболеваемость в летние месяцы, чем обеспечивают непрерывность эпидемического процесса гриппозной инфекции [2].

В этиологии заболеваемости гриппом основная роль принадлежит вирусам гриппа типов А (Н1N1 и Н3N2) и В. В отличие от вирусов гриппа В, вирусы гриппа А характеризуются высокой вариабельностью, обусловленной быстрой репликацией и огромной частотой мутаций, приводящей к появлению вирусов с новыми антигенными свойствами, что позволяет им преодолеть штаммоспецифический иммунитет в популяции и достичь эпидемического распространения [3, 4].

В связи с этим, в период эпидемических подъемов заболеваемости актуальной задачей является проведение ранней этиологической диагностики для контроля распространения вирусов гриппа и возникновения нового возбудителя пандемии [5].

Цель исследования состояла в выявлении вирусов гриппа, циркулирующих среди населения южного Казахстана в эпидемический период 2020-2021 гг.

Материалы и методы

Носоглоточные смывы от людей собирали в стерильные флаконы с 2 мл среды 199, 0,5% бычьим сывороточным альбумином и комплексом антибиотиков (пенициллин – 50 000 ед/мл, стрептомицин – 50 мкг/мл, гентамицин – 3000 мкг/мл, нистатин – 5000 ед/мл). Пробы выдерживали в течение суток при 4°C и хранили в жидком азоте [6].

Первичный скрининг биологических проб осуществляли в полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (РТ-ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией на амплификаторе Rotor-Gene Q 6Plex (QIAGEN, Германия) с применением наборов «РИБО-преп», «АмплиСенс® Influenza virus A/B-FL», «АмплиСенс® Influenza virus A-тип-FL» и «АмплиСенс® Influenza virus A/H1-swine-FL» производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора (г. Москва).

Изоляцию гемагглютинирующих агентов (ГАА) проводили на развивающихся 9–11-дневных куриных эмбрионах. Для индикации вируса в реакции гемагглютинации (РГА) использовали 0,75% взвесь эритроцитов петуха и человека I(0) группы крови [6]. Для постановки реакции торможения гемагглютинации (РТГА) и реакции ингибции нейраминидазной активности (РИНА) использовали коммерческие наборы диагностикумов и диагностических сывороток к вирусам гриппа А подтипов А/Н1N1, А/Н3N2 и типа В производства ФГБУ НИИ гриппа имени А.А. Смородинцева Министерства здравоохранения РФ (г. Санкт-Петербург), согласно рекомендациям ВОЗ [7].

Результаты и обсуждение

Для изучения циркуляции вирусов гриппа в период с декабря 2020 г. по февраль 2021 г. от пациентов, госпитализированных с признаками острой респираторной вирусной инфекции, в различных регионах южного Казахстана, совместно с медицинским персоналом, проведен сбор биологического материала (носоглоточные смывы). Всего в лечебных учреждениях г. Алматы, Жамбылской и Туркестанской областей было собрано 370 образцов.

Результаты первичного скрининга на наличие возбудителей вирусов гриппа в РТ-ПЦР представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Первичный скрининг в РТ-ПЦР носоглоточных смывов, собранных от людей

Место сбора	Количество исследованных носоглоточных смывов	Количество ПЦР-положительных проб					
		Вирус гриппа	Вирус гриппа типа А	Подтип		Вирус гриппа А с неустановленным подтипом	Вирус гриппа типа В
				А/Н1N1 pdm	А/Н3N2		
г. Алматы	121	12	7	3	2	2	5
Жамбылская область	182	28	20	6	10	4	8
Туркестанская область	67	9	3	2	1	0	6
Всего	370	49	30	11	13	6	19
Процент:	100%	13,24%	8,11%	2,97%	3,51%	1,62%	5,14%

Как представлено в таблице 1, генетический материал вируса гриппа обнаружен в 49 смывах (13,24% от общего числа исследованных проб): вирус гриппа типа А – в 30 пробах (8,11%), вирус гриппа типа В – в 19 (5,14%). РНК вируса гриппа А/Н1N1/09pdm обнаружена в 11 смывах (2,97%), вируса А/Н3N2 – в 13 образцах (3,51%). В шести пробах (1,62%), положительных на вирус гриппа типа А, субтип установить не удалось.

Таким образом, результаты первичного скрининга носоглоточных смывов в РТ-ПЦР показали, что среди населения в эпидемический сезон 2020-2021 гг. циркулируют вирусы гриппа типа А и В с преобладанием вирусов типа А.

В результате первичного заражения и трех последовательных пассажей выделено три ГАА с титрами в РГА 1:16 – 1:64: два - из материалов, собранных в г. Алматы и один – из Жамбылской области. Идентификацию трех полученных ГАА проводили в РТГА и РИНА.

Результаты определения подтипа гемагглютинирина в РТГА с помощью набора референсных сывороток представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Идентификация подтипа гемагглютинирина изолятов 2021 г. в реакции торможения гемагглютинации

Антигены	Диагностическая сыворотка к референсному штамму с антигенной формулой			
	A/H1N1	A/ H1N1pdm	A/H3N2	типа В
Гомологичный к диагностической сыворотке вирус	160*	160	160	160
Алматы/01/21	<20	<20	80	<20
Алматы/02/21	<20	40	<20	<20
Жамбыл/03/21	<20	<20	<20	40
Примечание – *даны обратные величины титров специфических антигемагглютининов				

Из таблицы 2 видно, что гемагглютинирующая активность алматинского изолята 01/21 в 1/2 гомологичного титра подавлялась иммунной сывороткой к вирусу А/Н3N2, с сыворотками к вирусам А/Н1N1, А/Н1N1pdm и типа В получены отрицательные результаты. Гемагглютинирующая активность алматинского изолята 02/21 в 1/4 гомологичного титра подавлялась сывороткой к вирусу А/Н1N1pdm, с сыворотками к вирусам гриппа А/Н3N2 и типа В не взаимодействовала. Гемагглютинирующая активность изолята из Жамбылской области в 1/4 гомологичного титра подавлялась сывороткой к вирусу гриппа типа В.

Идентификация подтипа нейраминидазы вирусов гриппа А, проведенная в РИНА, показала, что ферментативная активность алматинского изолята 02/21 ингибировалась поликлональной диагностической сывороткой к вирусу А/Н1N1pdm, а изолята Алматы/01/21 – поликлональной диагностической сывороткой к вирусу А/Н3N2.

Идентификация, проведенная в РТ-ПЦР, подтвердила антигенную формулу всех трех изолятов.

Закключение

Вирусы гриппа вызывают ежегодно повторяющиеся эпидемические вспышки у людей. Грипп в патогенезе инфекционных заболеваний остается одной из основных причин заболеваемости и смертности населения [8].

Первичный скрининг носоглоточных смывов в РТ-ПЦР указывает на циркуляцию среди людей в зимний период 2020 – 2021 гг. на территории южного Казахстана вирусов гриппа А/Н1N1pdm, А/Н3N2 и типа В. Циркуляция данных вирусов подтверждена изоляцией трех штаммов вирусов гриппа А и В.

Результаты исследований РТ-ПЦР носоглоточных смывов, полученных от больных людей в эпидемический период 2020-2021 гг., на наличие вирусов гриппа коррелируют с результатами предшествующих эпидемических сезонов 2017-2018 гг. и 2019-2020 гг.

В отличие от эпидемического сезона 2016-2017 гг., когда в Республике Казахстан не выявлены вирусы гриппа А/Н1N1pdm [9, 10] в настоящее время наблюдается продолжение циркуляции вирусов гриппа А(Н1N1pdm и Н3N2) и типа В.

Полученные данные свидетельствуют о необходимости постоянного мониторинга циркуляции вирусов гриппа среди людей в различных регионах Казахстана для своевременного прогнозирования эпидемической ситуации и проведения профилактических мероприятий.

Литература:

- 1 Глебова Т.И., Кливлеева Н.Г., Шаменова М.Г., Сактаганов Н.Т., Лукманова Г.В., Калкожаева М.К., Мурзагалиева А.Ж., Досанкызы Г. Циркуляция вирусов гриппа в Аральском регионе Республики Казахстан в эпидемический сезон 2015 г. // Вестник КазНМУ. – 2016. - №1. – С. 123-126.
- 2 Белокриницкая Т.Е., Шаповалов К.Г. Грипп и беременность // ГЭОТАР-Медиа, – 2015. – С. 144 (Серия "Библиотека врача-специалиста") - ISBN 978-5-9704-3594-6.
- 3 Peteranderl Ch., Herold S., Schmoldt C., Human Influenza Virus Infections // Semin Respir Crit Care Med. - 2016 Aug., - №37(4), - P.487–500 (doi: [10.1055/s-0036-1584801](https://doi.org/10.1055/s-0036-1584801)).
- 4 Klivleyeva N.G., Ongarbayeva N.S., Sakraganov N.T., Glebova T.I., Lukmanova G.V., Shamenova M.G., Sayatov M.Kh., Berezin V.E., Nusupbaeva G.E., Aikimbayev A.M., Webby R.J. Circulation of influenza viruses among humans and swine in the territory of Kazakhstan during 2017-2018 // Bulletin of National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. – 2019. - №2. – P. 6-13.
- 5 Лаврищева В.В., Бурцева Е.И., Хомяков Ю.Н., Шевченко Е.С., Оскерко Т.А., Иванова С.М., Данилевская М.М., Щелканов М.Ю., Федякина И.Т., Альховский С.В., Прилипов А.Г., Журавлева М.В., Колобухина Л.В., Малышев Н.А., Львов Д.К. Этиология летальных пневмоний в период развития пандемии, вызванной вирусом гриппа А(Н1N1)pdm2009 в России // Вопросы вирусологии – 2013. – С. 17-21.
- 6 WHO. Manual for on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance, Geneva. – 2002. – P.105
- 7 Dowdal W.A., Kendal A., Noble G.R. Influenza virus // Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infection. Washington. – 1979. – P. 585-609.
- 8 Liu X., Zhang B., Wang Y., Haymour H.S., Zhang F., Xu L.C., Srinivasarao M., Low P.S. A universal dual mechanism immunotherapy for the treatment of influenza virus infections. / Nat Commun. 2020. - 11(1):5597 (doi: 10.1038/s41467-020-19386-5).
- 9 Баймухаметова А.М., Онгарбаева Н.С., Сактаганов Н.Т., Лукманова Г.В., Глебова Т.И., Кливлеева Н.Г. Циркуляция гриппа и острых респираторных инфекций в южном регионе Казахстана в 2018- 2019 гг. // 24-я Межд. Пушкинская школа-конференция молодых ученых «Биология. Наука 21 века». – 2020. – С 393-394.
- 10 Смагул М.А., Нусупбаева Г.Е., Айкимбаев А.М., Березин В.Э., Кливлеева Н.Г. Надзор за гриппом и острыми респираторными вирусными инфекциями в Казахстане // Медицина (ИФ КБЦ – 0,024). - 2018. – № 8. – С. 25-31.

С.Б. БАЙСЕЙІТ¹, А.М. БАЙМУХАМЕТОВА¹, Г.В. ЛУКМАНОВА¹,
Н.Т. САКТАГАНОВ¹, Д.А. ИСМАГУЛОВА¹, Т.И. ГЛЕБОВА¹,
Н.Г. КЛИВЛЕЕВА¹, Е.И. ИСАЕВА²

¹ «Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы» ЖШС,
Алматы, Қазақстан

² «Академик Н.Ф. Гамалеи атындағы эпидемиология және микробиология федералды
ғылыми-зерттеу орталығы» Федералдық мемлекеттік бюджеттік мекеме,
Мәскеу, Ресей

2020-2021 ЖЫЛДАР ЭПИДЕМИЯЛЫҚ КЕЗЕҢДЕГІ ОҢТҮСТІК ҚАЗАҚСТАН АУМАҒЫНДАҒЫ А ЖӘНЕ В ТҰМАУ ВИРУСТАР АЙНАЛЫМЫ.

Түйін

Мақалада 2020-2021 жж. эпидемиялық кезеңдегі Оңтүстік Қазақстан аумағында тұмау вирусының түрлі серотиптерінің айналымын тексеру жұмыстары көрсетілген. Осы мақсатқа байланысты 2020 жылдың желтоқсанынан 2021 жылдың ақпанына дейін Оңтүстік Қазақстанның түрлі өңірлеріндегі емдеу мекемелерінде ауру адамдардан 370 мұрын-жұтқыншақ шайындылары алынды.

Үлгілерді нақты уақыт режимінде полимеразды тізбекті реакцияда скрининг кезінде А тұмауы вирусының (8,11% жағдай) және В тұмауы вирусының (5,14%) генетикалық материалы анықталды. Оң нәтиже берген А типті тұмау үлгілерін субтиптеу кезінде сынамалардың 2,97% А/Н1N1/pdm тұмауы вирусының РНҚ оң нәтиже берсе, А/Н3N2-3,51% - да анықталды.

Биосынамаларды тауық эмбриондарына жұқтыру арқылы, гемагглютинациян тежелу реакциясында және нейраминидаздық белсенділіктің тежелу реакциясында A/H1N1pdm, A/H3N2 және B типтегі вирустар болып анықталған үш гемагглютининдеуші агент бөлініп алынды.

Кілтті сөздер: тұмау вирусы, айналым, изолят, гемагглютинин, нейраминидаза.

IRSTI 34.25.29

S.B.BAISEIT¹, A.M. BAIMUKHAMETOVA¹, G.V. LUKMANOVA¹,
N.T. SAKTAGANOV¹, D.A. ISMAGULOVA¹, T.I. GLEBOVA¹,
N.G. KLIVLEYEVA¹, E.I. ISAEVA²

¹ LLP Research and Production center for Microbiology and Virology, Almaty, Kazakhstan

² FSBI Federal Research Center for Epidemiology and Microbiology named after the honorary academician N.F. Gamaleya of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow, Russia

INFLUENZA A AND B VIRUSES CIRCULATING IN THE TERRITORY OF SOUTHERN KAZAKHSTAN DURING 2020-2021 EPIDEMIC PERIOD

<https://doi.org/10.53729/MV-AS.2021.01-02.02>

Summary

This paper demonstrates the results of monitoring the circulation of different serotypes of influenza virus in the territory of the southern Kazakhstan during the 2020-2021 epidemic period. For this purpose, 370 nasopharyngeal swabs were obtained from patients in healthcare facilities located in various regions of the southern Kazakhstan during the period from December 2020 to February 2021.

Screening of samples in real-time polymerase chain reaction has revealed genetic material of both influenza A virus (8.11% of cases) and influenza B virus (5.14%). When subtyping samples positive for influenza type A, the influenza A/H1N1/pdm virus RNA have been detected in 2.97% of samples, while that from the A/H3N2 virus in 3.51%.

As a result of successive passages of biosamples in chicken embryos, three hemagglutinating agents have been isolated and identified in the hemagglutination inhibition assay and the neuraminidase inhibition assay as influenza A/H1N1pdm, A/H3N2, and type B viruses.

Keywords: influenza virus, circulation, isolate, hemagglutinin, neuraminidase.

The share of influenza and ARD reaches 40% of all adult diseases, more than 80% of all infectious diseases and more than 60% of childhood illnesses. In different countries, influenza-related mortality ranges from 2 to 80 cases per 100,000 population. According to the WHO, annual influenza epidemics in the world are accompanied by approximately 3-5 million cases of severe forms of the disease and 250-500 thousand deaths [1].

Influenza incidence is constantly registered in large cities and industrial regions throughout the year. Influenza viruses persist in the human body due to which they cause sporadic morbidity in the summer months, thereby ensuring the continuity of the epidemic process of influenza infection [2].

Influenza type A (H1N1 and H3N2) and type B viruses play a key role in the etiology of the influenza. Unlike influenza B viruses, influenza A viruses are characterized by high variability due to rapid replication and a huge frequency of mutations, leading to the emergence of viruses with new antigenic properties, which allows them to overcome the strain-specific immunity among the population and achieve epidemic spread [3, 4].

In this regard, an urgent task is to conduct early etiological diagnostics during the period of epidemic rises in morbidity to control the spread of influenza viruses and the emergence of a new pandemic pathogen [5].

The purpose of the study was to identify influenza viruses circulating among the population of the southern Kazakhstan during the 2020-2021 epidemic period.

Materials and methods

Nasopharyngeal swabs from humans were collected in sterile vials with 2 mL of medium 199 with 0.5% bovine serum albumin and complex of antibiotics (penicillin 50,000 U/mL, streptomycin 50 µg/mL, gentamycin 3,000 µg/mL, nystatin 5,000 U/mL). The samples were kept for a day 4 °C and stored in liquid nitrogen [6].

The primary screening of biological samples was carried out in the real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) with hybridization-fluorescent detection on a Rotor-Gene Q 6Plex amplifier (QIAGEN, Germany) using RIBO-prep, AmpliSens® Influenza virus A/B-FL, AmpliSens® Influenza virus A-type-FL, and AmpliSens® Influenza virus A/H1-swine-FL reagent kits produced by the FBSI Central Research Institute of Epidemiology of Rospotrebnadzor (Moscow).

Hemagglutinating agents (HAA) were isolated on developing 9-11 day old chicken embryos. 0.75% suspension of erythrocytes of a rooster and a person with I(0) blood group was used to indicate the virus in the hemagglutination assay (HA) [6]. In order to set up the hemagglutination inhibition (HAI) assay and the neuraminidase inhibition (NAI) assay, we used commercial diagnosticums and diagnostic serum panels against influenza A virus subtypes A/H1N1, A/H3N2 and type B virus produced by FSBI A. Smorodintsev Research Institute of Influenza of the Ministry of Health of the Russian Federation (St. Petersburg), according to the WHO recommendations [7].

Results and discussion

To study the circulation of influenza viruses during the period from December 2020 to February 2021, biological material (nasopharyngeal swabs) have been collected together with medical personnel from patients hospitalized with signs of acute respiratory viral infection in various regions of southern Kazakhstan. In total, 370 samples have been obtained from healthcare facilities located in Almaty city, the Zhambyl and Turkestan oblasts.

The results of primary screening for the presence of influenza viruses in RT-PCR are presented in Table 1.

Table 1 – Primary RT-PCR based screening of nasopharyngeal swabs collected from humans

Sampling point	Number of examined nasopharyngeal swabs	Number of PCR-positive samples					
		Influenza virus	Influenza type A virus	Subtype		Influenza A virus with undefined subtype	Influenza type B virus
				A/H1N1 pdm	A/H3N2		
Almaty city	121	12	7	3	2	2	5
Zhambyl oblast	182	28	20	6	10	4	8
Turkestan oblast	67	9	3	2	1	0	6
Total	370	49	30	11	13	6	19
Percentage	100%	13.24%	8.11%	2.97%	3.51%	1.62%	5.14%

As shown in Table 1, the genetic material of influenza virus was found in 49 swabs (13.24% of the total number of examined samples), including influenza type A virus in 30 samples (8.11%), influenza type B virus – in 19 (5.14%). Influenza A/H1N1/09pdm virus RNA has been detected in 11 samples (2.97%) while that from the A/H3N2 virus in 13 samples (3.51%). In six samples (1.62%) positive for influenza type A virus, the subtype could not be identified.

