



ХҒТАР 34.27.19

<https://doi.org/10.32523/2616-7034-2024-149-4-93-109>

Ғылыми мақала

## Жаңа пробиотиктерді жасау үшін *Lactobacillus* штаммдарының микробқа қарсы белсенділігі мен стресс факторларына төзімділігін зерттеу

Д.Е. Құрманғали\*<sup>ORCID</sup>, Б.Т.Байқоныс<sup>ORCID</sup>, А.С. Абилхадиров<sup>ORCID</sup>, Ж.М. Бекшин<sup>ORCID</sup>,  
Г.К. Абитаева<sup>ORCID</sup>

Республикалық микроорганизмдер коллекциясы, Астана, Қазақстан

\*Хат-хабар авторы: [d.qurmangali@gmail.com](mailto:d.qurmangali@gmail.com)

**Аңдатпа.** Негізгі құрамдас бөлігі пайдалы сүт қышқылы бактериялары болып табылатын пробиотикалық штаммдар биотехнологиялық өндірісте үлкен қызығушылық тудырады. Әртүрлі пробиотикалық микроорганизмдердің ішінде көптеген жағымды қасиеттерге ие *Lactobacillus*-қа ерекше көңіл бөлінеді. Зерттеу объектісі биологиялық үлгілерден бөлініп алынған *Lactobacillus* тұқымдасының сүт қышқылды бактериялары, сондай-ақ Республикалық микроорганизмдер коллекциясы биобанкінің коллекциялық штаммдары болып табылады. Зерттеудің мақсаты – пробиотиктерді дамыту үшін сүт қышқылы бактерияларының пробиотикалық қасиеттерін оқшаулау және сипаттау. Жұмыс барысында сүт қышқылды бактериялардың 15 пробиотикалық белсенді штаммдары скринингтен өтіп, Республикалық микроорганизмдер коллекциясы биобанк штаммдарының арасынан ең белсенді төрт культура (*Lactobacillus casei* 2LB, *Lactobacillus brevis* 3LB, *Lactobacillus fermentum* BV-4, *Lactobacillus plantarum* 5LB) таңдалды. Осы штаммдардың бастапқы культураларынан консорциум құрылды және әзірленіп жатқан пробиотикке қосу үшін оңтайлы нұсқасы таңдалды. Бактериялардың пробиотикалық потенциалы, соның ішінде рН төмен мәндеріне төзімділігі, осмостық қысым, шартты патогенді микроорганизмдерге автоагрегация және коагрегация сияқты қасиеттері зерттелді. Асқазан-ішек жолдарының дұшпандық ортасында лактобактериялардың тіршілігін, олардың адгезиялық қасиеттерін, микробқа қарсы заттарды өндіру және иммундық жауапты модуляциялау қабілетін анықтау үшін зерттеулер жүргізілді. Нәтижелер *Lactobacillus* штаммдарының патогендік микрофлораны тиімді басуға, ішектерді колонизациялауға және иммундық процестерді ынталандыруға қабілетті екенін көрсетті. Бұл адам денсаулығын жақсарту үшін *Lactobacillus* негізіндегі жаңа пробиотикалық препараттарды әзірлеу перспективаларын ашады. Бұл нәтижелер *Lactobacillus* пробиотикалық потенциалын және олардың функционалдық өнімдерді дамыту үшін маңызды болып табылатын штаммға тән қасиеттерін зерттеудің маңыздылығын көрсетеді.

**Түйін сөздер:** сүт қышқылы бактериялары, штамм, стресс факторлары, пробиотик, автоагрегация, антагонизм, коагрегация

Түсті: 17.07.2024. Қаралды: 01.11.2024. Қабылданды: 08.11.2024. Онлайн қолжетімді: 20.12.2024

## Кіріспе

Сүт қышқылы бактериялары – адамның психологиялық және моральдық денсаулығына қауіпсіз әсер ететін пробиотикалық қасиеттері бар кеңінен зерттелген микроорганизмдердің бірі. СҚБ – грам-позитивті, факультативті анаэробты, қышқылға төзімді және спора түзбейтін пробиотикалық бактериялар. Сүт қышқылы бактерияларында байқалатын морфологияның негізі грам-позитивті кокктар мен таяқшалар болып табылады. Олардың айрықша ерекшеліктерінің бірі – көмірсуларды ашыту кезінде негізгі соңғы өнім ретінде сүт қышқылының өндірісі болып табылады, бұл оларды микробтардың басқа топтарынан ерекшелендіреді. Пробиотиктер бола отырып, СҚБ әртүрлі жағдайларда иесінің денсаулығын жақсартуға қабілетті. Сонымен қатар, сүт қышқылы бактерияларының көптеген түрлері қауіпсіз деп танылған мәртебеге ие, бұл олардың қолдануға жарамдылығын тағы бір рет растайды.