The results of primary screening for nasopharyngeal swabs in RT-PCR therefore indicated the circulation of influenza type A and B viruses with the prevalence of type A viruses among the population during the 2020-2021 epidemic period.

As a result of primary infection and three consecutive passages, three HAAs were isolated with HA titers in the range of 1:16 - 1:64, of which two HAAs from samples collected in the Almaty city and one HAA from materials obtained in the Zhambyl oblast. The three isolated HAAs have been identified in the HAI and NAI assays.

The results of determining the hemagglutinin subtype in the HAI assay using a reference serum panel are presented in Table 2.

Table 2 – Identification of hemagglutinin subtype for the 2021 isolates in the hemagglutination inhibition assay

Antigen	Diagnostic serum against the reference strain with antigenic formula			
	A/H1N1	A/ H1N1pdm	A/H3N2	type B
Virus homologous to diagnostic serum	160*	160	160	160
Almaty/01/21	<20	<20	80	<20
Almaty /02/21	<20	40	<20	<20
Zhambyl /03/21	<20	<20	<20	40
Note – *the reciprocal values of specific antihemagglutinin titers are given				

Table 2 shows that hemagglutinating activity of the Almaty isolate 01/21 was suppressed by the immune serum against the A/H3N2 virus by 1/2 of the homologous titer, negative results were obtained with serums against A/H1N1, A/H1N1pdm and type B viruses. The hemagglutinating activity of Almaty isolate 02/21 was inhibited by serum against the A/H1N1pdm virus by 1/4 of the homologous titer; it did not interact with serums against the influenza A/H3N2 and type B viruses. The hemagglutinating activity of the isolate obtained from the Zhambyl oblast was inhibited by serum against the influenza type B virus by 1/4 of the homologous titer.

The identification of the neuraminidase subtype of influenza A viruses performed in the NAI assay showed that the enzymatic activity of the Almaty isolate 02/21 was inhibited by the polyclonal diagnostic serum against the A/H1N1pdm virus and that of the Almaty/01/21 isolate by the polyclonal diagnostic serum against the A/H3N2 virus.

The identification carried out in RT-PCR confirmed the antigenic formula of all three isolates.

Conclusion

Every year influenza viruses cause recurrent epidemic outbreaks in humans. As for the pathogenesis of infectious diseases, influenza remains one of the main causes of morbidity and mortality among the population [8].

The primary screening of nasopharyngeal swabs in RT-PCR indicates circulation of influenza A/H1N1pdm, A/H3N2, and type B viruses among humans during the 2020-2021 winter season in the territory of the southern Kazakhstan. The circulation of these viruses was confirmed by the isolation of three strains of influenza A and B viruses.

The RT-PCR results of nasopharyngeal swabs obtained from the patients in the 2020-2021 epidemic period for the presence of influenza viruses correlate with the data from the previous 2017-2018 and 2019-2020 epidemic seasons.

Unlike the 2016-2017 epidemic season, when no influenza A/H1N1pdm viruses were detected in the Republic of Kazakhstan [9, 10], currently there is a continuation of the circulation of influenza A (H1N1pdm and H3N2) and type B viruses.

The data obtained indicate the need for constant monitoring of the circulation of influenza viruses among humans in various regions of Kazakhstan for timely forecasting of the epidemic situation and taking preventive measures.

References:

- 1 Glebova TI, Klivleyeva NG, Shamenova MG, Saktaganov NT, Lukmanova GV, Kalkozhayeva MK, Murzagalieva AZh, Dosankyzy G. Cirkuljacija virusov grippa v Aral'skom regione Respubliki Kazakhstan v jepidemicheskij sezon 2015 g. Vestnik KazNMU. 2016. 1. S. 123-126.
- 2 Belokrinickaja TE, Shapovalov KG. Gripp i beremennost'. GJeOTAR-Media, 2015. S. 144 (Serija "Biblioteka vracha-specialista") - ISBN 978-5-9704-3594-6.
- 3 Peteranderl Ch, Herold S, Schmoldt C. Human Influenza Virus Infections. Semin Respir Crit Care Med. 2016, 37(4), P. 487–500 (doi: [10.1055/s-0036-1584801](https://doi.org/10.1055/s-0036-1584801)).
- 4 Klivleyeva NG, Ongarbayeva NS, Sakraganov NT, Glebova TI, Lukmanova GV, Shamenova MG, Sayatov MKh, Berezin VE, Nusupbaeva GE, Aikimbayev AM, Webby RJ. Circulation of influenza viruses among humans and swine in the territory of Kazakhstan during 2017-2018. Bulletin of National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. 2019. 2. P. 6-13.
- 5 Lavrishheva VV, Burceva EI, Homjakov JuN, Shevchenko ES, Oskerko TA, Ivanova SM, Danilevskaja MM, Shhelkanov MJu, Fedjakina IT, Al'hovskij SV, Prilipov AG, Zhuravleva MV, Kolobuhina LV, Malyshev NA, L'vov DK. Jetiologija letal'nyh pnevmonij v period razvitija pandemii, vyzvannoj virusom grippa A(H1N1)pdm2009 v Rossii. Voprosy virusologii. 2013. S. 17-21.
- 6 WHO. Manual for on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance, Geneva. 2002. P.105
- 7 Dowdal WA., Kendal A, Noble GR. Influenza virus. Diagnostic Procedures for Viral, Rickettsial and Chlamydial Infection. Washington. 1979. P. 585-609.
- 8 Liu X, Zhang B, Wang Y, Haymour HS, Zhang F, Xu LC, Srinivasarao M, Low PS. A universal dual mechanism immunotherapy for the treatment of influenza virus infections. Nat Commun. 2020. 11(1): 5597 (doi: [10.1038/s41467-020-19386-5](https://doi.org/10.1038/s41467-020-19386-5)).
- 9 Baimukhametova AM, Ongarbayeva NS, Saktaganov NT, Lukmanova GV, Glebova TI, Klivleyeva NG. Cirkuljacija grippa i ostryh respiratornyh infekcij v juzhnom regione Kazahstana v 2018-2019 gg. 24-ja Mezhd. Pushhinskaja shkola-konferencija molodyh uchenyh «Biologija. Nauka 21 veka». 2020. S 393-394.
- 10 Smagul MA, Nusupbaeva GE, Ajkimbaev AM, Berezin VJe, Klivleyeva NG. Nadzor za grippom i ostrymi respiratornymi virusnymi infekcijami v Kazahstane. Medicina. 2018. 8. S. 25-31.

МРНТИ 34.27.17

И.Э. СМЕРНОВА, Э.Р. ФАЙЗУЛИНА, Л.Г. ТАТАРКИНА, Г.Б. БАЙМАХАНОВА,
Г.А. СПАНКУЛОВА, А.Е. ЕЛУБАЕВА
ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии»,
Алматы, Казахстан

ФОСФАТМОБИЛИЗУЮЩИЕ БАКТЕРИИ ИЗ ПОЧВ АЛМАТИНСКОЙ ОБЛАСТИ КАЗАХСТАНА

<https://doi.org/10.53729/MV-AS.2021.01-02.03>

Аннотация

С полей сои Алматинской области Казахстана выделены аборигенные фосфатмобилизующие бактерии. Установлено, что их содержание в почве было низким и составляло 3-12% от общей численности бактериальной микрофлоры. Получено 32 чистые культуры фосфатмобилизующих бактерий, на основе которых создана коллекция. Изучены основные культурально-морфологические и биохимические признаки фосфатмобилизующих бактерий и проведена их первичная идентификация. Установлено, что выделенные бактерии относятся к родам *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Bacterium* и *Agrobacterium*.

Ключевые слова: фосфатмобилизующие бактерии, почва, выделение, чистые культуры

Одним из основных элементов питания растений, в том числе сельскохозяйственных культур, является фосфор. Этот элемент ускоряет процесс созревания культур,

увеличивает их холодостойкость и повышает устойчивость растений к стрессовым факторам, таким как засуха, засоленность и др. При низком содержании фосфора в почве задерживается рост и развитие растений, снижается иммунитет и устойчивость культур к вредителям и болезням [1]. Поэтому для получения высокой урожайности сельскохозяйственных культур в почву ежегодно вносится большое количество фосфорных удобрений. Так, в среднем по Алматинской области вносят 100-120 кг/га почвы, из них доступно для растений только 8-10%. В то же время, чрезмерное и систематическое внесение фосфорных удобрений приводит к загрязнению воды, почвы и другим негативным последствиям для окружающей среды [2].

В Казахстане более 70% пахотных земель имеют крайне низкое содержание доступных для растений соединений фосфора [3]. Так, в пахотном слое почв Юго-востока республики валовое содержание соединений фосфора в среднем составляет 3,0-5,0 т/га, из них количество доступных растениям форм фосфора не превышает 0,1-0,2 т/га, то есть, из пяти тонн фосфора за вегетационный сезон растения усваивают всего лишь 150-200 кг/га [4, 5].

Можно сказать, что, несмотря на высокое общее содержание фосфора в почвах, поглощение его затруднено, так как основная масса почвенного фосфора находится в труднодоступной для растений форме. Наблюдается большой разрыв между общим содержанием фосфатов в почве и доступных для растений соединений. Соответственно, *степень использования фосфора растениями из почвы и удобрений крайне мала.* Даже фосфаты, вносимые в почву в виде минеральных фосфорных удобрений, усваиваются растениями с низкой эффективностью. Так, коэффициент усвоения суперфосфата за вегетационный сезон составляет всего 8-10%, остальные 90-92% остаются мертвым запасом в почве [6].

Однако, внесение больших количеств фосфорных удобрений на поля приводит к нарушению агробиоценоза, обеднению полезной почвенной микрофлоры и, как результат, к снижению или даже гибели урожая. В этой связи требуется разработка эффективных способов и путей решения существующей проблемы.

Альтернативным путем преобразования труднодоступных форм фосфатов в доступные для растений соединения является применение фосфатмобилизующих микроорганизмов. В природе только эти микроорганизмы обладают способностью переводить такие соединения фосфора в растворимое состояние, способствуют мобилизации нерастворимых фосфатов и повышению их доступности для растений [7]. В результате применения микроорганизмов более 20-30% труднодоступных форм фосфатов за вегетационный период можно перевести в доступную растениям форму [8]. В связи с этим, поиск и нахождение активных штаммов фосфатмобилизующих микроорганизмов является весьма актуальным.

Интерес к выделению и использованию фосфатмобилизующих бактерий для разработки биопрепаратов во многих странах мира очень высок. Разработаны и успешно применяются многочисленные биопрепараты на основе этих бактерий («Bio-Phospho», «P.S.P.», «Putal P», «Putal NP» и др.) [9-11]. Большое внимание к использованию фосфатмобилизующих бактерий уделяется в России («Фосфобактерин», «Фосфатовит» и др.), Беларуси («Фитостимифос», «Ризобактерин» и др.), Украине («**Фосфоэнтерин**», «Альбобактерин») [12-16].

Целью данного исследования являлось выделение аборигенных фосфатмобилизующих бактерий, приспособленных к почвенно-климатическим условиям Казахстана, получение чистых культур, изучение основных свойств бактерий и их идентификация.

Материалы и методы

Объектами исследования служили фосфатмобилизующие бактерии, выделенные из почв, собранных на полях Алматинской области Казахстана, где выращивалась культура соя. Выделение аборигенных фосфатмобилизующих бактерий проводили из различных

типов почв. Полевой сбор почв проводили в соответствии с ГОСТ [17]. Точечные пробы (в количестве пяти штук) отбирали на пробной площадке из одного почвенного горизонта (8-10 см) методом конверта. Объединенную пробу составляли путем смешивания пяти точечных проб массой от 200 до 250 г каждая, отобранных на одной пробной площадке. Образцы почв для выделения микроорганизмов отбирали с соблюдением правил асептики.

Выделение фосфатмобилизирующих бактерий проводили из образцов почв по общепринятой методике [18,19]. Для выделения использовали жидкую питательную среду Муромцева. Культивирование фосфатмобилизирующих бактерий осуществляли при 28°C на шейкере при 180 об/мин в течение 3-5 дней.

Статистическая обработка результатов проводилась с использованием пакета программ «STATISTICA 10.0» [21].

Результаты и обсуждение

В лабораторных условиях провели выделение фосфатмобилизирующих бактерий из почвенных образцов, собранных на полях Алматинской области Казахстана, где выращивали сою. В общей сложности собрано 56 образцов почв. Выделение фосфатмобилизирующих бактерий проводили на среде Муромцева, содержащей нерастворимый трикальцийфосфат в виде мелкодисперсного осадка, придававшего среде равномерную мутность (рисунок 1).

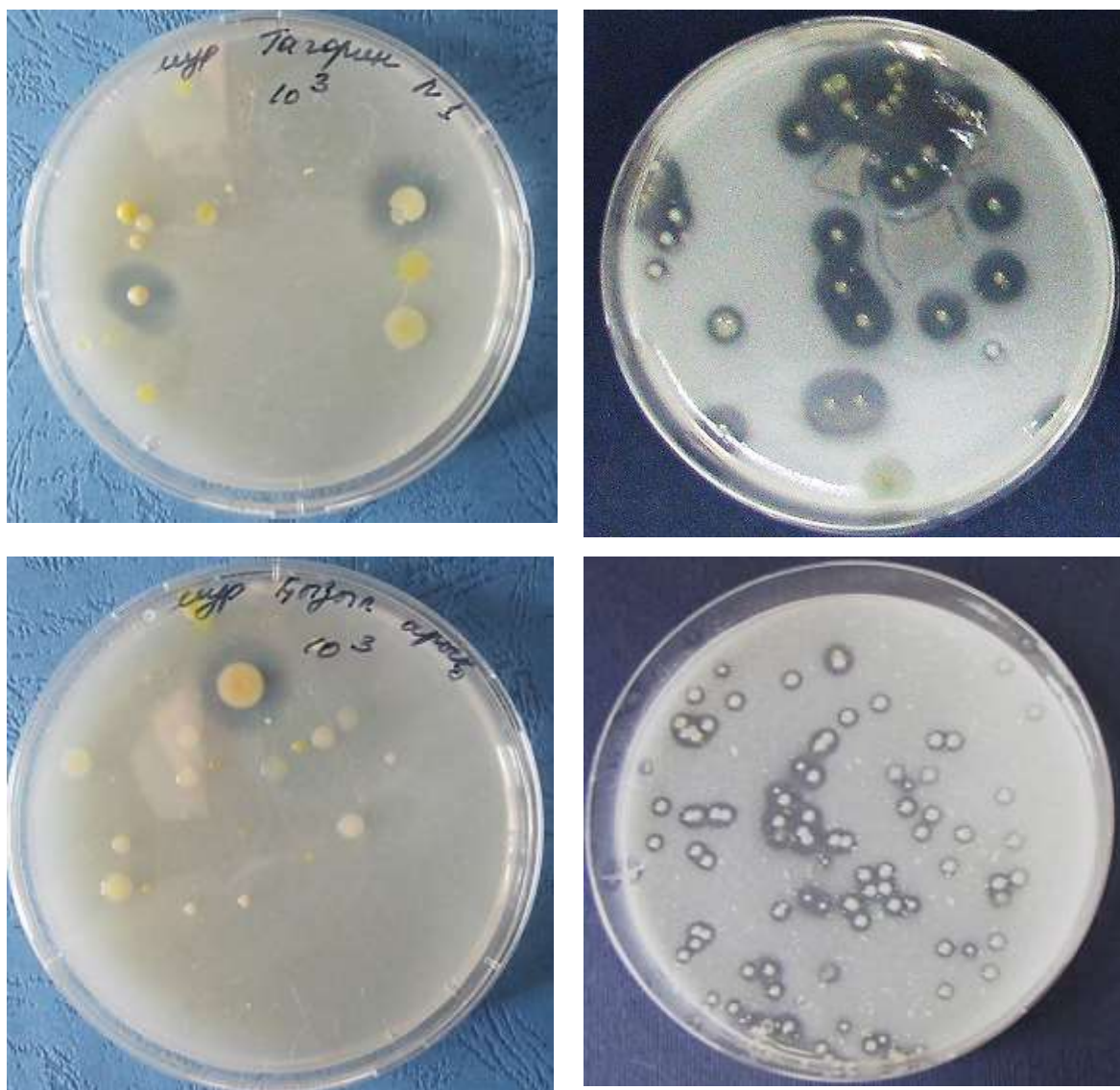


Рисунок 1 - Выделение фосфатмобилизирующих бактерий, зоны гало (просветления) вокруг колоний бактерий на питательной среде Муромцева

Установлено, что численность фосфатмобилизующих бактерий в почвах Алматинской области на полях под культурой сои была низкой и составляла 3-12% от общей численности бактериальной микрофлоры. Выделенные фосфатмобилизующие бактерии были отсеяны, проведена проверка их чистоты и получены чистые культуры, на их основе создана коллекция фосфатмобилизующих бактерий. В результате проведенной работы было выделено 32 культуры фосфатмобилизующих бактерий.

Для идентификации бактерий проведено изучение их основных культурально-морфологических и биохимических признаков. Установлено, что выделенные культуры бактерий имели существенные различия в культурально-морфологических свойствах. Колонии бактерий, в основном, были круглые с гладким профилем и ровным краем, от 0,9 до 2,5 мм в диаметре с мелкозернистой структурой. Цвет колоний был, преимущественно, молочный, кремовый и бледно-желтый, консистенция различалась.

Исследование морфологии клеток показало, что фосфатмобилизующие бактерии были как спорообразующими бактериями, так неспорообразующими, в основном, с палочковидной формой клеток. Некоторые бактерии с возрастом приобретали кокковидную форму. Бактерии были грамположительными и грамотрицательными, характеризовались подвижностью клеток (рисунок 2).

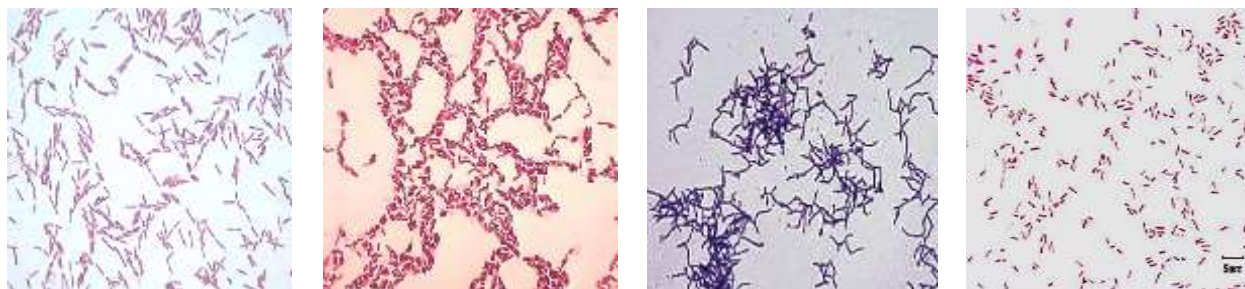


Рисунок 2 - Формы клеток двухсуточных культур фосфатмобилизующих бактерий ($\times 1800$)

Исследование биохимических признаков бактерий показало, что все выделенные культуры бактерий были аэробами или факультативными анаэробами, каталазоположительными. Установлено, что штаммы бактерий имели различную способность использовать соединения углерода, образовывать индол, сероводород и разжижать желатину.

По основным культурально-морфологическим и биохимическим признакам выделенные культуры фосфатмобилизующих бактерий были отнесены к родам *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Bacterium* и *Agrobacterium*.

Закключение

Таким образом, проведен сбор образцов почв на полях Алматинской области Казахстана, где выращивалась соя. В общей сложности собрано 56 образцов. В лабораторных условиях из собранных образцов почвы на среде Муромцева провели выделение фосфатмобилизующих бактерий. Установлено, что численность фосфатмобилизующих бактерий в почвах Алматинской области была низкой и составляла 3-12% от общего числа бактериальной микрофлоры. Выделенные бактерии были отсеяны, проведена проверка их чистоты и получены чистые культуры. В результате проведенной работы получено 32 чистые культуры фосфатмобилизующих бактерий и создана их коллекция. Изучены основные культурально-морфологические и биохимические признаки фосфатмобилизующих бактерий, что позволило провести их первичную идентификацию и определить родовую принадлежность бактерий. Установлено, что выделенные культуры

фосфатмобилизующих бактерий относятся к родам *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Bacterium* и *Agrobacterium*.

Дальнейшее исследование штаммов фосфатмобилизующих бактерий позволит отобрать активные штаммы, которые будут использованы для создания биопрепаратов под культуру сои.

Литература

- 1 Singh B., Satyanarayana T. Microbial phytases in phosphorus acquisition and plant growth promotion // *Physiology and Molecular Biology of Plants*. - 2011. - Vol. 17(2). - P. 93-103. doi: 10.1007/s12298-011-0062-x.
- 2 Ali W., Nadeem M., Ashiq W. et al. The effects of organic and inorganic phosphorus amendments on the biochemical attributes and active microbial population of agriculture podzols following silage corn cultivation in boreal climate // *Scientific Reports*. - 2019. - Vol. 9. - ID 17297. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53906-8>.
- 3 Елешев Р.Е., Малимбаева А., Шибикеев А. Орошаемые почвы: содержание и формы фосфора, его количественный и качественный состав // *AgroElem*. - 2016. - №8. - С. 68-69.
- 4 Байбеков Р.Ф., Кирпичников Н.А., Бижан С.П., Абрамов А.А. Агроэкономическая эффективность фосфорных удобрений при возделывании культур полевого севооборота в зависимости от фосфатного уровня почвы // *Земледелие*. - 2019. - №6. - С. 9-11. doi:10.24411/0044-3913-2019-10602.
- 5 Елешев Р.Е. Рекомендации производству: эффективность применения удобрений и биопрепаратов под культуры кормового севооборота в орошаемой зоне юго-востока Казахстана (МСХ РК). - Алматы: Агроуниверситет, 2017. - 17 с.
- 6 Bindraban P.S., Dimkra C.O., Pandey R. Exploring phosphorus fertilizers and fertilization strategies for improved human and environmental health // *Biology and Fertility of Soils*. - 2020. - Vol. 56. - P. 299–317. <https://doi.org/10.1007/s00374-019-01430-2>.
- 7 Sharma S.B et al. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils // *Springer Plus*. - 2013. - Vol. 2. - P. 587-591.
- 8 Alori E.T., Glick B.R., Babalola O.O. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture // *Frontiers Microbiology*. - 2017. - Vol. 2(8). - P. 971-978. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971>.
- 9 Chaudhury S.S., Sen T., Moitra A., Chaudhuri S. et al. Induction of productivity in cicer arietinum by phosphate solubilizing pseudomonas.// *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. - 2014. - Vol. 3(4). - P. 1481-1493.
- 10 Bio-Phospho. <https://russian.alibaba.com/product-detail/phospho-power-phosphate-solubilising-bacteria-50034301202.html>.
- 11 Barman M., Paul S., Choudhury A.G., Roy P. Biofertilizer as prospective input for sustainable agriculture in India // *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. - 2017. - Vol. 6(11). - P. 1177-1186. DOI: 10.20546/ijcmas.2017.611.141
- 12 Соколова М.Г., Акимова П.Г., Вайшля О.Б., Верхотуров В.В. Биобезопасная бактериальная технология для улучшения качества растительного сырья // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология* // - 2012. - №2(3). - С. 100-104.
- 13 Соболева О.М. Роль ризосферных бактерий в повышении экологизации агроценозов // *Достижения науки и техники АПК*. - 2018. - Т.35. - №5. – С. 19-22. doi:10.24411/0235-2451-2018-10504.
- 14 Сафронова Г. Коломиец Э., Алещенкова З., Владимир П. Применение микробных препаратов для выращивания микроклональных саженцев березы // *Žmogaus ir gamtos sauga*. - 2013. - С. 56-60.
- 15 Чайковская Л.А. Эффективность совместного использования биопрепаратов на основе фосфатмобилизирующих бактерий и минеральных удобрений при выращивании зерновых на юге Украины // *Сельскохозяйственная микробиология*. - 2011. - №13. - С. 52-58.
- 16 Баранская М.И. Формирование микробиоты ризосферы ярового тритикале под влиянием биологических препаратов // *Инновации в науке*. - 2016. - №8(57). - С. 43-48.
- 17 ГОСТ 17.4.4.02-84 - Охрана природы. Почвы. Методы отбора и подготовки проб для химического, бактериологического анализа. М.: Стандаринформ, 2008. - 142 с.

18 Дунайцев И.А. Выделение фосфатсольбилизующих микроорганизмов и изучение возможности их использования в промышленности и сельском хозяйстве: автореф. ... дисс. канд. биол. наук: 03.02.03; 03.01.06. - Оболенск: Наука, 2010. - 29 с.

19 Егорова Н.С. Руководство к практическим занятиям по микробиологии. - М.: МГУ, 1995. - 224 с.

20 Сэги Й. Методы почвенной микробиологии. - М.: Колос, 1983. - 162 с.

21 Боровиков В.П. Популярное введение в современный анализ данных в системе STATISTICA. М.: Горячая линия-Телеком, 2016. - 288 с.

И.Э. СМЕРНОВА, Э.Р. ФАЙЗУЛИНА, Л.Г. ТАТАРКИНА,
Г.Б. БАЙМАХАНОВА, Г.А. СПАНКУЛОВА, А. Е. ЕЛУБАЕВА
«Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы» ЖШС,
Алматы, Қазақстан

ҚАЗАҚСТАННЫҢ АЛМАТЫ ОБЛЫСЫНЫҢ ТОПЫРАҒЫНАН АЛЫНҒАН ФОСФАТМОБИЛИЗДЕУШІ БАКТЕРИЯЛАР

Түйін

Қазақстанның Алматы облысының соя алқаптарынан фосфатмобилиздеуші бактериялар бөлініп алынды. Олардың топырақтағы мөлшері аз екендігі және бактериялық микрофлораның жалпы санының 3-12% құрайтындығы анықталды. Фосфатмобилиздеуші бактериялардың 32 таза дақылдары алынып, олардың негізінде осы бактериялардың коллекциясы құрылды. Фосфатмобилиздеуші бактериялардың негізгі дақылдық-морфологиялық және биохимиялық сипаттамалары зерттеліп, оларды сәйкестендіру жұмыстары жүргізілді. Бөлінген бактериялар *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Bacterium* және *Agrobacterium* тұқымдастарына жататындығы анықталды.

Кілтті сөздер: фосфатмобилиздеуші бактериялар, топырақ, бөліп алу, таза дақылдар.

IRSTI 34.27.17

I.E. SMIRNOVA, E.R. FAYZULINA, L.G. TATARKINA,
G.B. BAIMAKHANOVA, G.A. SPANKULOVA, A. E. ELUBAYEVA
LP «Scientific Production Center of Microbiology and Virology», Almaty, Kazakhstan

PHOSPHATE-MOBILIZING BACTERIA FROM SOILS OF ALMATY REGION OF KAZAKHSTAN

<https://doi.org/10.53729/MV-AS.2021.01-02.03>

Summary

Phosphate-mobilizing bacteria were isolated from the soybean fields of the Almaty region of Kazakhstan. It was found that their content in the soil was low and amounted to 3-12% of the total number of bacterial microflora. 32 pure cultures of phosphate-mobilizing bacteria were obtained, on the basis of which a collection of these bacteria was created. The main cultural-morphological and biochemical characteristics of phosphate-mobilizing bacteria have been studied and their primary identification has been carried out. The isolated bacteria were found to belong to the genera *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Bacterium*, and *Agrobacterium*.

Key words: phosphate-mobilizing bacteria, soil, isolation, pure cultures.

One of the main elements of plant nutrition, including agricultural crops, is phosphorus. This element accelerates the ripening process of crops, increases their cold resistance and increases plant resistance to stress factors such as drought, salinity, etc. With low phosphorus content in the soil, the growth and development of plants is delayed, the immunity and resistance of crops to pests and diseases decreases [1]. Therefore, in order to obtain a high yield of agricultural crops, a large amount of phosphorus fertilizers are annually introduced into the soil. So, on average, in the Almaty region, 100-120 kg / ha of soil is applied, of which only 8-10% is

available for plants. At the same time, excessive and systematic application of phosphorus fertilizers leads to pollution of water, soil and other negative consequences for the environment [2].

In Kazakhstan, more than 70% of arable land has an extremely low content of phosphorus compounds available for plants [3]. So, in the arable layer of soils in the southeast of the republic, the gross content of phosphorus compounds averages 3.0-5.0 t / ha, of which the number of forms of phosphorus available to plants does not exceed 0.1-0.2 t / ha, that is, out of five tons of phosphorus during the growing season, plants absorb only 150-200 kg / ha [4,5]. We can say that phosphorus in the soil is mainly found in forms inaccessible to plants.

It turns out that, despite the high total phosphorus content in soils, phosphorus in the soil is in a form that is difficult to access. In this regard, there is a large gap between the total phosphate content in the soil and the compounds available to plants. Also, the utilization of phosphorus by plants from soil and fertilizers is extremely low. Even phosphates applied to the soil in the form of mineral phosphorus fertilizers are assimilated by plants with low efficiency. So, the coefficient of assimilation of superphosphate for the growing season is only 8-10%, the remaining 90-92% remain dead stock in the soil [6].

At the same time, the application of large amounts of phosphorus fertilizers to the fields leads to disturbance of agrobiocenosis, depletion of useful soil microflora and, as a result, to a decrease or even death of the crop, and without their introduction it is impossible to obtain a high yield of agricultural crops. In this regard, the development of effective ways and means of solving the existing problem is required.

An alternative way of converting hard-to-reach forms of phosphates into compounds available for plants is the use of phosphate-mobilizing microorganisms. In nature, only microorganisms have the ability to convert such phosphorus compounds into a soluble state. It is microorganisms that promote the mobilization of insoluble phosphates and increase their availability for plants [7]. As a result of the use of microorganisms, more than 20-30% of hard-to-reach forms of phosphates during the growing season can be converted into a form accessible to plants [8]. In this regard, the search and finding of active strains of phosphate-mobilizing microorganisms is highly relevant.

Interest in the isolation and use of phosphate-mobilizing bacteria for the development of biological products is very high in many countries of the world. Numerous biological preparations based on these bacteria have been developed and successfully used (Bio-Phospho, P.S.P., Rutal P, Rutal NP, etc.) [9-11]. Much attention is paid to the use of phosphate-mobilizing bacteria in Russia (Phosphobacterin, Phosphatovit, etc.), Belarus (Fitostimofos, Rizobacterin, etc.), Ukraine (Phosphoenterin, Albobacterin) [12-16].

The purpose of this study was to isolate native phosphate-mobilizing bacteria adapted to the soil and climatic conditions of Kazakhstan, to obtain pure cultures, to study the basic properties of bacteria and their identification.

Materials and methods

The objects of the study were phosphate-mobilizing bacteria isolated from soils collected in the fields of the Almaty region of Kazakhstan, where soybeans were grown. Isolation of native phosphate-mobilizing bacteria was carried out from various types of soils. Field collection of soils was carried out in accordance with State Standard (GOST) [17]. Point samples (in the amount of five pieces) were taken on a test plot from one soil horizon (8-10 cm) using the envelope method. A pooled sample was made by mixing five spot samples weighing from 200 to 250 g each, taken from one sample site. Soil samples for isolation of microorganisms were taken in compliance with the rules of asepsis.

Isolation of phosphate-mobilizing bacteria was carried out from soil samples according to the generally accepted method [18, 19]. Liquid Muromtsev's medium was used for isolation. Cultivation of phosphate-mobilizing bacteria was carried out at 28 ° C on a shaker at 180 rpm for 3-5 days.

Statistical processing of the results was carried out using the STATISTICA 10.0 software package [21].

Results and discussion

In laboratory conditions, phosphate-mobilizing bacteria were isolated from soil samples collected in the Almaty region of Kazakhstan in the fields where soybeans were grown. A total of 56 soil samples were collected. Isolation of phosphate-mobilizing bacteria was carried out on Muromtsev's medium containing insoluble tricalcium phosphate in the form of a fine precipitate, which imparted uniform turbidity to the medium (Figure 1).

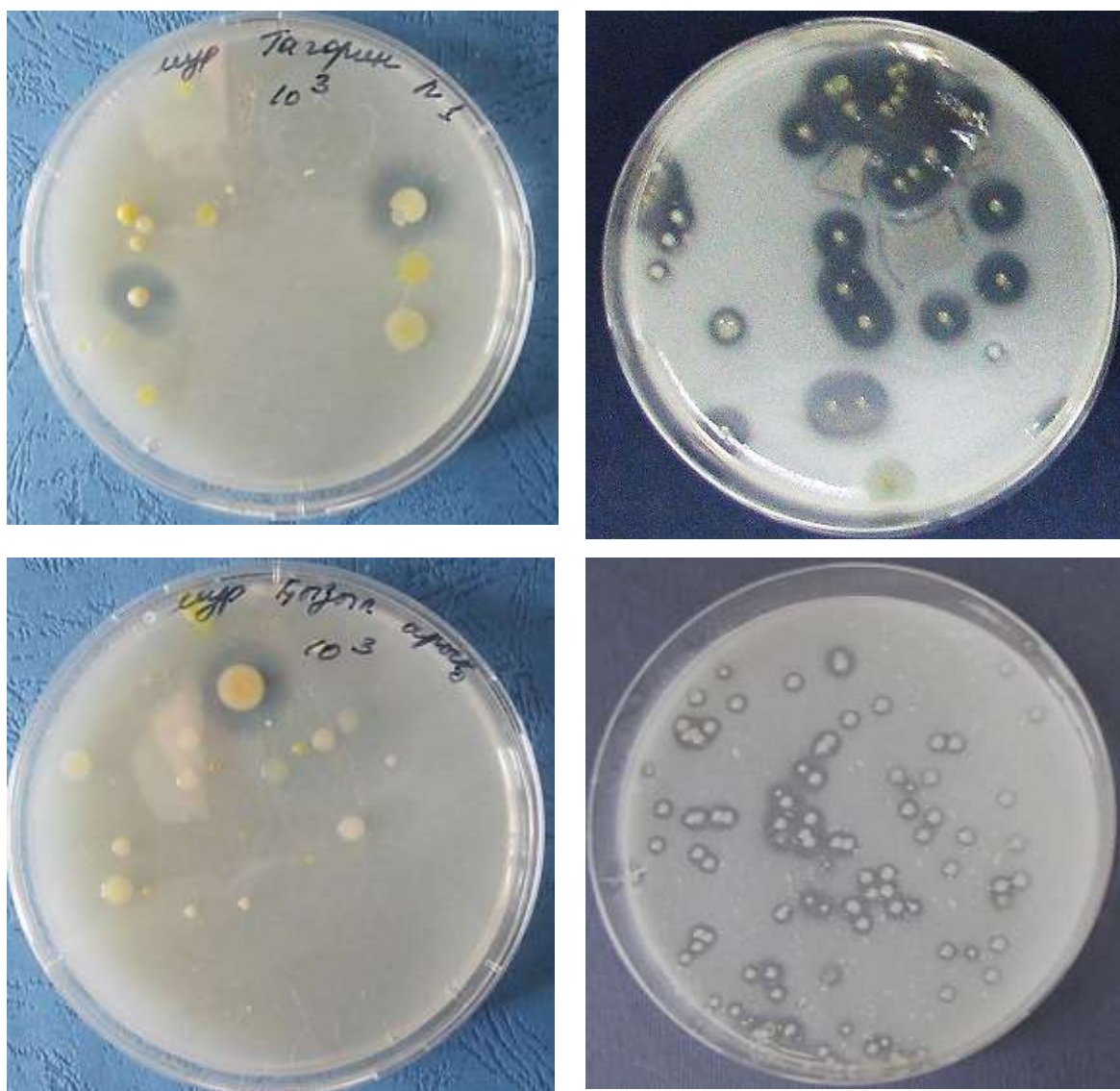


Figure 1 - Isolation of phosphate-mobilizing bacteria, halo zones (clearing) around bacterial colonies on Muromtsev's medium

It was found that the number of phosphate-mobilizing bacteria in the soils of the Almaty region in the fields with soybeans was low and amounted to 3-12% of the total number of bacterial microflora. As a result of this work, 32 cultures of phosphate-mobilizing bacteria were isolated. These bacteria were screened out, their purity was checked and pure cultures were obtained, on their basis a collection of phosphate-mobilizing bacteria was created.

To identify bacteria, a study of their main cultural-morphological and biochemical characteristics was carried out. It was found that the isolated cultures of bacteria had significant differences in cultural and morphological properties. Colonies of bacteria were generally round

with a smooth profile and a smooth edge, from 0.9 to 2.5 mm in diameter with a fine-grained structure. The color of the colonies was mainly milky, cream, less often pale yellow, the consistency was different.

The study of cell morphology showed that phosphate-mobilizing bacteria were both spore-forming bacteria and non-spore-forming, mainly with rod-shaped cells. Some bacteria acquired a coccoid shape with age. The bacteria were gram-positive and gram-negative, and were characterized by motility (Figure 2).