Сүт қышқылы бактерияларының (СҚБ) штамдарының пробиотикалық қасиеттері, атап айтқанда *Lactobacillus*, олардың денсаулыққа тигізетін пайдасына байланысты айтарлықтай қызығушылық тудырады [1,2]. *Lactobacillus*-тен тұратын пробиотиктерді қарастырған кезде олардың тиімділігінде бірнеше негізгі сипаттамалар шешуші рөл атқаратыны анықталды[3].

Қолданылатын *Lactobacillus* штаммының өзіндік ерекшелігі өте маңызды, өйткені әртүрлі штамдар денсаулыққа әртүрлі әсер етуі мүмкін. Лактобактериялардың пробиотикалық қасиеттеріне асқазан-ішек жолдарында, қышқыл ортада өмір сүру қабілеті жатады. Адгезия қабілеті болады, соның арқасында ол асқазан-ішек жолдарының, ішектің эпителий жасушаларына жабысады. Ішек микробиотасының денсаулық үшін маңыздылығын көрсететін зерттеулердің көптігіне байланысты, асқазан-ішек жолындағы лактобактериялардың көп қырлы рөлін түсіну шұғыл қажеттілікке айналды[3].

Төзімділіктен басқа, *Lactobacillus* пробиотиктерінің тағы бір маңызды сипаттамасы патогендік штамдарға қарсы антагонистік белсенділік болып табылады. Бұл белсенділік оларға ішектегі ресурстар үшін зиянды бактериялармен бәсекелесуге мүмкіндік береді, осылайша теңдестірілген және сау ішек микробиотасының қалыптасуына ықпал етеді. Сонымен қатар, *Lactobacillus* штамдарының аутоагрегацияға қабілеттілігі үлкен маңызға ие, өйткені олар агрегаттар түзуге және ішек қабырғасына жабысып, олардың колонизациясын және иесінің денсаулығына потенциалды пайда әкелетін қабілетін арттырады[4].

Қазіргі отырықшы өмір салты, үнемі өзгеріп отыратын ауа-райы, дұрыс емес және тұрақты тамақтанбау, антибиотиктерді қабылдау, стресстің болуы, бәрі адам денсаулығына кері әсер етеді [5-7]. Кем дегенде бір белгінің болуы ішек микрофлорасының нашарлауына әкеледі, нәтижесінде тітіркенген ішек синдромы пайда болады. Пробиотиктерді қолдану бұл ішектегі теңгерімсіздікті қалпына келтіруге және сау ішек микрофлорасын сақтауға арналған перспективалық шешім [8,9].

## Зерттеу әдістері

### ДНҚ экстракциясы, ПТР амплификациясы, 16rRNA секвенирлеу

Зерттеуде *Lactobacillaceae* тұқымдасының төрт грам-позитивті бактериялары қолданылды. Бактерияларды дені сау адамның биоматериалынан, сондай-ақ қазақтың дәстүрлі ашытылған сүт сусыны – қымыздан, үй сүзбесі сияқты тағамдардан бөлінді (Кесте 1). Оқшауланған бактериялар MRS Broth қоректік ортасында 24 сағат бойы 37°C температурада термостатта инкубацияланды. Барлық сүт қышқылы бактериялары -80°C температурада құрамында 20% глицерині бар De man Sharpa build (MRS) сорпасында сақталды [10].