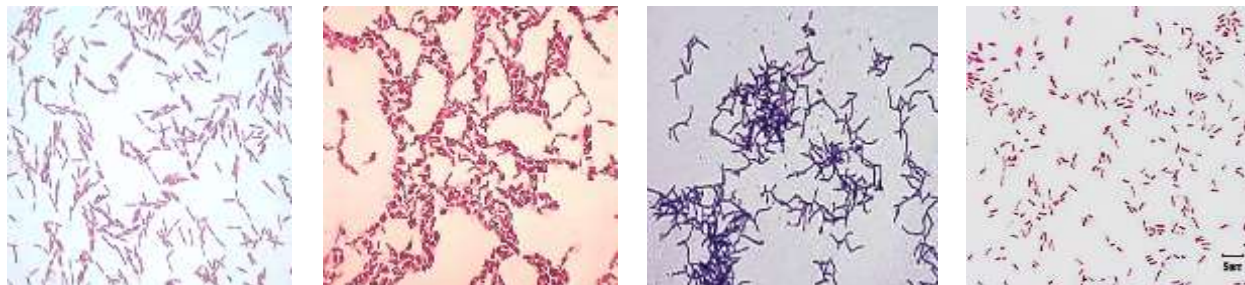


Figure 2. - Forms of cells of two-day cultures of phosphate-mobilizing bacteria ($\times 1800$)

The study of the biochemical characteristics of bacteria showed that all isolated cultures of bacteria were aerobes or facultative anaerobes, catalase-positive. It was found that bacterial strains had a different ability to use carbon compounds, form indole, hydrogen sulfide and liquefy gelatin.

According to the main cultural, morphological and biochemical characteristics, the isolated cultures of phosphate-mobilizing bacteria were assigned to the genera *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Bacterium*, and *Agrobacterium*.

Conclusion

Thus, the collection of soil samples was carried out in the fields of the Almaty region of Kazakhstan, where soybeans were grown. A total of 56 samples were collected. In laboratory conditions, phosphate-mobilizing bacteria were isolated from the collected soil samples on Muromtsev's medium. It was found that the number of phosphate-mobilizing bacteria in the soils of the Almaty region was low and amounted to 3-12% of the total number of bacterial microflora. As a result of this work, 32 cultures of phosphate-mobilizing bacteria were isolated. These bacteria were screened out, checked for purity, pure cultures were obtained, and a collection was created. The main cultural, morphological and biochemical characteristics of phosphate-mobilizing bacteria were studied, which made it possible to identify them and determine the generic affiliation of bacteria. It was found that the isolated cultures of phosphate-mobilizing bacteria belong to the genera *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Bacterium* and *Agrobacterium*.

Further study of the strains of phosphate-mobilizing bacteria will make it possible to select active strains that will be used to create biological products for soybean culture.

References:

- 1 Singh B., Satyanarayana T. Microbial phytases in phosphorus acquisition and plant growth promotion. *Physiology and Molecular Biology of Plants*. 2011. Vol. 17(2). P. 93-103. doi: 10.1007/s12298-011-0062-x.
- 2 Ali W., Nadeem M., Ashiq W. et al. The effects of organic and inorganic phosphorus amendments on the biochemical attributes and active microbial population of agriculture podzols following silage corn cultivation in boreal climate. *Scientific Reports*. 2019. Vol. 9. ID 17297. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53906-8>.
- 3 Eleshev R.E., Malimbaeva A., Shibikeev A. Oroschaemye pochvy: sodержanie i formy fosfora, ego kolichestvennyj i kachestvennyj sostav. *AgroӘlem*. 2016. №8. S. 68-69.

- 4 Baibekov R.F., Kirpichnikov N.A., Bizhan S.P., Abramov A.A. Agrojekonomicheskaja jeffektivnost' fosfornyh udobrenij pri vozdeľyvanii kul'tur polevogo sevooborota v zavisimosti ot fosfatnogo urovnja pochvy. Zemledelie. 2019. №6. S. 9-11. doi:10.24411/0044-3913-2019-10602.
- 5 Eleshev R.E. Rekomendacii proizvodstvu: jeffektivnost' primeneniya udobrenij i biopreparatov pod kul'tury kormovogo sevooborota v oroshaemoj zone jugo-vostoka Kazahstana (MSH RK). Almaty: Agrouniversitet, 2017. 17 s.
- 6 Bindraban P.S., Dimkpa C.O., Pandey R. Exploring phosphorus fertilizers and fertilization strategies for improved human and environmental health. Biology and Fertility of Soils. 2020. Vol. 56. P. 299-317. <https://doi.org/10.1007/s00374-019-01430-2>.
- 7 Sharma S.B et al. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. Springer Plus. 2013. Vol. 2. P. 587-591.
- 8 Alori E.T., Glick B.R., Babalola O.O. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. Frontiers Microbiology. 2017. Vol. 2(8). P. 971-978. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971>.
- 9 Chaudhury S.S., Sen T., Moitra A., Chaudhuri S. et al. Induction of productivity in cicer arietinum by phosphate solubilizing pseudomonas. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2014. Vol. 3(4). P. 1481-1493.
- 10 Bio-Phospho. <https://russian.alibaba.com/product-detail/phospho-power-phosphate-solubilising-bacteria-50034301202.html>.
- 11 Barman M., Paul S., Choudhury A.G., Roy P. Biofertilizer as prospective input for sustainable agriculture in India. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2017. Vol. 6(11). P. 1177-1186. DOI: 10.20546/ijcmas.2017.611.141.
- 12 Sokolova M.G., Akimova P.G., Vajshlja O.B., Verhoturov V.V. Biobezopasnaja bakterial'naja tehnologija dlja uluchsheniya kachestva rastitel'nogo syr'ja. Izvestija vuzov. Prikladnaja himija i biotehnologija. 2012. №2(3). S. 100-104.
- 13 Soboleva O.M. Rol' rizosfernyh bakterij v povyshenii jekologizacii agrocenozov. Dostizhenija nauki i tehniki APK. 2018. T.35. №5. S. 19-22. doi:10.24411/0235-2451-2018-10504.
- 14 Safronova G. Kolomiec Je., Aleshhenkova Z., Vladimir P. Primenenie mikrobnih preparatov dlja vyrashhivaniya mikroklonal'nyh sazhencev breezy. Žmogaus ir gamtos sauga. 2013. S. 56-60.
- 15 Chajkovskaja L.A. Jefferektivnost' sovmestnogo ispol'zovaniya biopreparatov na osnove fosfatmobilizirujushhih bakterij i mineral'nyh udobrenij pri vyrashhivanii zernovyh na juge Ukrainy. Sel'skohozjajstvennaja mikrobiologija. 2011. №13. S. 52-58.
- 16 Baranskaja M.I. Formirovanie mikrobioty rizosfery jarovogo tritikale pod vlijaniem biologicheskikh preparatov. Innovacii v nauke. 2016. №8(57). S. 43-48.
- 17 GOST 17.4.4.02-84 - Ohrana prirody. Pochvy. Metody otbora i podgotovki prob dlja himicheskogo, bakteriologicheskogo analiza. M.: Standartinform, 2008. 142 s.
- 18 Dunajcev I.A. Vydelenie fosfatsoljubilizirujushhih mikroorganizmov i izuchenie vozmozhnosti ih ispol'zovaniya v promyshlennosti i sel'skom hozjajstve: avtoref. ... diss. kand. biol. nauk: 03.02.03; 03.01.06. Obolensk: Nauka. 2010. 29 s.
- 19 Egorova N.S. Rukovodstvo k prakticheskim zanjatijam po mikrobiologii. M.: MGU, 1995. 224 s.
- 20 Sjegi J. Metody pochvennoj mikrobiologii. M.: Kolos, 1983. 162 s.
- 21 Borovikov V.P. Populjarnoe vvedenie v sovremennyj analiz dannyh v sisteme STATISTICA. M.: Gorjachaja linija-Telekom, 2016. 288 s.

С.А. СУЛЕЙМЕНОВА¹, Е.Т. КАСЫМБЕКОВ¹, К.О. КАРАМЕНДИН¹,
А.И. КЫДЫРМАНОВ¹, С. ГУДМАН².

¹ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии»,
Алматы, Казахстан

²Университет Лидса, Великобритания

ХАРАКТЕРИСТИКА МИКРОБИОМА ОСНОВНЫХ БИОТОПОВ КАСПИЙСКОГО ТЮЛЕНЯ

<https://doi.org/10.53729/MV-AS.2021.01-02.04>

Аннотация

В статье приведены результаты метабаркодирования ДНК микробиома респираторного, урогенитального и желудочно-кишечного трактов каспийского тюленя. Показан профиль микробиома каспийского тюленя и отмечено отсутствие возбудителей бактериальных зоонозов в их бета-сообществе микробиоты.

Ключевые слова: каспийский тюлень, метагеном, микробиом, секвенирование.

Исследование микробиома биологических видов связано с осознанием его роли в состоянии здоровья и экологии хозяев. Микробиота представляет собой естественный барьер для патогенных микробов, их также характеризуют как «резистентность к колонизации» [1]. В связи с этим, важным представляется изучение как нормальной, условно патогенной, так и патогенной микрофлоры у каспийских тюленей, что позволит оценить их роль в общей патологии при массовых вспышках инфекционных заболеваний.

Материалы и методы

От живых тюленей собраны сыворотки крови, носовые, ротовые, конъюнктивальные, ректальные, урогенитальные (препуциальные и вагинальные) смывы по сертифицированным методикам, рекомендованным комиссией по морским млекопитающим [2]. Методы исследований исключают гибель животных при отлове и взятии проб.

Смывы брали стерильными ватными тампонами с пластиковой ручкой. Пробы до проведения исследований хранили в жидком азоте (-196°C). Образцы для метагеномных исследований хранили в специальном реагенте – *DNA/RNA Shield*, сохраняющем генетическую целостность и профили экспрессии образцов при температуре окружающей среды без охлаждения или заморозки.

Экстракцию микробиомной ДНК из смывов осуществляли с помощью набора PureLink™ Microbiome DNA Purification Kit (A29790), в соответствии с рекомендациями производителя из 200 мкл образца [3]. Набор позволяет экстрагировать микробный ДНК из образцов фекалий, мочи, слюны, мазков (вагинальных, ротовых, кожных, ректальных, окружающей среды), транспортировочной среды, почвы.

Анализ микробиома проводили путем секвенирования фрагмента гена 16S рибосомальной РНК микрофлоры по протоколу Illumina для выявления возбудителей всех бактериальных инфекций респираторного и желудочно-кишечного трактов каспийского тюленя с применением геноспецифических праймеров 340F (5'-CCTACGGGAGGCGAGCAG-3') и 533R (5'-TTACCGCGGCTGCTGGCAC-3') к 16S V3 и V4 регионам и наборов NEBNext® Multiplex Oligos for Illumina® (Index Primers Set 1), E7335S (24 reactions) [4].

Результаты и обсуждение

Для исследования использовали смывы ротовой, урогенитальной и ректальной микробиоты каспийских тюленей, собранные в 2019 г. Образцы объединили в пулы по половозрастным признакам животных (Таблица 1).

Таблица 1 - Характеристика смывов ротовой, урогенитальной и ректальной микробиоты каспийских тюленей, объединенных в пул

Номер животных, пробы которых объединены в пулы	Диапазон длины тела животного, см	Пол животных пробы, которых объединены в пулы	Номер пула смывов:		
			ротовой полости	мочеполовых путей	ректальный
#02, #05, #06	119-133	взрослый самец	1	4	7
#04, #07, #10	97-101	молодая самка	2	5	8
#01, #08	104-134	взрослая самка	3	6	9

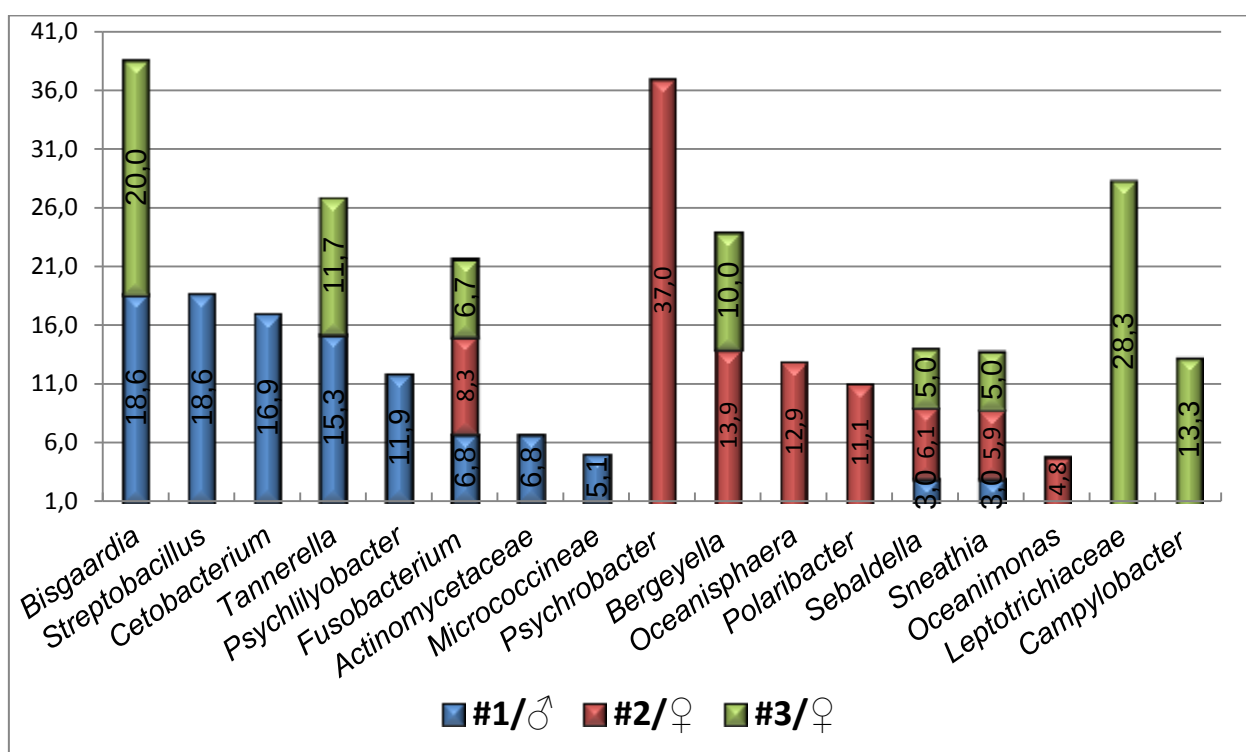


Рисунок 1 – Доминирующие таксоны в микробиоме ротовой полости каспийского тюленя

Как видно из рисунка 1, в микробиоме ротовой полости самцов каспийского тюленя в наибольшем процентном содержании представлены следующие роды: *Bisgaardia* и *Streptobacillus* – по 18,6%, *Cetobacterium*–16,9%, *Tannerella*–15,3%, *Psychlilyobacter*–11,9%, *Fusobacterium* и *Actinomycetaceae* – по 6,8%, *Micrococcineae* – 5,1%, *Sebaldella* и *Sneathia* – по 3%. Профиль микробиомы ротовой полости самцов каспийского тюленя определялся микроорганизмами родов *Streptobacillus*, *Cetobacterium*, *Actinomycetaceae*, *Micrococcineae*, *Psychlilyobacter*.

Микробиом ротовой полости молодых самок каспийских тюленей отличался от микробиомы самцов наличием и преобладанием родов *Psychrobacter* – 37,0%, *Bergeyella* – 13,9%, *Oceanisphaera* – 12,9%, *Polaribacter* – 11,1%, *Fusobacterium* – 6,7-8,3%, *Sneathia* – 5,9-6,1%, *Oceanimonas* – 4,8%, другие роды представлены в количестве 1% и менее. Микроорганизмы родов *Fusobacterium*, *Sebaldella* и *Sneathia* присутствовали в микробиоме ротовой полости у всех исследованных групп. Микробиом ротовой полости взрослых самок тюленей отличался от остальных исследованных групп доминированием

бактерией родов *Leptotrichiaceae*, *Campylobacter*. *Psychrobacter proteolyticus* - впервые выделен от антарктического криля (*Euphausia superba*), синтезирует холодо-адаптированную металлопротеазу - строго аэробная, психротрофная, галотолерантная, грамотрицательная неподвижная коккобактерия [5]. *Bergeyella zoohelcum* - грамотрицательная, аэробная, неподвижная бактерия, встречается в верхних дыхательных путях собак и кошек, способна вызывать респираторные заболевания у кошек и инфекции после укусов собак [6].

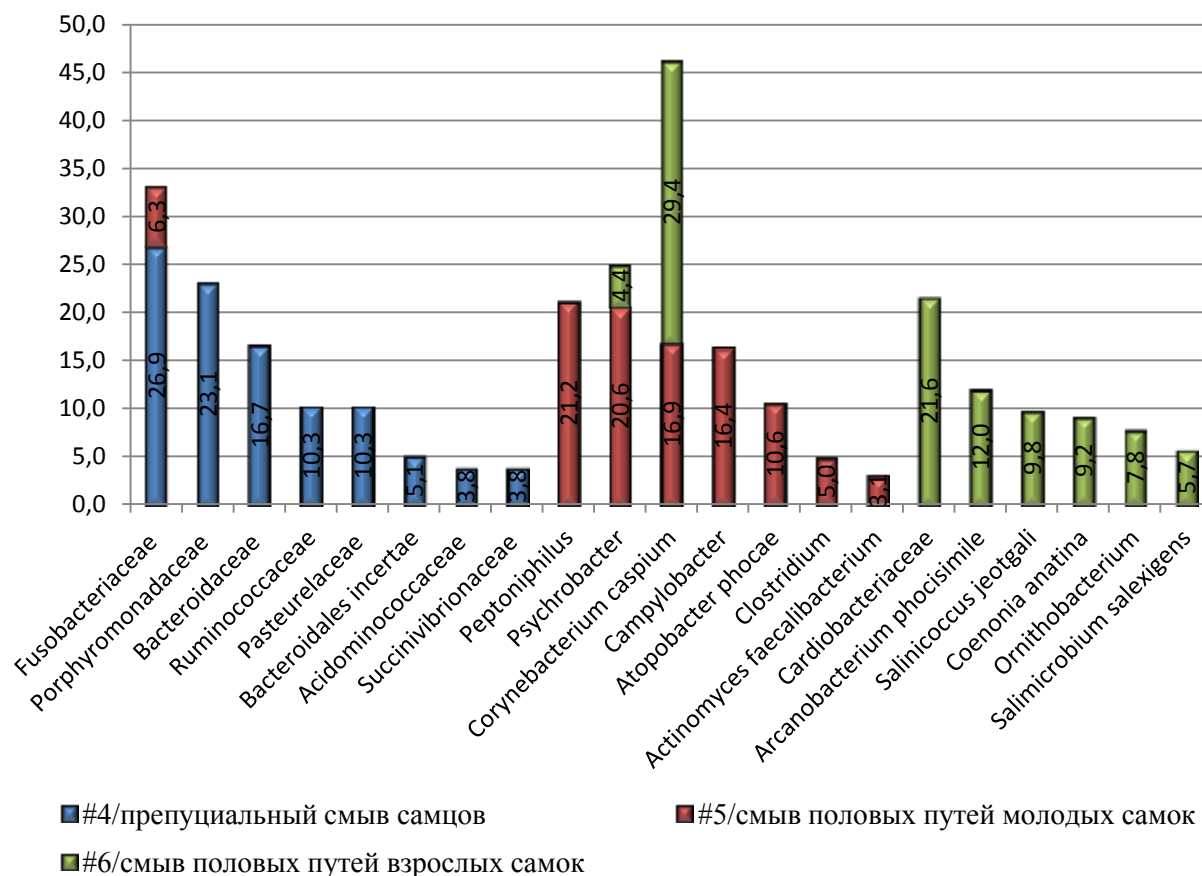


Рисунок 2 – Доминирующие таксоны в микробиоме урогенитального тракта каспийского тюленя

Как видно из рисунка 2, в бактериальном содержимом урогенитального тракта выявлены следующие наиболее представленные роды: *Fusobacteriaceae*-26,9%, *Porphyromonadaceae*-23,1%, *Bacteroidaceae*-16,7%, *Ruminococcaceae* и *Pasteurellaceae*- по 10,3%, *Bacteroidales incertae sedis* – 5,1%, *Acidominococcaceae* и *Succinivibrionaceae* – по 3,8%. Все перечисленные роды микроорганизмов, кроме *Ruminococcaceae* и *Acidominococcaceae*, являлись представителями микрофлоры кишечника этих животных, что указывает на возможную контаминацию препуциальных смывов самцов.