### Кесте 1

#### Пробиотикалық штаммдардың оқшаулау көздері

Штамм	Жұмыс атауы	Материалдар көздері	PKM коллекциясындағы номері
<i>Lactobacillus casei</i> 2LB	13n-1	Үй қымызы	B-RKM 0545
<i>Lactobacillus brevis</i> 3LB	13b	Үй қымызы	B-RKM 0546
<i>Lactobacillus fermentum</i> BV-4	BV-4	Дені сау адамның биоматериалы	B-RKM 0280
<i>Lactobacillus plantarum</i> 5LB	5LB	Үй сүзбесі	B-RKM 0547

*Lactobacillaceae* тұқымдасының барлық бактериялары 16s рРНҚ гендерін амплификациялау және секвенирлеу арқылы түрлік деңгейінде таксономиялық сәйкестендірілді. Геномдық ДНҚ 10 мл MRS - те өсірілген түнгі колониялардан алынып, амплификацияланды. ПТР шарттары келесідей болды: ДНҚ-ны алдын-ала денатурациялау үшін үлгілер 5 минут ішінде 95°C температурада инкубацияланады. Содан кейін 35 амплификация циклі орындалады, олардың әрқайсысы келесі кезеңдерді қамтиды: 30 секунд ішінде 95°C температурада денатурация, 40 секунд ішінде 55°C температурада праймерлерді күйдіру және 10 минут ішінде 72°C температурада тізбектерді ұзарту [9]. Алынған барлық ПТР өнімдері ExoSAP-it Express жиынтығымен тазартылып, реттелді. Реттілік талдауы BLAST көмегімен жүргізілді. Бірнеше реттілік тұрақтандыру ClustalW бағдарламасының көмегімен жүргізілді [11]. 16s рРНҚ гендерінің ұзындығы бар лактобактерияларға арналған филогенетикалық ағаш көршілерді қосу әдісімен салынды. Талдау MEGA 11 бағдарламасында жүргізілді. Салыстыру GenBank дерекқорындағы BLAST құралының көмегімен жүргізілді (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

### Төмен рН мәндеріне төзімділік

4 штамм және осы штаммдар консорциумы төмен рН концентрациясына төзімділік талдауынан өтті. Ол үшін 10 мкл көлемдегі жаңа түнгі СҚБ культурасы 1N HCl және 1N NaOH көмегімен рН 3,5; 4,5 және 6,2-ге дейін жеткізілген 190 мкл MRS сорпасында араластырылды және 37 °C температурада 2 сағат, 4 сағат және 6 сағат бойы

инкубацияланды. Әрбір 2 сағат сайын 600 нм толқын ұзындығындағы үлгілердің оптикалық тығыздығын өлшеу арқылы спектрофотометрмен төмен рН кезінде бактериялардың өсуі өлшенді [13].

#### *Өтке төзімділік*

Өт төзімділігін зерттеу үшін штамдар MRS сорпасында өсірілді. Қаныққан өт ерітіндісі (Ox bile, Himedia) ұнтақтағынан дайындалып MRS Broth-та ерітіліп, 0,3%, 0,5% және 5% дейінгі өт концентрациясына жеткізілді [6,14], шағын модификациямен. 1 мл жаңа түнгі бактериялық культураны центрифугада 7000 айн/мин 5 минут ішінде тұндырылды. Үлгілер 0,9% физиологиялық ерітіндімен 2 рет жуылды. Алынған тұнба құрамында әр түрлі концентрациясы бар өтпен 1: 10 қатынасында MRSBroth-пен араластырылды. 12-13 сағат ішінде 37°C температурадағы инкубациядан кейін өміршең бактериялардың саны Miles & Mirsa әдісімен дәйекті сұйылту арқылы анықталды [15].

#### *NaCl төзімділігі*

Оқшауланған бактериялық культуралардың NaCl-ға төзімділігі 2, 4, 6 және 8% NaCl концентрациясы бар MRS сорпасында зерттелді. Жаңа дайындалған СҚБ түнгі культурасы 37°C температурада 24 сағат бойы инкубацияланды, бақылау ретінде тек су мен қоректік орта пайдаланылды [16]. Өсу кинетикасын бақылау үшін оптикалық тығыздық 600 нм-де өлшенді.

#### *Автоагрегациялық және коагрегациялық қабілеті*

Сүт қышқылы бактерияларының автоагрегациялық қабілетін талдау үшін Koss et al әдістемесі қолданылды, шағын модификациямен. 37°C температурада өсірілген СҚБ түнгі культурасы 4°C температурада 7000g кезінде 20 минут бойы центрифугалау арқылы жиналды және фосфат-буферлік тұзды ерітіндісінде (PBS) екі рет жуылды. Алынған жасуша суспензиясы құйынды әдіспен 1 минут бойы араластырылды [17].

Жасушалық суспензияның автоагрегациясы бөлме температурасында 3 және 5 сағаттық инкубациядан кейін анықталды. 0,2 мл беткі суспензия 0,8 PBS-та сұйылтылды және бірден оптикалық тығыздығы (OD) өлшенді.

Автоагрегация пайызы  $A = 1 - \left( \frac{A_{t5}}{A_{t0}} \right) * 100\%$  түрінде көрсетілді, мұндағы

$A_{t5}$  – 600 нм-де (Microplate reader, biochrom) микропластинаны оқу құрылғысымен өлшенген сіңіруді білдіреді  $t = 5$  сағ кезінде және  $A_{t0}$  –  $t = 0$  кезінде сіңіруді білдіреді.

Коагрегацияны талдау үшін зерттелетін штамдар мен консорциумның суспензиясы автоагрегация әдісіне ұқсас дайындалды. Жаңа дайындалған Lactobacillaceae жасушаларының суспензиясын фосфат-буферлі тұзды ерітіндісінде (PBS)  $1 \times 10^8$  CFU/мл дейін стандартталды. Барлық Lactobacillus суспензиясынан 2 мл алынып, сондай көлемдегі патогендік штамм жасушаларының суспензиясымен араластырылды (*Escherichia coli*

ATCC 25922V-RKM 0447, *Salmonella typhimurium* TA 98V-RKM 0162, *Staphylococcus aureus* 209PV-RKM 0057, *Candida albicans* ATCC – 885-653 у-RKM 0475). Қоспа араластырылып, өзіндік тұнуы үшін бөлме температурасында қалдырылды. Барлық бактериялық жасушалардың суспензиясынан көлемі 4 мл болатын бақылау пробиркалары дайындалды. Суспензиялардың сіңірілуі 5 сағат 37°C инкубациядан кейін спектрофотометрде 600 нм толқын ұзындығында өлшенді. Коагрегация келесі формула бойынша есептелді:

$$\text{Коагрегация \%} = \frac{\frac{A_x + A_y}{2} - A(x+y)}{A_x + \frac{A_y}{2}}, \text{ мұнда } x \text{ және } y \text{ штаммдардың бақылау пробиркаларына}$$

сіңуін көрсетеді және  $(x + y)$  қоспалардың сіңуін көрсетеді [17, 18].

#### Бактерияға қарсы белсенділікті бағалау

Оқшауланған штаммдардың микробқа қарсы белсенділігі агар ұяшықтарында диффузиялық әдіспен анықталды; индикаторлық бактериялар ретінде *Escherichia coli* ATCC 25922 B-RKM 0447, *Salmonella typhimurium* TA98 B-RKM 0162, *Staphylococcus aureus* 209P B-RKM 0057, *Candida albicans* ATCC-885-653 Y-RKM 0475 пайдаланылды. Петри табақшаларына МРА ортасы құйылып, әрбір индикаторлық микроорганизм газон әдісімен егілді. Содан кейін ыдыстарда диаметрі 1 мм шұңқырлар жасалды, олар әр штаммның 100 мкл түнгі культурасымен толтырылып, 30 минутқа диффузияға қалдырылды. Әрбір индикаторлық штаммдар оңтайлы жағдайда өсу үшін қолайлы температурада түнгі инкубациядан өтті, түнгі инкубациядан кейін планшеттегі ұяшықтардың айналасындағы ореолдардың болуы тексерілді [14].