Микробиом урогенитального тракта молодых самок каспийских тюленей характеризовался наличием микроорганизмов родов: *Peptoniphilus*, *Psychrobacter*, *Corynebacterium caspium*, *Campylobacter*, *Atopobacter phocae*, *Clostridium*, *Actinomyces faecalibacterium* – которые характерны для микрофлоры толстого отдела кишечника этих животных, что указывает на возможную контаминацию материалов загрязнениями промежности. Микробиом половых путей взрослых самок каспийских тюленей отличался наличием *Cardiobacteriaceae*, *Arcanobacterium phocisimile*, *Salinicoccus jeotgali*, *Coenonia anatina*, *Ornithobacterium*, *Salimicrobium salexigens*.

Представители рода *Cardiobacteriaceae* встречались у обеих исследованных групп самок каспийского тюленя и не обнаружены у самцов. В пробах урогенитального тракта каспийских тюленей не выявлены сиквенсы бруцеллеза животных.

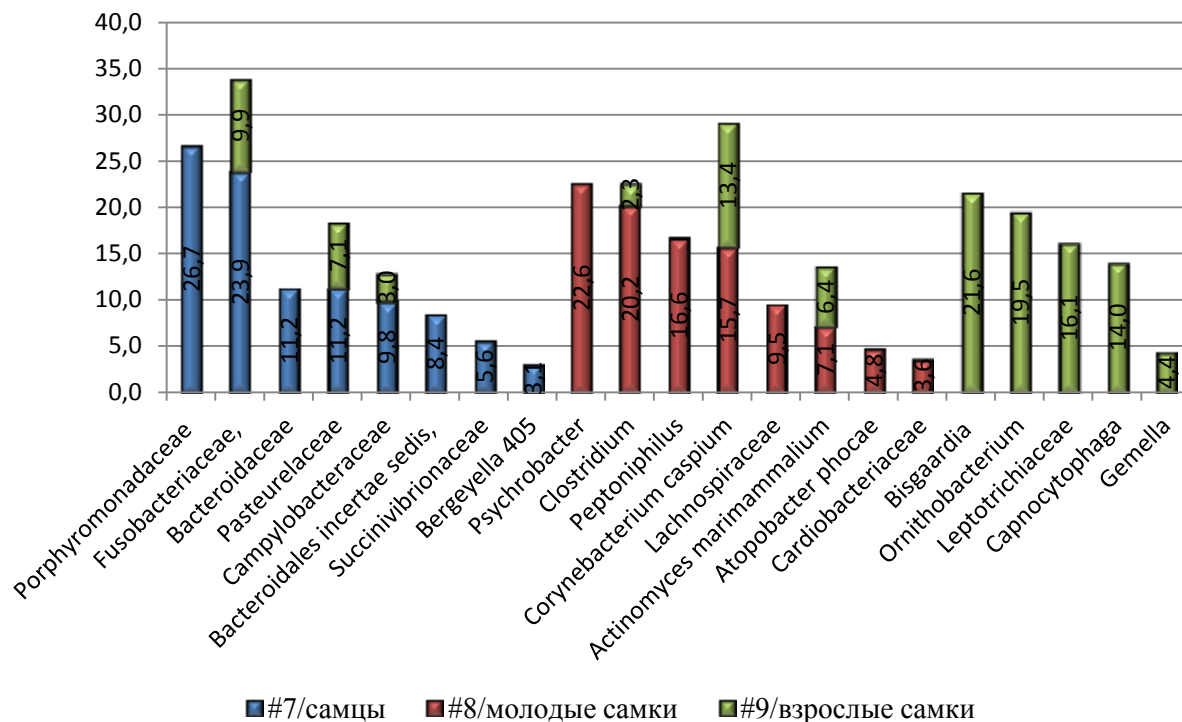


Рисунок 3 – Доминирующие таксоны в микробиоме толстого кишечника каспийского тюленя

Как видно из рисунка 3, в составе микробиома дистальной части кишечника самцов каспийских тюленей в наибольшем процентном отношении представлены следующие роды: *Porphyromonadaceae*-26,7%, *Fusobacteriaceae*-23,9%, *Bacteroidaceae* и *Pasteurellaceae*- по 11,2%, *Campylobacteraceae* – 9,8%, *Bacteroidales incertae sedis* – 8,4%, *Succinivibrionaceae* – 5,6% и *Bergeyella 405* – 3,1%. Все перечисленные роды микроорганизмов кроме *Fusobacteriaceae*, *Pasteurellaceae* характерны только для микробиома толстого отдела кишечника самцов каспийского тюленя.

Микробиом ректальных смывов молодых самок каспийских тюленей характеризовался наличием микроорганизмов рода *Psychrobacter* - 22,6%, *Clostridium* – 20,2%, *Peptoniphilus* - 16,6%, *Corynebacterium caspium* – 15,7%, *Lachnospiraceae* – 9,5%, *Actinomyces marimammalium* – 7,1%, *Atopobacter phocae* – 4,8%, *Cardiobacteriaceae* – 3,6%.

Микрофлора дистальной части толстого отдела кишечника взрослых самок каспийского тюленя отличалась от микрофлоры молодых особей преобладанием бактерий родов *Bisgaardia*, *Ornithobacterium*, *Leptotrichiaceae*, *Capnocytophaga*, *Gemella*. В микробиоме толстого кишечника обеих групп самок встречаются микроорганизмы, только у тюленей, такие как: *Actinomyces marimammalium* и *Atopobacter phocae*.

Несмотря на географическую и эволюционную изолированность каспийских тюленей от других морских млекопитающих мирового океана, в их микробиоме обнаружены виды бактерий, изолированных от тюленей в других частях мира, таких как *Corynebacterium phocae* и *Arcanobacterium phocae*. *Corynebacterium phocae* выделен из носовых полостей обыкновенных тюленей - *Phoca vitulina* [7]. Другой вид этого рода, *Corynebacterium caspium*, изолирован из легких и препуциального смыва каспийских тюленей (*Phoca caspica*) во время эпизоотии морбилливирусной инфекций среди них в 2000 г. [8]. *Atopobacter phocae* был выделен от ректальных и вагинальных смывов погибших обыкновенных тюленей [9], фенотипически характеризуется САМР-подобными гемолитическими и биохимическими свойствами. Стоит обратить внимание на присутствие *Arcanobacterium phocisimile* в микрофлоре половых путей взрослых самок каспийского тюленя, так как другой вид этого рода, *Arcanobacterium phocae*, является распространенным патогеном в раневых инфекциях, который иногда ассоциируется с системными инфекциями у выброшенных на берег морских млекопитающих в Калифорнии [10].

Таким образом, анализ микробиома толстого отдела кишечника каспийских тюленей позволил установить определённый профиль нормальной микрофлоры животных в зависимости от их возраста и пола. За исключением некоторых условно-патогенных микроорганизмов, в бета-сообществе микробиоты каспийского тюленя не выявлены возбудители бактериальных зоонозов и оппортунистических инфекций морских млекопитающих. Проведенное исследование указывает на необходимость постоянного мониторинга параметров здоровья каспийского тюленя для выявления интродукции клинически значимых бактериальных патогенов в их популяцию.

Литература:

- 1 He, X., Y. Tian, L. Guo, R. Lux, D. R. Zusman, and W. Shi. 2010. Oral- derived bacterial flora defends its domain by recognizing and killing intruders A molecular analysis using *Escherichia coli* as a model intestinal bacterium. *Microb. Ecol.* 60:655–664.
- 1 The Marine Mammal Protection Act of 1972 as amended 2007. National Marine Mammal Tissue Bank and tissue analysis. <http://www.mmc.gov/legislation/pdf/mmpasec407.pdf>
- 2 PureLink™ Microbiome DNA Purification Kit. Purification of high-quality microbial and host DNA from buccal, vaginal, or skin swab samples. Catalog Number A29790Pub. No.MAN0014268 Rev. A.0
- 3 NEBNext® for DNA Sample Prep NEBNext_DNA_ILS Version 6.1 – 10/19
- 4 Denner E., Mark B., Busse H., Turkiewicz M., Lubitz W. "Psychrobacter proteolyticus sp. nov., a psychrotrophic, halotolerant bacterium isolated from the Antarctic krill *Euphausia superba* Dana, excreting a cold-adapted metalloprotease." *Syst Appl Microbiol.* 2001. - 24 (1). P. 44–53.
- 5 Jumi Yi., Humphries, Romney; Doerr, Laura; Jerris, Robert C.; Westblade, Lars F. *Bergeyella zoohelcum* Associated with Abscess and Cellulitis After a Dog Bite The Pediatric Infectious Disease Journal. 2016. – Vol. 35(2). P. 214–216.
- 6 Pascual C. Foster G. Alvarez N. Collins MD *Corynebacterium phocae* sp. nov., isolated from the common seal (*Phoca vitulina*). *Int J Svst Bacteriol* 1998 Apr4S Pt 2:601-4
- 7 Collins M. Hovles L. Foster G. Falsen E. *Corynebacterium caspium* sp. nov., from a Caspian seal (*Phoca caspica*) *Int J Svst Evol Microbiol.* 2004. Vol. 54(Pt 3). P.925-8.
- 8 Lawson, P A; Foster, G; Falsen, E; Ohlén, M; Collins, M D. "Atopobacter phocae gen. nov., sp. nov., a novel bacterium isolated from common seals". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 2000 September 50 (5): 1755–1760. doi:10.1099/00207713-50-5-1755
- 9 Johnson SP, Jang S, Gulland FM, Miller MA, Casper DR, Lawrence J, et al. Characterization and clinical manifestations of *Arcanobacterium phocae* infections in marine mammals stranded along the central California coast. *J Wildl Dis.* 2003. 39 (1): 36–44.

С.А. СҮЛЕЙМЕНОВА¹, Е.Т. ҚАСЫМБЕКОВ¹, К.О. ҚАРАМЕНДИН¹,
А.И. ҚЫДЫРМАНОВ¹, С. ГУДМАН².

¹«Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы» ЖШС,
Алматы, Қазақстан

²Лидс Университеті, Ұлыбритания

КАСПИЙ ИТБАЛЫҚТАРЫНЫҢ НЕГІЗГІ БИОТОПТАРЫНЫҢ МИКРОБИОМЫНА СИПАТТАМА

Түйін

Мақалада Каспий итбалықтарының тыныс алу, урогенитальды және асқазан-ішек жолдарының микробиомының ДНҚ-ын метабаркодтау нәтижелері келтірілген. Каспий итбалықтарының микробиомдық профилі көрсетілген және олардың бета-микробиоталар қауымдастығында бактериялық зооноз қоздырғыштарының жоқтығы атап өтілген.

Кілтті сөздер: Каспий итбалығы, метагеном, микробиом, тізбектеу.

IRSTI 34.27.23

S.A. SULEIMENOVA¹, E.T. KASYMBEKOV¹, K.O. KARAMENDIN¹,
A.I. KYDYRMANOV¹, S. GOODMAN²

¹LLP "Research and Production Center of Microbiology and Virology", Almaty, Kazakhstan

²University of Leeds, UK

CHARACTERISTICS OF THE MICROBIOME OF THE MAIN BIOTOPES OF THE CASPIAN SEAL

<https://doi.org/10.53729/MV-AS.2021.01-02.04>

Summary

The article presents the results of metabarcoding of the microbiome DNA of the respiratory, urogenital and gastrointestinal tracts of the Caspian seal. The microbiome profile of the Caspian seal is shown, and the absence of pathogens of bacterial zoonoses in their beta microbiota community is noted.

Key words: Caspian seal, metagenome, microbiome, sequencing.

The study of the microbiome of biological species is associated with the awareness of its role in the health and ecology of hosts. Microbiota is a natural barrier for pathogenic microbes, they are also characterized as "resistance to colonization" [1]. In this regard, it is important to study both normal, conditionally pathogenic and pathogenic microflora in Caspian seals, which will allow us to assess their role in general pathology during mass outbreaks of infectious diseases.

Materials and methods

Blood serum, nasal, oral, conjunctival, rectal, urogenital (preputial and vaginal) washes have collected from live seals according to certified methods recommended by the Commission on Marine Mammals [2]. Research methods exclude the death of animals during capture and sampling.

Swabs have taken with sterile cotton swabs with a plastic handle. Samples have stored in liquid nitrogen (-196° C) before testing. Specimens for metagenomic studies have placed in a particular reagent - DNA / RNA Shield, which preserves the samples' genetic integrity and expression profiles at ambient temperature without refrigeration or freezing.

Extraction of microbiome DNA from the swabs have performed using the PureLink™ MicrobiomeDNA Purification Kit (A29790), according to the manufacturer's recommendations, from a 200 µL sample [3]. The kit allows microbial DNA extraction from samples of faeces, urine, saliva, smears (vaginal, oral, skin, rectal, environment), transport medium, soil.

Microbiome analysis conducted by sequencing the fragment of the 16S ribosomal RNA gene of microflora according to the Illumina protocol. Gene-specific primers 340F (5' - CCTACGGGAGGCAGCAG-3') and 533R (5'-TTACCGCGGCTGCTGGCAC-3') to 16S V3 and V4 regions and NEBNext® Multiplex Oligos for Illumina® (Index Primers Set 1) kits [4] used to identify the bacterial taxons in the respiratory and gastrointestinal tracts of the Caspian seal.

Results and Discussions

For the study, we used washings of the oral, urogenital and rectal microbiota of the Caspian seals collected in 2019. The samples have pooled according to the sex and age characteristics of the animals (Table 1).

Table 1 - Characteristics of oral, urogenital and rectal swabs of Caspian seals combined into a pool

The pooled samples of seals No:	Range of animal body length, cm	Gender	Swab pool No:		
			Buccal	Urogenital	Rectal
#02, #05, #06	119-133	Adult males	1	4	7
#04, #07, #10	97-101	Juvenile females	2	5	8
#01, #08	104-134	Adult females	3	6	9

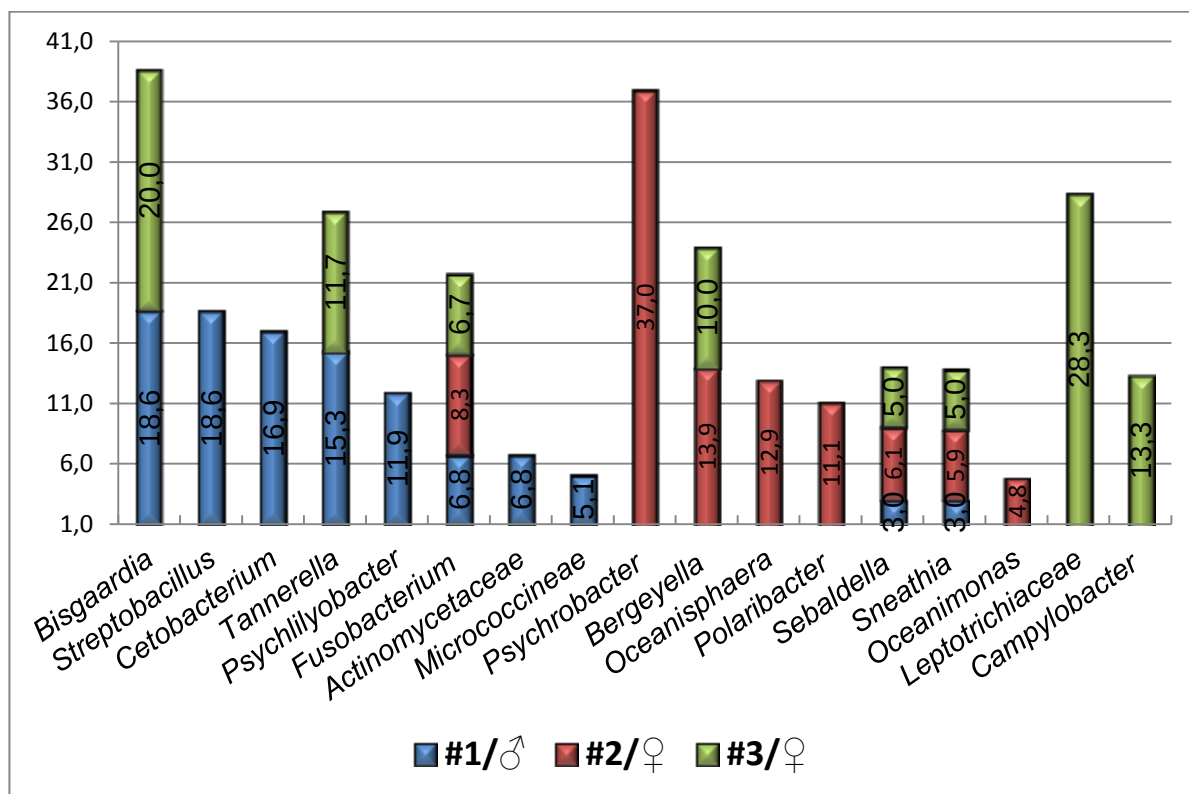


Figure 1 – Dominant bacterial taxa in the oral microbiome of the Caspian seals

As can be seen from Figure 1, in the microbiome of the oral cavity of male Caspian seals, the highest percentage has represented by the following genera: *Bisgaardia* and *Streptobacillus* - 18.6% each, *Cetobacterium* - 16.9%, *Tannerella* - 15.3%, *Psychlilyobacter* - 11.9%, *Fusobacterium* and *Actinomycetaceae* - 6.8% each, *Micrococcineae* - 5.1%, *Sebaldella* and *Sneathia* - 3% each. The microbiome profile of male Caspian seals' oral cavity has determined by microorganisms of the genera *Streptobacillus*, *Cetobacterium*, *Actinomycetaceae*, *Micrococcineae*, *Psychlilyobacter*.