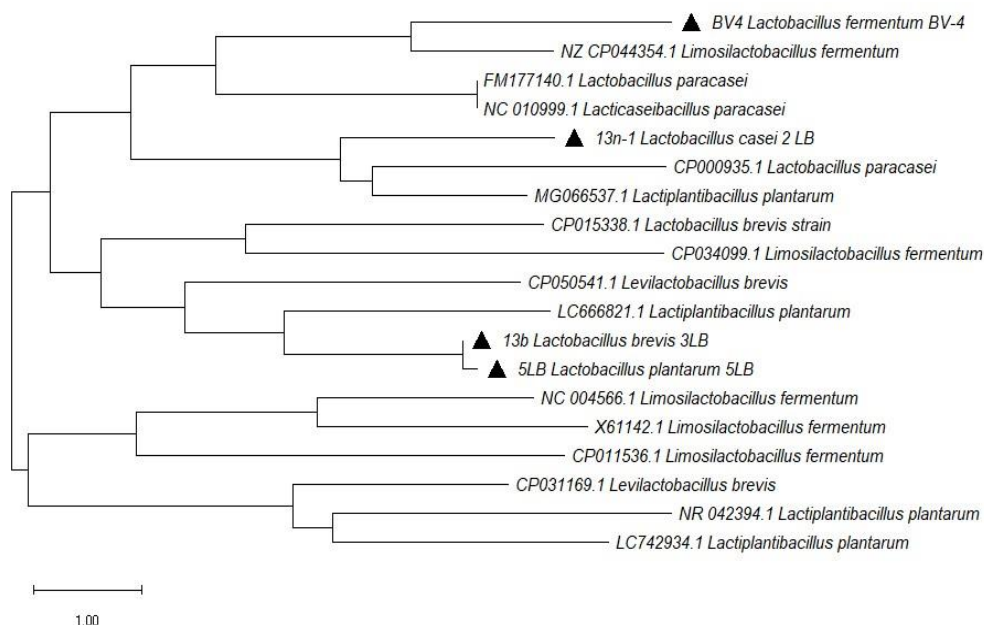
#### Статистикалық талдау

Статистикалық талдау үшін GraphPad Software ұсынған Prism 9.5.1 бағдарламалық құралы пайдаланылды. Эксперименттік ауытқудың болмауын қамтамасыз ету үшін әрбір эксперимент үш данада орындалды. Тәжірибелердің сенімділігін тексеру үшін Стьюденттің t-тесті қолданылып, орташа мәндердердегі айырмашылығы  $p < 0,05$  құрады.

#### Нәтижелер және талқылау

##### ДНҚ экстракциясы, ПТР амплификациясы, 16 rRNA секвенирлеу

Грам-позитивті бактериялардан алынған ДНҚ протоколға сәйкес бөлініп алынды және 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') және 1492R (5'-ACGGYTACCTTGTACGACTT-3') праймерлері арқылы амплификацияланды. СҚБ бактериялары 1-суретте көрсетілгендей 16S rRNA талдауы арқылы анықталды. Осылайша, 16S rRNA талдауы мен молекулалық филогенетикалық талдау негізінде оқшауланған штамм *Lactobacillus* кіретін филогенетикалық топқа тағайындалды (Сурет 1).



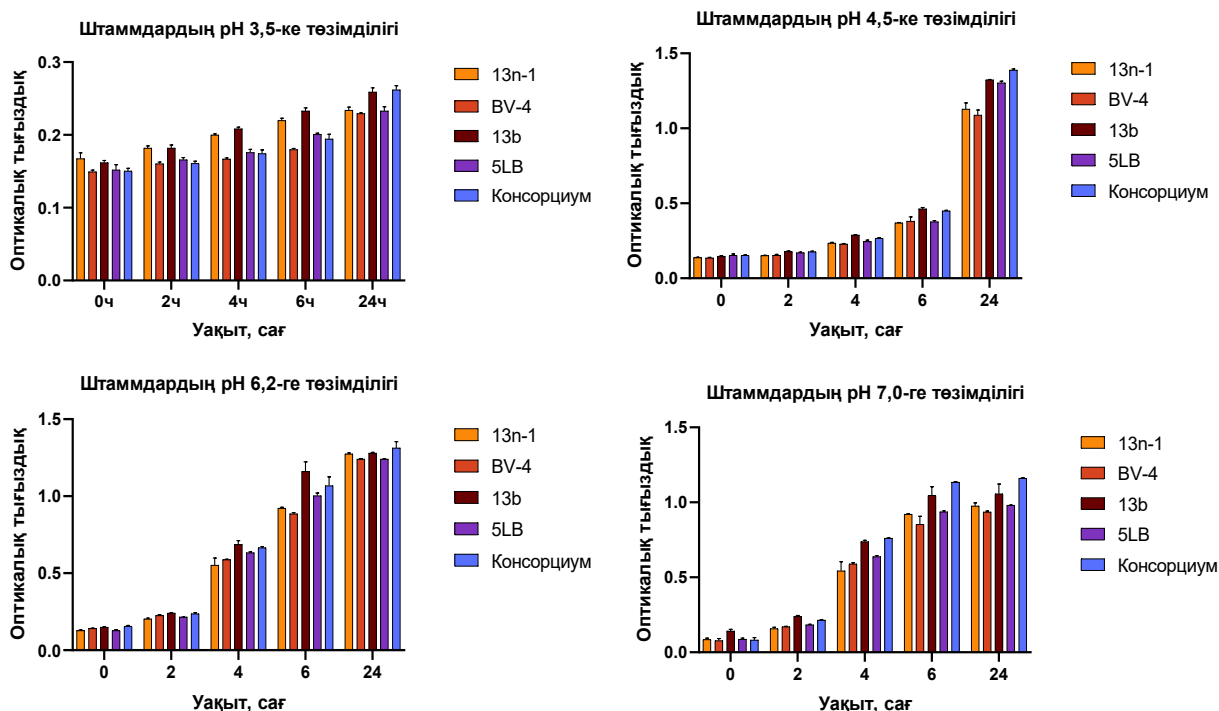
**Сурет 1. 16S rRNA тізбегіне негізделген 5LB, 13b, 13n-1 және BV-4 репрезентативті штамдарының салыстырмалы орнын көрсететін филогенетикалық ағаш**

#### Қышқыл рН мәндеріне төзімділік

СҚБ штамдары әдетте қышқыл ортаға сезімтал, қышқыл ортада олардың ішкі гомеостазды сақтау қабілеті нашарлайды, өсу және зат алмасу белсенділігі айтарлықтай төмендейді. *Lactobacillus* түрлерінің көпшілігі үшін, әсіресе адамның асқазан-ішек жолында жиі кездесетіндері үшін оңтайлы рН диапазоны әдетте 5,5 және 6,5 [19] арасында болады.

2-суретте төрт жеке изоляттың және олардың біріктірілген консорциумын 37°C температурада өсірген кезде әртүрлі рН жағдайларында (рН 3,5, рН 4,5 және рН 6,2) тұрақтылығы көрсетілген. Бақылау рН 7 ортасы болды. Изоляттарға әртүрлі рН деңгейлері және 2, 4, 6, 24 сағат инкубациялау әсер еткеннен кейін оптикалық тығыздық (ОТ) мәндерінде елеулі өзгерістер байқалды.

Зерттелген бактериялардың барлық штамдары өсудің айтарлықтай жетіспеушілігін (оптикалық тығыздық 0,3 мәнінен аспады) және рН 3,5 кезінде қышқылдық жағдайда шектеулі төзімділікті көрсетті. рН 4,5 болған кезде бактериялардың айтарлықтай өсуі тек 24 сағаттан кейін ғана байқалды және сол уақыттағы бақылаумен салыстырғанда оптикалық тығыздық мәндері бақылаудан асып түсті. Зерттелген барлық рН деңгейлерінің ішінде тұрақты өсу және бактериялық өнімділіктің жоғарылауы тек рН 6,2-де байқалды. Бір қызығы, эксперименттің соңында барлық зерттелетін объектілер үшін оптикалық тығыздық мәндері жақындасқаны назар аудартады.



Сурет 2. рН мәндері 3,5, 4,5, 6,2 және 7,0 болатын қышқыл ортада 2, 4, 6 және 24 сағат (n = 3) бойы өсірілген және 37°C температурада өсірілген пробиотикалық изоляттардың ОПТИКАЛЫҚ ТЫҒЫЗДЫҒЫ

Осылайша, рН мәнін 6,2-ге дейін оңтайландыру ең қолайлы жағдай болып табылды. Атап айтқанда, 13b штаммы және барлық төрт штаммды қоса алғандағы консорциум, сыналған барлық штаммдар арасында қышқылға төзімділікті көрсетті. Бұл осы штаммдардың, әсіресе қышқыл жағдайларда ықтимал пайдалылығын көрсетеді.

#### Өтке төзімділік

Зерттеу лактобактериялардың өміршеңдігі мен функционалдылығына әсер ететін ас қорыту жүйесінің құрамдас бөлігі болып табылатын өтке қалай жауап беретінін түсінуге бағытталған. Адам ағзасындағы өт тұздарының концентрациясы орналасу орнына байланысты өзгертінді белгілі және жеке ерекшеліктеріне байланысты болуы мүмкін. Өт қабында өт тұздарының концентрациясы 0,2-0,6% аралығында болады. Islam және т.б.[20], жүргізген зерттеуде аш ішекте өт тұздарының концентрациясы төмендейтіні және 40 мМ-ден 1 мМ-ге дейін өзгертінді атап өтілді, бұл 0,05% - дан 2% - ға дейінгі пайыздық диапазонға сәйкес келеді. Бұл пайыздар өттің жалпы құрамына қатысты өт тұздарының үлесін білдіреді.