The oral microbiome of juvenile female Caspian seals differed from those of males in the presence and predominance of the genera *Psychrobacter* - 37.0%, *Bergeyella* - 13.9%, *Oceanisphaera* - 12.9%, *Polaribacter* - 11.1%, *Fusobacterium* - 6.7-8, 3%, *Sneathia* - 5.9-6.1%, *Oceanimonas* - 4.8%, other genera are represented in the content of 1% or less. Microorganisms of the genera *Fusobacterium*, *Sebaldella*, and *Sneathia* were present in all studied groups' oral microbiome. The microbiome of the oral cavity of adult female seals has characterized by the dominance of bacteria of the genera *Leptotrichiaceae*, *Campylobacter*.

Psychrobacter proteolyticus - first isolated from Antarctic krill (*Euphausia superba*), synthesizes cold-adapted metalloprotease - strictly aerobic, psychrotrophic, halotolerant, gram-

negative immotile coccobacterium [5]. *Bergeyella zoohelcum* is a gram-negative, aerobic, non-motile bacterium found in the upper respiratory tract of dogs and cats, can cause respiratory diseases in cats and infections after dog bites [6].

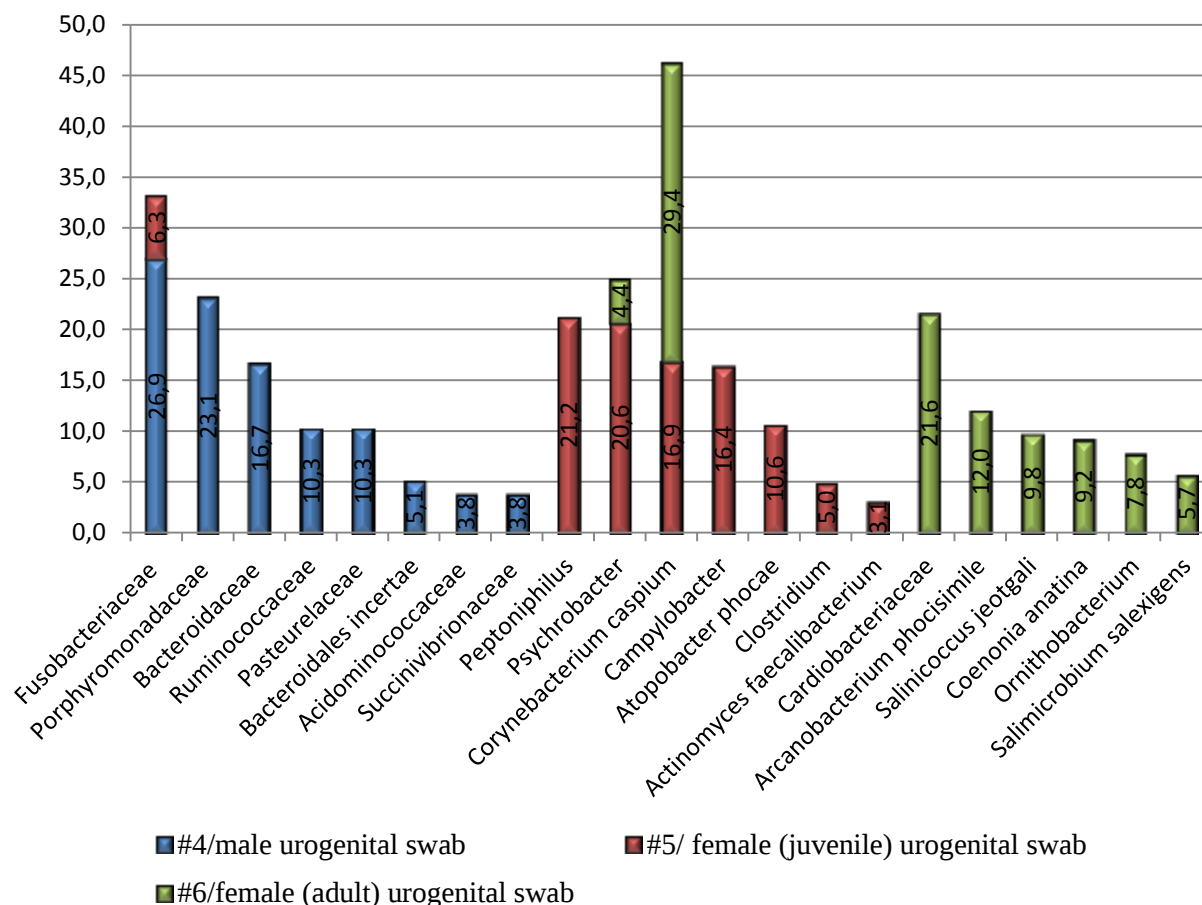


Figure 2 - Dominant bacterial taxa in the microbiome of the urogenital tract of the Caspian seals

As can be seen from Figure 2, the following most represented genera were identified in the bacterial contents of the urogenital tract: *Fusobacteriaceae* - 26.9%, *Porphyromonadaceae* - 23.1%, *Bacteroidaceae* - 16.7%, *Ruminococcaceae* and *Pasteurellaceae* - 10.3% each, *Bacteroidales incertae sedis* - 5.1%, *Acidaminococcaceae* and *Succinivibrionaceae* - 3.8% each. All genera of microorganisms are listed, except those *Ruminococcaceae* and *Acidaminococcaceae* were representatives of these animals' intestinal microflora, indicating the probable contamination of preputial swabs of males.

The presence of microorganisms of the genus *Peptoniphilus*, *Psychrobacter*, *Corynebacterium caspium*, *Campylobacter*, *Atopobacter phocae*, *Clostridium*, *Actinomyces faecalibacterium* characterized the microbiome of genital tract of juvenile female Caspian seals. They are characteristic of these animals' intestine microflora; consequently, this indicates the possible perineum related contamination of materials. The microbiome of adult female Caspian seals' reproductive tract was distinguished by *Cardiobacteriaceae*, *Arcanobacterium phocisimile*, *Salinicoccus jeotgali*, *Coenonia anatina*, *Ornithobacterium*, *Salimicrobium salexigens*.

Representatives of the genus *Cardiobacteriaceae* found in both studied groups of females of the Caspian seal and not revealed in males. The sequences characteristic of animal brucellosis not detected in the reproductive tract of the Caspian seals.

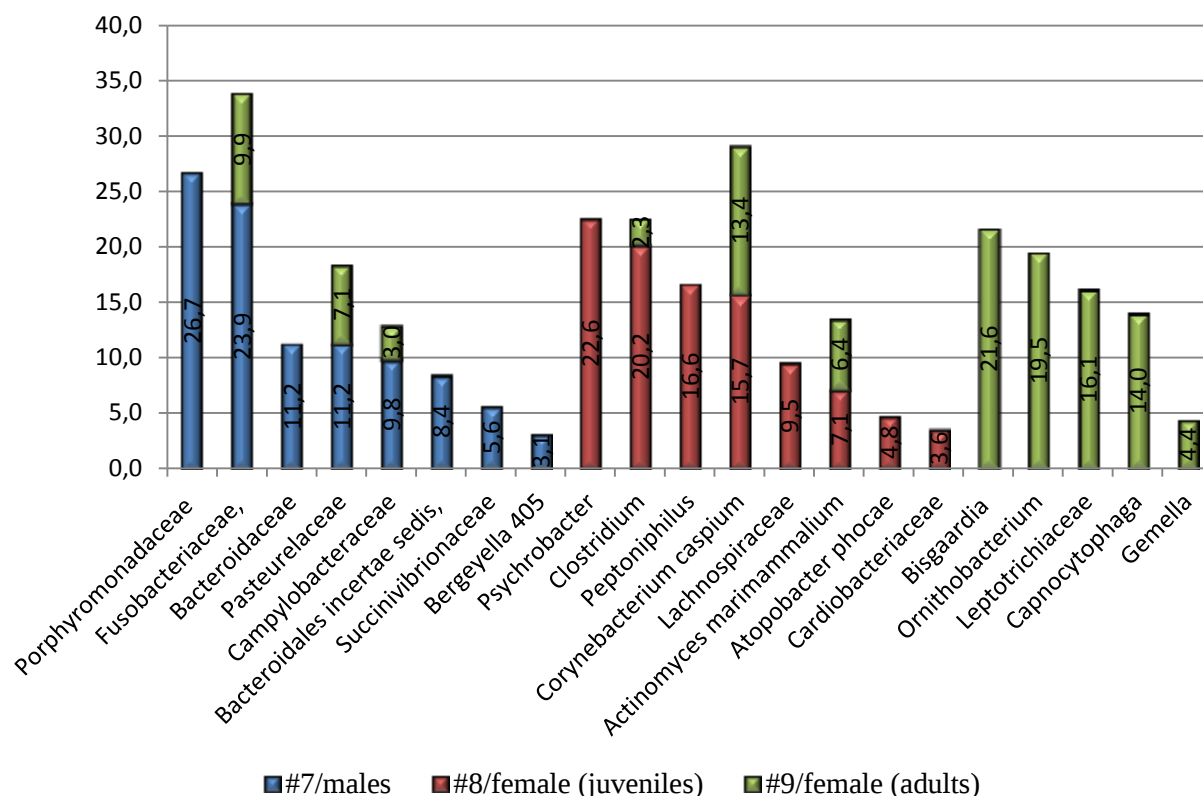


Figure 3 - Dominant taxa in the rectal microbiome of the Caspian seals

As can be seen from Figure 3, the following genera are represented in the highest percentage on the microbiome of the distal part of the squash of male Caspian seals by *Porphyromonadaceae* - 26.7%, *Fusobacteriaceae* - 23.9%, *Bacteroidaceae* and *Pasteurellaceae* - 11.2% each, *Campylobacteraceae* - 9.8%, *Bacteroidales incertae sedis* - 8.4%, *Succinivibrionaceae* - 5.6%, and *Bergeyella 405* - 3.1%. All the listed genera of microorganisms except *Fusobacteriaceae*, *Pasteurellaceae* are characteristic only for male Caspian seals' colon microbiome.

The microbiome of rectal washings of young female Caspian seals was characterized by the presence of microorganisms of the genus *Psychrobacter* - 22.6%, *Clostridium* - 20.2%, *Peptoniphilus* - 16.6%, *Corynebacterium caspium* - 15.7%, *Lachnospiraceae* - 9.5%, *Actinomyces marimammalium* - 7.1%, *Atopobacter phocae* - 4.8%, *Cardiobacteriaceae* - 3.6%.

The microflora of the distal part of the thick squash of adult females of the Caspian seal differed from that of juveniles by the predominance of bacteria of the genera *Bisgaardia*, *Ornithobacterium*, *Leptotrichiaceae*, *Capnocytophaga*, *Gemella*. Microorganisms *Actinomyces marimammalium* and *Atopobacter phocae* found only in seals also revealed in the microbiome of the rectal swabs of both groups of female Caspian seals.

Despite the geographical and evolutionary isolation of Caspian seals from other marine mammals of the world's oceans, bacterial species isolated from seals in other parts of the world, such as *Corynebacterium phocae* and *Arcanobacterium phocae*, have been found in their microbiome. *Corynebacterium phocae* was isolated from the nasal cavities of the common seal *Phoca vitulina* [7]. Another species of this genus, *Corynebacterium caspium*, was isolated from the lungs and preputial flushing of the Caspian seals (*Phoca caspica*) during the epizootic of morbillivirus infections among them in 2000 [8]. *Atopobacter phocae* was isolated from rectal and vaginal swabs of dead common seals [9] and is phenotypically characterized by CAMP-like hemolytic and biochemical properties. It is worth paying attention to the presence of *Arcanobacterium phocisimile* in the microflora of the reproductive tract of adult female Caspian seals, since another species of this genus, *Arcanobacterium phocae*, is a common pathogen in

wound infections, which is sometimes associated with systemic infections in stranded marine mammals in California [10].

Thus, the microbiome analysis of the colon of the Caspian seals made it possible to establish a certain profile of the normal microflora of animals depending on their age and sex. Except for some opportunistic microorganisms, no agents of bacterial zoonoses and opportunistic infections of marine mammals have been identified in the Caspian seal microbiota's beta community. The study indicates the need for constant monitoring of the Caspian seal's health parameters to identify the introduction of clinically significant bacterial pathogens into their population.

References:

- 1 He, X., Y. Tian, L. Guo, R. Lux, D. R. Zusman, and W. Shi. 2010. Oral- derived bacterial flora defends its domain by recognizing and killing intruders A molecular analysis using *Escherichia coli* as a model intestinal bacterium. *Microb. Ecol.* 60:655–664.
- 2 The Marine Mammal Protection Act of 1972 as amended 2007. National Marine Mammal Tissue Bank and tissue analysis. <http://www.mmc.gov/legislation/pdf/mmpasec407.pdf>
- 3 PureLink™ Microbiome DNA Purification Kit. Purification of high-quality microbial and host DNA from buccal, vaginal, or skin swab samples. Catalog Number A29790Pub. No.MAN0014268 Rev. A.0
- 4 NEBNext® for DNA Sample Prep / NEBNext_DNA_ILS Version 6.1 – 10/19
- 5 Denner E., Mark B., Busse H., Turkiewicz M., Lubitz W. "Psychrobacter proteolyticus sp. nov., a psychrotrophic, halotolerant bacterium isolated from the Antarctic krill *Euphausia superba* Dana, excreting a cold-adapted metalloprotease." *Syst Appl Microbiol.* 2001. 24 (1). P. 44–53.
- 6 Jumi Yi., Humphries, Romney; Doerr, Laura; Jerris, Robert C.; Westblade, Lars F. *Bergeyella zoohelcum* Associated with Abscess and Cellulitis After a Dog Bite The Pediatric Infectious Disease Journal. - 2016. – Vol. 35(2). P. 214–216.
- 7 Pascual C. Foster G. Alvarez N. Collins MD *Corynebacterium phocae* sp. nov., isolated from the common seal (*Phoca vitulina*). *Int J Svst Bacteriol* 1998 Apr4S Pt 2:601–4
- 8 Collins M. Hovles L. Foster G. Falsen E. *Corynebacterium caspium* sp. nov., from a Caspian seal (*Phoca caspica*) *Int J Svst Evol Microbiol.* 2004. Vol. 54 (Pt 3). P.925–8.
- 9 Lawson, P A; Foster, G; Falsen, E; Ohlén, M; Collins, M D. "Atopobacter phocae gen. nov., sp. nov., a novel bacterium isolated from common seals". *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology.* 2000 September 50 (5): 1755–1760. doi:10.1099/00207713-50-5-1755
- 10 Johnson SP, Jang S, Gulland FM, Miller MA, Casper DR, Lawrence J, et al. Characterization and clinical manifestations of *Arcanobacterium phocae* infections in marine mammals stranded along the central California coast. *J Wildl Dis.* 2003. 39 (1): 36–44.

МРНТИ 34.27.51

Н.Н. ГАВРИЛОВА¹, И.А. РАТНИКОВА¹, А.В. АЛИМБЕТОВА¹, С.Э. ОРАЗЫМБЕТ¹,
Л.А. КОШЕЛЕВА¹, Р.Ж. КАПТАГАЙ¹, О.А. БЕЛИКОВА¹, В.Г. МЕЛЬНИКОВ²

¹ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии»,
Алматы, Казахстан

²Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского,
Москва, Россия

ИЗУЧЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОБИОТИКА, ПРЕДНАЗНАЧЕННОГО ПРОТИВ БРУЦЕЛЛЁЗА, ПРИ ПРОФИЛАКТИКЕ И ЛЕЧЕНИИ КОЛИБАКТЕРИОЗА, САЛЬМОНЕЛЛЁЗА И ПАСТЕРЕЛЛЁЗА В ОПЫТЕ НА БЕЛЫХ МЫШАХ

<https://doi.org/10.53729/MV-AS.2021.01-02.05>

Аннотация

Отобрана ассоциация из молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* 14д/19+*Lactobacillus plantarum* 14д/87+*Lactobacillus brevis* Б-3/43 для лечения и

профилактики бруцеллеза, обладающая устойчивостью к используемым антибиотикам, высокой антагонистической активностью к возбудителям бруцеллеза и кишечных инфекций. Установлено, что применение пробиотика с профилактической и лечебной целью значительно снижает индекс инфицированности и интенсивность обсемененности внутренних органов мышей, экспериментально зараженных высоковирулентным штаммом бруцелл *B. melitensis* 16М.

Целью настоящих исследований было изучение на экспериментально зараженных белых мышах лечебно-профилактической эффективности разработанного пробиотика в отношении кишечных инфекций (колибактериоз, сальмонеллез) и геморрагической септицемии (пастереллез).

В результате проведенных исследований установлена высокая профилактическая и терапевтическая эффективность пробиотика как в сочетании с антибиотиком, так и без него, по отношению к возбудителям кишечных инфекций и пастереллеза. Это позволяет рекомендовать пробиотик для профилактики и эффективного лечения кишечных и острых септических инфекций у сельскохозяйственных животных. Применение пробиотика в ветеринарной практике позволит повысить резистентность организма животных, снизить заболеваемость молодняка кишечными и респираторными инфекционными болезнями, улучшить экологическую ситуацию в хозяйстве вследствие кратковременного выделения микроорганизмов во внешнюю среду, предотвратить заражение здоровых животных и обсемененность окружающей среды.

Использование пробиотика для профилактики и лечения инфекционных заболеваний сельскохозяйственных животных снизит их лечение антибиотиками, что позволит предотвратить формирование субклинических, латентных форм инфекции и бактерионосительства.

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, пробиотик, антагонизм, бруцеллез, кишечные и септические инфекции, профилактика, лечение.

По данным Всемирной организации здравоохранения, заболевание бруцеллезом регистрируется более чем у полумиллиона человек в год в 100 странах мира [1].

Человек в любом возрасте восприимчив к этой болезни. В большинстве случаев люди заражаются от домашних больных животных при употреблении мясомолочных продуктов или при контакте с ними (уход, кормление, убой и др.). Это обуславливает распространенность бруцеллеза во всем мире и особенно в странах, где развито животноводство [2].

Большинство случаев заболевания остаются нераспознанными в связи с трудностями дифференциальной диагностики, отрицательными результатами специфических серологических реакций в хронической стадии болезни [3]. Наблюдается эволюция клиники бруцеллеза, связанная с изменением биологических свойств возбудителя, повторное инфицирование, особенно сельских жителей, а также увеличение заболеваемости этой инфекцией лиц, профессионально несвязанных с сельским хозяйством [4,5].

В Казахстане приоритетным источником заражения людей бруцеллезом является мелкий рогатый скот (в 77% случаев), в 22% случаев – крупный рогатый скот, на другие виды животных приходится около 1% [6, 7].