Өміршеңдік пен төзімділікті бағалау бактерияларды 24 сағат өсіргеннен кейін жасуша титрлерін (n=3) санау арқылы жүргізілді. 2-ші кестеде өт концентрациясының жоғарылауы және жасуша титрлерінің 1-2 ретке төмендеуі көрсетілген. Бір қызығы,

консорциум ең жоғары төзімділікті көрсетті – 5% өт әсер еткенде жасуша титрі  $6,33 \cdot 10^5$  КҚБ/мл болды. Жеке штаммдардың ішінде 13b штамы ең жоғары төзімділікті көрсетті ( $5,57 \cdot 10^5$  КҚБ/мл), ал BV-4 штамы ең төмен болды, жасуша титрі  $2,50 \cdot 10^4$  КҚБ/мл.

Кесте 2

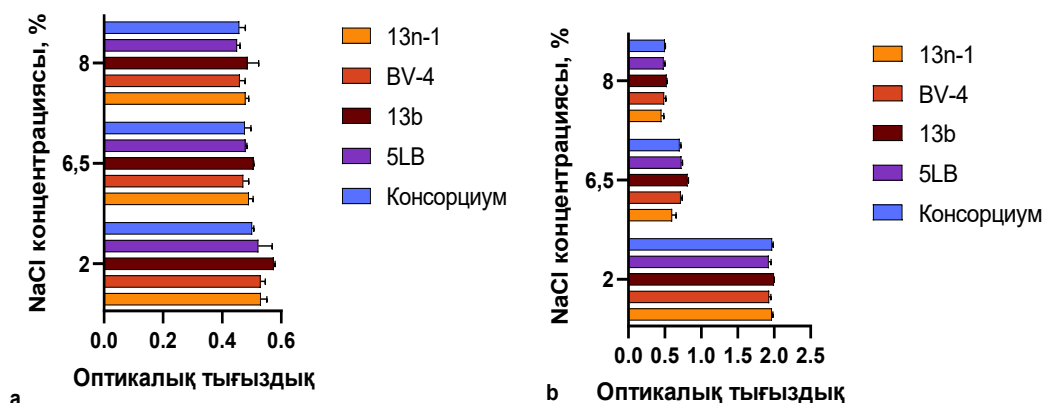
**Зерттелетін лактобактериялардың 0,3%, 0,5% және 5% сиыр өті болған жағдайдағы өміршеңдігі**

Штаммдар	% Өт	0,3% өт, КҚБ/мл	0,5% өт, КҚБ/мл	5% өт, КҚБ/мл
13b		$3,43 \cdot 10^8$	$4,43 \cdot 10^7$	$5,57 \cdot 10^5$
13n-1		$1,87 \cdot 10^7$	$3,90 \cdot 10^6$	$4,73 \cdot 10^5$
BV-4		$2,00 \cdot 10^7$	$1,23 \cdot 10^6$	$2,50 \cdot 10^4$
5LB		$4,33 \cdot 10^8$	$2,50 \cdot 10^6$	$3,27 \cdot 10^5$
Консорциум		$5,07 \cdot 10^8$	$4,73 \cdot 10^7$	$6,33 \cdot 10^5$

Бактериялардың 5%-дық өтке өміршеңдігі айтарлықтай жоғары екенін және агрессивті асқазан-ішек факторларында төзімділік көрсететінін атап өткен жөн. Бұл нәтижелер осы лактобактериялардың ас қорытуды жақсартуда және пробиотикалық препараттарды жасау үшін, әсіресе өт әсерінің айтарлықтай жағдайында, мысалы, асқазан-ішек жолында қолданылуы туралы құнды түсініктер береді.

*NaCl төзімділігі (осмостық қысым)*

Зерттеулер көрсеткендей, *Lactobacillus* изоляттары NaCl-ға оң төзімділікті көрсетті, бұл олардың осмостық қысымы жоғары ортада өмір сүру қабілетін көрсетеді. NaCl-ға төзімділіктің болуы өте маңызды, өйткені ол штаммдарға осмостық күйзеліске төтеп беруге мүмкіндік береді, осылайша олардың өміршеңдігін және пробиотиктер ретінде қолданылу мүмкіндігін арттырады (сурет 3).