Лечение бруцеллеза сложное, комплексное и длительное. Основным методом лечения бруцеллеза является этиотропная антибактериальная терапия. Параллельно с этим пациентам назначают нестероидные противовоспалительные, антигистаминные средства, витамины группы В, физиолечение. Профилактика и борьба с бруцеллезом должны быть основаны на проведении комплекса ветеринарно-санитарных и медико-санитарных мероприятий, направленных на снижение и ликвидацию заболеваемости бруцеллезом сельскохозяйственных животных [8].

Одним из путей повышения эффективности борьбы с бруцеллезом животных и человека может быть использование молочнокислых бактерий, обладающих высокой антагонистической активностью к возбудителям данного заболевания. Лечебно-профилактическое действие они оказывают не только благодаря антимикробной активности, но также активации иммунной системы. При создании пробиотика для профилактики и комплексной терапии бруцеллеза необходимо использовать штаммы молочнокислых бактерий, обладающие антагонистической активностью не только к

возбудителям бруцеллёза, но и широкому спектру патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, в том числе кишечных, а также резистентностью к лечебным препаратам. Использование такого пробиотика уменьшит риск заболеваний животных бруцеллёзом, предотвратит у них ослабление иммунитета, возможные инфекционные осложнения, дисбиоз кишечника и повысит эффективность комплексной терапии бруцеллёза.

В связи с изложенным, нами отобрана ассоциация из молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* 14д/19+*Lactobacillus plantarum* 14д/87+*Lactobacillus brevis* Б-3/43, обладающая устойчивостью к используемым антибиотикам, с высокой антагонистической активностью к возбудителям бруцеллёза и кишечных инфекций, превышающая по антагонизму индивидуальные штаммы. Благодаря резистентности к антибиотикам, отобранные штаммы молочнокислых бактерий могут быть использованы в комплексной терапии бруцеллёза совместно с антибиотиками гентамицином, стрептомицином и котримоксазолом. Установлено, что применение пробиотика с профилактической и лечебной целью значительно снижает индекс инфицированности и интенсивность обсеменённости внутренних органов мышей, экспериментально заражённых высоковирулентным штаммом бруцелл *B. melitensis* 16М. Наибольший лечебный эффект выявлен при совместном применении антибиотика с пробиотиком в течение 10 дней. В этой группе животных после окончания лечения инфицированных бруцеллами внутренних органов не выявлено [9].

Целью настоящих исследований было изучение на экспериментально заражённых белых мышах лечебно-профилактической эффективности разработанного пробиотика в отношении кишечных инфекций (колибактериоза, сальмонеллёза) и геморрагической септицемии (пастереллёза).

Объекты и методы исследований

Объектом исследований служила разработанная ассоциация из штаммов молочнокислых бактерий, взятых для исследований из рабочей коллекции лаборатории микробных препаратов, предназначенная для профилактики и лечения бруцеллёза. Штаммы выделены от здоровых людей и животных и отобраны по антагонистической активности в отношении энтеропатогенных бактерий и бруцелл.

Выращивание молочнокислых бактерий и их ассоциаций проводили в жидкой питательной среде МРС при температуре 35- 37⁰С в течение 24 часов.

В опыт было взято 150 клинически здоровых беспородных белых мышей одинакового возраста (3 месяца) весом 16-18 г. После карантинного содержания для испытания пробиотика с тест-культурами *Escherichia coli* 25922, *Salmonella typhimurium* 371, *Pasteurella multocida* 216 сформировали 5 опытных групп по 10 мышей в каждой – всего 15 групп. Первая группа белых мышей была контрольной, 4 группы – опытные. По схеме эксперимента 12 опытных групп белых мышей (по 4 группы на каждый штамм) до заражения тест-культурами ничего не получали, кроме корма и воды, каждая 5-ая группа получала per os испытываемый пробиотик 1 раз в сутки за 15 мин до кормления в течение 10 дней перед заражением в дозе 5% к массе корма на одно животное при заражении колибактериозом и сальмонеллёзом, в дозе 8% к массе корма - при заражении пастереллёзом.

Затем мышей всех опытных и контрольных групп заражали подкожно в область спины LD₅₀ смывом суточных агаровых культур тест-штаммов *E. coli* 25922, *S. typhimurium* 371, *P. multocida* 216. Перед заражением животных тест-штаммы проверяли на типичность культурально-морфологических свойств и чистоту.

Через 24 часа после заражения начинали лечение животных по схеме:

1 группа – контрольная. Белые мыши после заражения возбудителями бактериальных инфекций лечение не получали;

2 группа – белым мышам *per os* задавали пробиотик по 8% к массе корма 3 раза в день при колибактериозе и сальмонеллёзе, по 10% к массе корма 3 раза в день - при пастереллёзе;

3 группа – белые мыши получали один раз в сутки действующий на все возбудители антибиотик цефтриаксон внутримышечно по 0,1 см³ в мягкую ткань в области задней лапы до выздоровления;

4 группа – белые мыши получали антибиотик цефтриаксон в такой же дозе и дополнительно пробиотик *per os* по 8% к массе корма 3 раза в день при колибактериозе и сальмонеллёзе, по 10% к массе корма 3 раза в день - при пастереллёзе;

5 группа – белые мыши продолжали получать пробиотик по 8% к массе корма 3 раза в день при колибактериозе и сальмонеллёзе, по 10% к массе корма 3 раза в день - при пастереллёзе.

Повторность опытов трехкратная. Для математической обработки результатов использовали стандартные методы нахождения средних значений и их средних ошибок [10].

За лабораторными мышами опытных групп вели наблюдение в течение 14 суток. Во время эксперимента устанавливали влияние тестируемого пробиотика на общее состояние белых мышей, экспериментально зараженных патогенными культурами (тяжесть, длительность заболевания, сроки выздоровления животных).

Взвешивание животных проводили через 7 суток после заражения и в конце опыта через 14 суток. Павших белых мышей вскрывали и проводили патологоанатомический осмотр внутренних органов, из которых делали посевы на жидкие и плотные питательные среды (МПБ и МПА).

Через 14 суток проводили забой опытных мышей. Трупы белых мышей вскрывали в стерильных условиях бокса, осматривали патологические изменения внутренних органов, отбирали в стерильные чашки Петри кусочки печени, сердца, легкого, тонкого и толстого отделов кишечника для бактериологического исследования. Посевы на МПБ, МПА культивировали в течение 24 часов в термостате при 37 °С, затем осматривали визуально, оценивали культуральные свойства микроорганизмов. Из суточных агаровых культур делали мазки, окрашивали по Граму, проводили микроскопию.

Результаты исследований и их обсуждение

Белые мыши контрольной группы, зараженные *E. coli* 25922, пали на 5-е сутки после заражения, *S. typhimurium* 371 – на 3-4 сутки, *P. multocida* 216 - на 2-е сутки после заражения. При вскрытии погибших животных наблюдались характерные для данных заболеваний патологические изменения во внутренних органах.

Результаты бактериологического исследования патологического материала от белых мышей контрольной группы, зараженных *E. coli* 25922, показали, что заражающая культура эшерихий обильно высевалась из тонкого и толстого отделов кишечника, а в виде единичных колоний - из печени всех мышей, из сердца - в виде единичных колоний у двух животных (Таблица 1).

Таблица 1 - Результаты бактериологического исследования патологического материала от белых мышей контрольной группы, зараженных *E. coli* 25922

Номер животного	Органы				
	печень	легкое	сердце	тонкий отд. кишеч-ка	толстый отд. кишеч-ка
Белая мышь №1	единичные колонии	-	-	обильный рост	-
Белая мышь №2	единичные колонии	-	-	умеренный рост	единичные колонии
Белая мышь №3	единичные колонии	-	-	обильный рост	умеренный рост
Белая мышь №4	умеренный рост	-	единичные колонии	хороший рост	умеренный рост

Продолжение таблицы 1

Белая мышь №5	единичные колонии	-	единичные колонии	обильный рост	единичные колонии
Белая мышь №6	единичные колонии	-	-	обильный рост	обильный рост
Белая мышь №7	единичные колонии	-	-	обильный рост	обильный рост
Белая мышь №8	единичные колонии	-	-	обильный рост	обильный рост
Белая мышь №9	единичные колонии	-	-	обильный рост	обильный рост
Белая мышь №10	единичные колонии	-	-	обильный рост	обильный рост

У животных, зараженных *S. typhimurium* 371, сальмонеллы обильно высевались из печени и тонкого отделов кишечника, в виде единичных колоний - из сердца, легкого и толстого отдела кишечника (Таблица 2).

Таблица 2 - Результаты бактериологического исследования патологического материала от белых мышей контрольной группы, зараженных *S. typhimurium* 371

Номер животного	Органы				
	печень	легкое	сердце	тонкий отд. кишеч-ка	толстый отд. кишечника
Белая мышь №1	обильный рост	единичные колонии	Умеренный рост	обильный рост	единичные колонии
Белая мышь №2	обильный рост	-	-	умеренный рост	-
Белая мышь №3	обильный рост	единичные колонии	-	обильный рост	-
Белая мышь №4	обильный рост	-	единичные колонии	хороший рост	У-
Белая мышь №5	хороший рост	-	-	обильный рост	-
Белая мышь №6	умеренный рост	-	-	обильный рост	единичные колонии
Белая мышь №7	умеренный рост	-	-	обильный рост	единичные колонии
Белая мышь №8	умеренный рост	-	-	обильный рост	единичные колонии
Белая мышь №9	умеренный рост	-	-	обильный рост	единичные колонии
Белая мышь №10	умеренный рост	-	-	обильный рост	единичные колонии

От павших белых мышей, зараженных *P. multocida* 216, пастереллы обильно высевались из легкого и сердца всех животных. Из печени, тонкого и толстого отделов кишечника пастереллы высевались в виде единичных колоний у трех мышей (Таблица 3).

Таблица 3 - Результаты бактериологического исследования патологического материала от белых мышей контрольной группы, зараженных *P. multocida* 216

Номер животного	Органы				
	печень	легкое	сердце	тонкий отд. кишеч-ка	толстый отд. кишеч-ка
Белая мышь №1	-	обильный рост	обильный рост	единичные колонии	единичные колонии
Белая мышь №2	-	обильный рост	обильный рост	единичные колонии	-
Белая мышь №3	единичные колонии	обильный рост	обильный рост	хороший рост	умеренный рост
Белая мышь №4	единичные колонии	обильный рост	обильный рост	-	-
Белая мышь №5	-	обильный рост	обильный рост	-	единичные колонии
Белая мышь №6	-	обильный рост	обильный рост	-	-
Белая мышь №7	-	обильный рост	обильный рост	-	-
Белая мышь №8	-	обильный рост	обильный рост	-	-
Белая мышь №9	-	обильный рост	обильный рост	-	-
Белая мышь №10	-	обильный рост	обильный рост	-	-

В результате проведенных исследований установлена высокая профилактическая и терапевтическая эффективность пробиотика как в сочетании с антибиотиком, так и без него. Отмечалась его антибактериальная активность не только по отношению к возбудителям кишечных инфекций (эшерихиям, сальмонеллам), но и острых септических инфекций (геморрагической септицемии – пастереллёз). У животных всех опытных групп, ежедневно 3 раза получавших пробиотик, наблюдалось улучшение общего состояния, отсутствие диареи, улучшение аппетита, прибавление в весе (от 5 до 8 г), что свидетельствует об активизации обменных процессов у них. Больше других в весе прибавили белые мыши пятой опытной группы (от 5 до 10 г), длительное время получавшие пробиотик (24 дня).

Применение пробиотика для лечения белых мышей позволило на 3-й день справиться с кишечной инфекцией и пастереллёзом. Наблюдалось более легкое течение заболеваний при применении пробиотика по сравнению с использованием только антибиотика.

Длительное скормливание опытным белым мышам пробиотика предохраняет их от заболевания колибактериозом, сальмонеллёзом и пастереллёзом. У белых мышей, получавших пробиотик без перерыва один раз в сутки в течение 10 дней до заражения и 3 раза в сутки в течение 14 дней после заражения, диарея не наблюдалась. Отмечалось незначительное ухудшение общего состояния животных только в течение первых двух суток. На третьи сутки после заражения все животные выздоравливали, нормализовался аппетит, симптомы заболевания отсутствовали.

При бактериологическом исследовании фекалий белых мышей 3-х опытных групп, получавших пробиотик, заражающие культуры (эшерихии, сальмонеллы и пастереллы) выделялись только в течение трех суток после заражения. Начиная с 3-х суток, патогены высевались в виде единичных колоний, затем выделение их из фекалий мышей прекращалось. Кратковременное выделение культур из фекалий зараженных белых мышей свидетельствует о высокой терапевтической эффективности пробиотика,

подавляющего персистенцию микроорганизмов в тонком и толстом отделах кишечника, с сокращением сроков элиминации возбудителей инфекций до 3-4 суток.

Заключение

Результаты проведенного опыта на белых мышах позволяют рекомендовать пробиотик для профилактики и эффективного лечения кишечных и острых септических инфекций у сельскохозяйственных животных как в сочетании с антибиотиком, так и без него. Применение пробиотика с лечебной и профилактической целью предотвратит выделение возбудителей инфекционных заболеваний во внешнюю среду, что обусловлено кратковременной персистенцией микроорганизмов в организме больных животных. Применение пробиотика в ветеринарной практике позволит повысить резистентность организма животных, снизить заболеваемость молодняка кишечными и респираторными инфекционными болезнями, улучшить экологическую ситуацию в хозяйстве вследствие кратковременного выделения микроорганизмов во внешнюю среду, предотвратить заражение здоровых животных и обсемененность окружающей среды.

Использование пробиотика для профилактики и лечения инфекционных заболеваний сельскохозяйственных животных снизит их лечение антибиотиками, что позволит предотвратить формирование субклинических, латентных форм инфекции и бактерионосительства.

Литература:

- 1 Organization WH. Brucellosis. Geneva: World Health Organization; 2012 <http://www.who.int/zoonoses/diseases/brucellosis/en/>.
- 2 Кузнецов А.Н., Сыздыков М.С., Дуйсенова А.К., Абуова Г.Н., Бердалиева Ф.А., Даулбаева С.Ф., Садовская В.П. Информационное обеспечение эпидемиологического надзора за бруцеллезом с использованием ГИС-технологий. http://journal.ksph.kz/contents/v10n4_2011.pdf:// HYPERLINK . HYPERLINK "%22http://journal.ksph.kz/contents/v10n4
- 3 Профилактика и лабораторная диагностика бруцеллеза людей: методические указания (МУ 3.1.7.1189-03). – М., 2003. – С. 58.
- 4 Амиреев С.А., Муминов Т.А. Стандарты и алгоритмы мероприятий при инфекционных болезнях: практическое руководство. – Алматы, 2007. – Т.1. – С. 238-308.
- 5 Муковозова Л.А., Кулжанова Ш.А., Смаилов Е.М. Избасарова И.В. Бруцеллез: клиника, диагностика, лечение и диспансеризация: методические рекомендации. – Семипалатинск, 2006. – С. 25.
- 6 Сыздыков М.С., Кузнецов А.Н., Абуова Г.М., Бердалиева Ф.А., Садыкова С.С. Оценка эпидемической ситуации по бруцеллезу в Республике Казахстан с использованием географических информационных технологий // Гигиена, эпидемиология және иммунология. – 2011. – № 4. – С. 69-734.
- 7 Оракбай Л.Ж., Черепанова Л.Ю., Денисова Т.Г. Современные аспекты эпидемического процесса бруцеллеза // Современные проблемы науки и образования. – 2015. - №6. HYPERLINK "%20%22http://science.education.ru/ru/article/view?id=22737%22: // %20HYPERLINK.%20
- 8 Ким А. А., Колмогорова Е.Л., Рахимбекова Д.К., Лукьянченко Н.Г., Каратаева Л.С. Бруцеллез – краевая патология Казахстана // Междунар. журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2013. – № 5. – С. 21-23.
- 9 Gavrilova N.N., Sadanov A.K., Ratnikova I.A., Seitbattalova A.I., Kulnazarov B.A. Effect of lactobacillus-based probiotic in the prevention and complex therapy of brucellosis // Advances in Animal and Veterinary Sciences. – 2020. – Vol. 8 (s3). – P. 18-22. – DOI/<http://dx.doi.org/10.17582/journal.aavs/2020/8.s3.18.22>. – ISSN (Online) / 2307-8316; ISSN (Print) / 2309-3331.
- 10 Урбах В.Ю. Статистический анализ в биологических и медицинских исследованиях. – М., 1975. – С. 295.

Н.Н. ГАВРИЛОВА¹, И.А. РАТНИКОВА¹, А.В. АЛИМБЕТОВА¹, С.Э. ОРАЗЫМБЕТ¹,
Л.А. КОШЕЛЕВА¹, Р.Ж. КАПТАГАЙ¹, О.А. БЕЛИКОВА¹, В.Г. МЕЛЬНИКОВ²

¹ «Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы» ЖШС,
Алматы, Қазақстан

² Мәскеу эпидемиология және микробиология ғылыми-зерттеу институты
Г.Н. Габричевский атындағы, Мәскеу, Ресей

АҚ ТЫШҚАНДАР ТӘЖІРИБЕСІНДЕ ПАСТЕРЕЛЛЕЗ, САЛЬМОНЕЛЛЕЗГЕ ҚАРСЫ, КОЛИБАКТЕРИОЗДЫ ЕМДЕУ ЖӘНЕ АЛДЫН-АЛУ КЕЗІНДЕ ТАҒАЙЫНДАЛҒАН ПРОБИОТИКТИҢ ТИІМДІЛІГІН ЗЕРТТЕУ

Түйін

Бізбен антибиотиктерге төзімді, бруцеллез қоздырғыштарына және ішек инфекцияларына жоғары антагонистік белсенділігі бар бруцеллезді емдеу және алдын алу үшін *Lactobacillus plantarum* 14д/19 + *Lactobacillus plantarum* 14д/87 + *Lactobacillus brevis* Б-3/43 сүт қышқылы бактерияларының қауымдастығы таңдалынды.

Алдын алу және емдеу мақсатында пробиотикті қолдану *B. melitensis* 16М жоғары вирулентті штаммымен тәжірибе жүзінде жұқтырған тышқандардың жұқтыру индексін және ішкі ағзаларының тұқымдану қарқындылығын едәуір төмендететіні анықталды.

Осы зерттеулердің мақсаты ішек инфекцияларына (колибактериоз, сальмонеллез) және геморрагиялық септицемияға (пастереллез) қатысты тағайындалған пробиотиктің емдік-профилактикалық тиімділігін эксперименттік жолмен жұқтырған ақ тышқандарда зерттеу болды.

Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде ішек инфекцияларының және пастереллездің қоздырғыштарына қатысты антибиотикпен бірге де, онсыз да пробиотиктің жоғары профилактикалық және емдік тиімділігі анықталды. Бұл пробиотикті ауылшаруашылық жануарларындағы ішек және өткір септикалық инфекциялардың алдын-алу және тиімді емдеу үшін ұсынуға мүмкіндік береді. Ветеринариялық практикада пробиотикті қолдану жануарлар организмінің төзімділігін арттыруға, жас жануарлардың ішек және респираторлық жұқпалы аурулармен сырқаттануын төмендетуге, микроорганизмдердің сыртқы ортаға қысқа уақыт бөлінуі салдарынан шаруашылықтағы экологиялық жағдайды жақсартуға, сау жануарлардың жұқтырылуының және қоршаған ортаның ластануының алдын алуға мүмкіндік береді.

Төлдердің жұқпалы ауруларының алдын алу және емдеу үшін пробиотикті пайдалану жануарларды антибиотиктермен емдеуді азайтады, бұл инфекцияның субклиникалық, латентті түрлерінің және бактерия тасымалдаушылықтың қалыптасуына жол бермейді.

Кілтті сөздер: сүт қышқылы бактериялары, пробиотиктер, антагонизм, бруцеллез, ішек және септикалық инфекциялар, алдын алу, емдеу.

IRSTI 34.27.51

N.N. GAVRILOVA¹, I.A. RATNIKOVA¹, A.V. ALIMBETOVA¹, S.E. ORAZYMBET¹,
L.A. KOSHELEVA¹, R.Zh. KAPTAGAY¹, O.A. BELIKOVA¹, V.G. MELNIKOV²

¹ LLP Research and Production Center for Microbiology and Virology, Almaty, Kazakhstan

² G.N. Gabrichevsky Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

STUDYING THE EFFECTIVENESS OF A PROBIOTIC INTENDED AGAINST BRUCELLOSIS IN THE PREVENTION AND TREATMENT OF COLIBACTERIOSIS, SALMONELLOSIS AND PASTERELLOSIS IN EXPERIMENT ON WHITE MICE

<https://doi.org/10.53729/MV-AS.2021.01-02.05>

Summary

An association of lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum* 14d / 19 + *Lactobacillus plantarum* 14d / 87 + *Lactobacillus brevis* B-3/43 was selected for the treatment and prevention of brucellosis, which is resistant to the antibiotics used, with high antagonistic activity against pathogens of brucellosis

and intestinal infections. It has been established that the use of a probiotic for prophylactic and therapeutic purposes significantly reduces the infection index and the intensity of contamination of the internal organs of mice experimentally infected with a highly virulent strain of brucella *B. melitensis* 16M.

The aim of these studies was to study the therapeutic and prophylactic efficacy of the developed probiotic against intestinal infections (colibacillosis, salmonellosis) and hemorrhagic septicemia (pasteurellosis) on experimentally infected white mice.

As a result of the studies, a high prophylactic and therapeutic efficacy of the probiotic was established both in combination with an antibiotic and without it in relation to causative agents of intestinal infections and pasteurellosis. This allows us to recommend a probiotic for the prevention and effective treatment of intestinal and acute septic infections in farm animals. The use of a probiotic in veterinary practice will increase the resistance of the animal body, reduce the incidence of intestinal and respiratory infectious diseases in young animals, improve the ecological situation in the farm due to the short-term release of microorganisms into the external environment, and prevent contamination of healthy animals and contamination of the environment.

The use of a probiotic for the prevention and treatment of infectious diseases will reduce the treatment of animals with antibiotics, which will prevent the formation of subclinical, latent forms of infection and bacterial carriage.

Key words: lactic acid bacteria, probiotic, antagonism, brucellosis, intestinal and septic infections, prevention, treatment.

According to the World Health Organization, more than half a million people a year are diagnosed with brucellosis in 100 countries of the world [1].

A person at any age is susceptible to illness. In most cases, people become infected from domestic sick animals through the use of meat and dairy products or through contact with them (care, feeding, slaughter, etc.). This determines the prevalence of brucellosis throughout the world, and especially in countries where animal husbandry is developed [2].

Most cases of the disease remain unrecognized due to the difficulties of differential diagnosis, negative results of specific serological reactions in the chronic stage of the disease [3]. Evolution of the clinical picture of brucellosis is observed, associated with a change in the biological properties of the pathogen, re-infection, especially of rural residents, as well as an increase in the incidence of this infection in persons not professionally associated with agriculture [4,5].

In Kazakhstan, the priority source of human infection with brucellosis is small cattle (in 77% of cases), in 22% of cases - cattle and other animal species account for about 1% [6, 7].

Brucellosis treatment is complex, complex and long-term. The main treatment for brucellosis is etiotropic antibiotic therapy. In parallel with this, patients are prescribed non-steroidal anti-inflammatory, antihistamines, B vitamins, physiotherapy. Prevention and control of brucellosis should be based on a complex of veterinary-sanitary and medical-sanitary measures aimed at reducing and eliminating the incidence of brucellosis in farm animals [8].

One of the ways to increase the effectiveness of the fight against brucellosis in animals and humans can be the use of lactic acid bacteria, which have a high antagonistic activity against the causative agents of this disease. They have a therapeutic and prophylactic effect not only due to antimicrobial activity, but also due to the activation of the immune system. When creating a probiotic for the prevention and complex therapy of brucellosis, it is necessary to use strains of lactic acid bacteria that have antagonistic activity not only against pathogens of brucellosis, but also against a wide range of pathogenic and opportunistic microorganisms, including intestinal microorganisms, as well as resistance to medicinal drugs. The use of such a probiotic will reduce the risk of animal diseases with brucellosis, prevent their weakening of immunity, possible infectious complications, intestinal dysbiosis, and increase the effectiveness of complex therapy for brucellosis.

In connection with the above, we have selected an association of lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum* 14d / 19 + *Lactobacillus plantarum* 14d / 87 + *Lactobacillus brevis* B-3/43, which is resistant to the antibiotics used, with high antagonistic activity to pathogens of brucellosis and intestinal antagonisms individual strains. Due to their resistance to antibiotics,

the selected strains of lactic acid bacteria can be used in the complex therapy of brucellosis together with antibiotics gentamicin, streptomycin and co-trimoxazole. It has been established that the use of a probiotic for prophylactic and therapeutic purposes significantly reduces the infection index and the intensity of contamination of the internal organs of mice experimentally infected with a highly virulent strain of brucella *B. melitensis* 16M. The greatest therapeutic effect was revealed with the combined use of an antibiotic with a probiotic for 10 days. In this group of animals, after the end of treatment, no internal organs infected with *Brucella* were detected [9].

The aim of these studies was to study the therapeutic and prophylactic efficacy of the developed probiotic against intestinal infections (colibacillosis, salmonellosis) and hemorrhagic septicemia (pasteurellosis) on experimentally infected white mice.

Objects and methods of research

The object of research was the developed association of strains of lactic acid bacteria taken for research from the working collection of the laboratory of microbial preparations, intended for the prevention and treatment of brucellosis. The strains were isolated from healthy people and animals and selected for antagonistic activity against enteropathogenic bacteria and brucella.

Cultivation of lactic acid bacteria and their associations was carried out in a liquid nutrient medium MRS at a temperature of 35-37 ° C for 24 hours.

The experiment involved 150 clinically healthy outbred white mice of the same age (3 months) weighing 16-18 g. After quarantine for testing the probiotic with test cultures of *Escherichia coli* 25922, *Salmonella typhimurium* 371, *Pasteurella multocida* 216, 5 experimental groups of 10 mice in each - only 15 groups. The first group of white mice was the control, 4 groups were experimental. According to the experimental scheme, 12 experimental groups of white mice (4 groups for each strain) before infection with test cultures received nothing but food and water, each 5th group received per os probiotic 1 time a day 15 minutes before feeding in within 10 days before infection at a dose of 5%, to the feed weight per animal when infected with colibacillosis and salmonellosis, at a dose of 8% to the feed weight when infected with pasteurellosis.

Then, mice of all experimental and control groups were inoculated subcutaneously in the back region of LD50 by washing daily agar cultures of test strains *E. coli* 25922, *S. typhimurium* 371, *P. multocida* 216. Before infection of animals, test strains were checked for typical cultural and morphological properties and purity.

In 24 hours after infection, the animals were treated according to the following scheme:

group 1- control. White mice after infection with pathogens of bacterial infections did not receive treatment;

group 2 - white mice were given per os probiotic 8% by weight of food 3 times a day for colibacillosis and salmonellosis, 10% by weight of food 3 times a day with pasteurellosis;

group 3 - white mice received once a day the antibiotic ceftriaxone acting on all pathogens intramuscularly in a dose of 0.1 cm³ into the soft tissue in the area of the hind paw until recovery;

group 4 - white mice received the antibiotic ceftriaxone in the same dose and additionally a probiotic per os, 8% to the feed weight 3 times a day for colibacillosis and salmonellosis, 10% of the feed weight, 3 times a day for pasteurellosis;

group 5 - white mice continued to receive probiotic 8% by weight of food 3 times a day for colibacillosis and salmonellosis, 10% by weight of food 3 times a day with pasteurellosis.

The experiments were repeated three times. For mathematical processing of the results, we used standard methods for finding the mean values and their mean errors [10].

The laboratory mice of the experimental groups were observed for 14 days. During the experiment, the effect of the tested probiotic on the general condition of white mice experimentally infected with pathogenic cultures was established (severity, duration of the disease, recovery time of animals).

The animals were weighed 7 days after infection and at the end of the experiment after 14 days. The dead white mice were dissected and a postmortem examination of the internal organs was carried out, from which cultures were made on liquid and solid nutrient media (Nutrient Broth and Meat Pepton Agar).

Experimental mice were slaughtered after 14 days. The corpses of white mice were opened in sterile boxing conditions, pathological changes in internal organs were examined, pieces of liver, heart, lung, small and large intestine were taken into sterile Petri dishes for bacteriological examination. Inoculations on NB, MPA were cultivated for 24 hours in a thermostat at 37 °C, then they were examined visually, and the cultural properties of microorganisms were assessed. Smears were made from daily agar cultures, stained according to Gram, and microscopy was performed.

Research results and their discussion

White mice of the control group infected with *E. coli* 25922 died on the 5th day after infection, *S. typhimurium* 371 - on days 3-4, *P. multocida* 216 - on the 2nd day after infection. Autopsy of the dead animals showed pathological changes in the internal organs characteristic of these diseases.

The results of bacteriological examination of pathological material from white mice of the control group infected with *E. coli* 25922 showed that the infecting culture of *Escherichia* was abundantly sown from the small and large parts of the intestine, and in the form of single colonies - from the liver of all mice, from the heart - in the form of single colonies in two animals (Table 1).

Table 1 - Results of bacteriological examination of pathological material from white mice of the control group infected with *E. coli* 25922

Animal number	Organs				
	liver	lung	heart	thin section intestines	thick section intestines
White mouse №1	single colonies	-	-	abundant growth	-
White mouse №2	single colonies	-	-	moderate growth	single colonies
White mouse №3	single colonies	-	-	abundant growth	moderate growth
White mouse №4	moderate growth	-	single colonies	good growth	moderate growth
White mouse №5	single colonies	-	single colonies	abundant growth	single colonies
White mouse №6	single colonies	-	-	abundant growth	abundant growth
White mouse №7	single colonies	-	-	abundant growth	abundant growth
White mouse №8	single colonies	-	-	abundant growth	abundant growth
White mouse №9	single colonies	-	-	abundant growth	abundant growth
White mouse №10	single colonies	-	-	abundant growth	abundant growth

In animals infected with *S. typhimurium* 371, Salmonella was abundantly sown from the liver and small intestine, in the form of single colonies from the heart, lung and large intestine (Table 2).

Table 2 - The results of bacteriological examination of pathological material from white mice of the control group infected with *S. typhimurium* 371

Animal number	Organs				
	liver	liver	lung	heart	thin section intestines
White mouse №1	abundant growth	single colonies	moderate growth	abundant growth	single colonies
White mouse №2	abundant growth	-	-	moderate growth	-
White mouse №3	abundant growth	single colonies	-	abundant growth	-
White mouse №4	abundant growth	-	single colonies	good growth	Y-
White mouse №5	good growth	-	-	abundant growth	-
White mouse №6	moderate growth	-	-	abundant growth	single colonies
White mouse №7	moderate growth	-	-	abundant growth	single colonies
White mouse №8	moderate growth	-	-	abundant growth	single colonies
White mouse №9	moderate growth	-	-	abundant growth	single colonies
White mouse №10	moderate growth	-	-	abundant growth	single colonies

From dead white mice infected with *P. multocida* 216, pasteurella was sown abundantly from the lungs and hearts of all animals. Pasteurella was inoculated from the liver, small and large intestine, in the form of single colonies in three mice (Table 3).

Table 3 - The results of bacteriological examination of pathological material from white mice of the control group infected with *P. multocida* 216

Animal number	Organs				
	liver	liver	lung	heart	thin section intestines
White mouse №1	-	abundant growth	abundant growth	single colonies	single colonies
White mouse №2	-	abundant growth	abundant growth	single colonies	-
White mouse №3	single colonies	abundant growth	abundant growth	good growth	moderate growth
White mouse №4	single colonies	abundant growth	abundant growth	-	-
White mouse №5	-	abundant growth	abundant growth	-	single colonies
White mouse №6	-	abundant growth	abundant growth	-	-
White mouse №7	-	abundant growth	abundant growth	-	-
White mouse №8	-	abundant growth	abundant growth	-	-
White mouse №9	-	abundant growth	abundant growth	-	-
White mouse №10	-	abundant growth	abundant growth	-	-

As a result of the studies, a high preventive and therapeutic efficacy of the probiotic was established both in combination with an antibiotic and without it. Its antibacterial activity was noted not only against pathogens of intestinal infections (*Escherichia*, *Salmonella*), but also acute septic infections (hemorrhagic septicemia - pasteurellosis). In animals of all experimental groups, who received the probiotic 3 times daily, there was an improvement in the general condition, absence of diarrhea, improved appetite, weight gain (from 5 to 8 g), which indicates the activation of metabolic processes in them. White mice of the fifth experimental group gained more weight than others (from 5 to 10 g), which received the probiotic for a long time (24 days).

The use of the probiotic for the treatment of white mice made it possible to cope with intestinal infection and pasteurellosis on the 3rd day. An easier course of disease was observed with the use of the probiotic compared with the use of the antibiotic alone.

Long-term feeding of experienced white mice with probiotic protects them from colibacillosis, salmonellosis and pasteurellosis. Diarrhea was not observed in white mice that received the probiotic without interruption once a day for 10 days before infection and 3 times a day for 14 days after infection. There was a slight deterioration in the general condition of the animals only during the first two days. On the third day after infection, all animals recovered, appetite returned to normal, and there were no symptoms of the disease.

In a bacteriological study of the feces of white mice of 3 experimental groups, treated with probiotic, infecting cultures (*Escherichia*, *Salmonella* and *Pasteurella*) were excreted only within three days after infection. Starting from the 3rd day, pathogens were sown in the form of single colonies, then their isolation from the feces of mice stopped. The short-term isolation of cultures from the feces of infected white mice indicates a high therapeutic efficacy of the probiotic, which suppresses the persistence of microorganisms in the small and large intestine, with a reduction in the elimination time of infectious agents to 3-4 days.

Conclusion

The results of the experiment carried out on white mice make it possible to recommend a probiotic for the prevention and effective treatment of intestinal and acute septic infections in farm animals, both in combination with an antibiotic and without it. The use of a probiotic for therapeutic and prophylactic purposes will prevent the release of pathogens of infectious diseases into the external environment, which is due to the short-term persistence of microorganisms in the body of sick animals. The use of a probiotic in veterinary practice will increase the resistance of the animal body, reduce the incidence of intestinal and respiratory infectious diseases in young animals, improve the ecological situation in the farm due to the short-term release of microorganisms into the external environment, and prevent contamination of healthy animals and contamination of the environment.

The use of a probiotic for the prevention and treatment of infectious diseases will reduce the treatment of animals with antibiotics, which will prevent the formation of subclinical, latent forms of infection and bacterial carriage.

References:

- 1 Organization WH. Brucellosis. Geneva: World Health Organization; 2012 <http://www.who.int/zoonoses/diseases/brucellosis/en/>.
- 2 Kuznecov A.N., Syzdykov M.S., Dujsenova A.K., Abuova G.N., Berdalieva F.A., Daulbaeva S.F., Sadvoskaya V.P. Informacionnoe obespechenie epidemiologicheskogo nadzora za brucellezom s ispol'zovaniem GIS-tehnologij. http://journal.ksph.kz/contents/v10n4_2011.pdf
- 3 Profilaktika i laboratornaya diagnostika brucelleza lyudej: metodicheskie ukazaniya (MU 3.1.7.1189-03). M., 2003. S. 58.
- 4 Amireev S.A., Muminov T.A. Standarty i algoritmy meropriyatij pri infekcionnyh boleznyah: prakticheskoe rukovodstvo. Almaty, 2007. T.1. S. 238-308.
- 5 Mukovozova L.A., Kulzhanova SH.A., Smailov E.M. Izbasarova I.V. Brucellez: klinika, diagnostika, lechenie i dispanserizaciya: metodicheskie rekomendacii. Semipalatinsk, 2006. S. 25.

6 Syzdykov M.S., Kuznecov A.N., Abuova G.M., Berdalieva F.A., Sadykova S.S. Ocenka epidemicheskoy situatsii po brucellezu v Respublike Kazahstan s ispol'zovaniem geograficheskikh informacionnykh tekhnologij. *Gigiena, epidemiologiya zhene immunobiologiya*. 2011. № 4. S. 69-734.

7 Orakbaj L.ZH., CHerepanova L.YU., Denisova T.G. Sovremennye aspekty epidemicheskogo processa brucelleza. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2015. №6.

8 Kim A. A., Kolmogorova E.L., Rahimbekova D.K., Luk'yanchenko N.G., Karataeva L.S. Brucellez – kraevaya patologiya Kazahstana. *Mezhdunar. zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovaniy*. 2013. № 5. S. 21-23.

9 Gavrilova N.N., Sadanov A.K., Ratnikova I.A., Seitbattalova A.I., Kulnazarov B.A. Effect of lactobacillus-based probiotic in the prevention and complex therapy of brucellosis . *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 2020.Vol. 8 (s3). P. 18-22. DOI/http://dx.doi.org/10.17582/journal.aavs/2020/8.s3.18.22. – ISSN (Online) / 2307-8316; ISSN (Print) / 2309-3331.

10 Urbah V.YU. Statisticheskij analiz v biologicheskikh i medicinskih issledovaniyah. M., 1975. S. 295.

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.

Плата за публикацию статей не взимается.

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 (imv-journal.kz@list.ru), (imv_rk@list.ru) при условии, что они оформлены по правилам.

1. Электронное письмо должно 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.

– Отсканированное экспертное заключение о возможности публикации материалов в открытой печати.

– Отсканированную рецензию ведущего специалиста в области исследований, освещаемых в работе.

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 7);

– 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 5-7 машинописных страниц (статьи обзорного характера – до 15 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 Word 2003, 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.