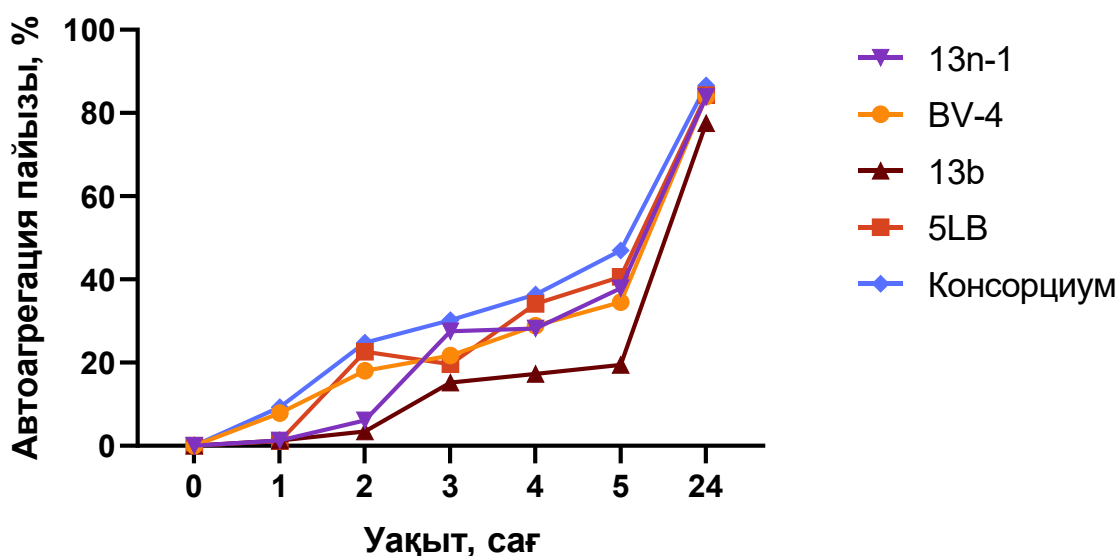
**Сурет 3. Осмостық қысымның бактериялардың өсуіне әсері (a-0 сағат, b-24 сағат) барлық деректер орташа ± SD түрінде көрсетіледі**



3-суреттен көріп отырғандай барлық изоляттар NaCl-дын кең диапазонына (1-8% w/v) шыдай алатынын 2% NaCl-да жақсы өсуімен анық көрсетті, содан кейін тұз концентрациясы 6,5% және 8% дейін жоғарылаған кезде өсу күрт төмендеді. Мәндер үш қайталанудың орташа мәнін білдіреді, ұқсас емес әріптер айырмашылықтарды көрсетеді ( $p < 0,05$ ).

#### Автоагрегация қабілеті

Бактериялық жасушалардың ішек эпителийінде бір-бірімен байланысу және агрегаттар түзу қабілеті автоагрегация қабілеті деп аталады. Автоагрегация – пробиотикалық бактериялардың маңызды сипаттамасы болып табылады, өйткені ол олардың беткейлерге жабысып, иесінің асқазан-ішек жолын колонизациялау қабілетіне ықпал етуі мүмкін[21]. Автоагрегациялау қабілеті изоляттардың беткі қасиеттерімен және арнайы молекулалық компоненттерімен байланысты, оның қоршаған ортамен әрекеттесуіне әсер етеді және оның пробиотикалық функцияларына, мысалы, ішектің колонизациясына және иммундық жүйенің модуляциясына потенциалды әсер етеді[4]. Пробиотикалық штаммдардың автоагрегациялық қасиеттері 4-суретте көрсетілген.



Сурет 4. 37 °C температурада 5 сағат және 24 сағат инкубациядан кейінгі автоагрегацияның пайызы. 3 тәжірибеден алынған  $\pm$  SD және орташа мағынасы. Әртүрлі әріптері бар үлгілер айтарлықтай ерекшеленеді ( $p < 0,05$ )

Zawistowska-Rojek A. және т.б. жүргізген зерттеулерде 37°C температурада 2 сағаттық инкубациядан кейін, *Lactobacillaceae* тұқымдастарының автоагрегация мәндері 8,4%-дан 24,82%-ға дейін ауытқыды. Біздің зерттеулеріміз, Zawistowska-Rojek A. және т.б. жүргізген зерттеулермен сәйкес келіп, 3,44%-дан 24,82%-ға дейін ауытқыды [22].

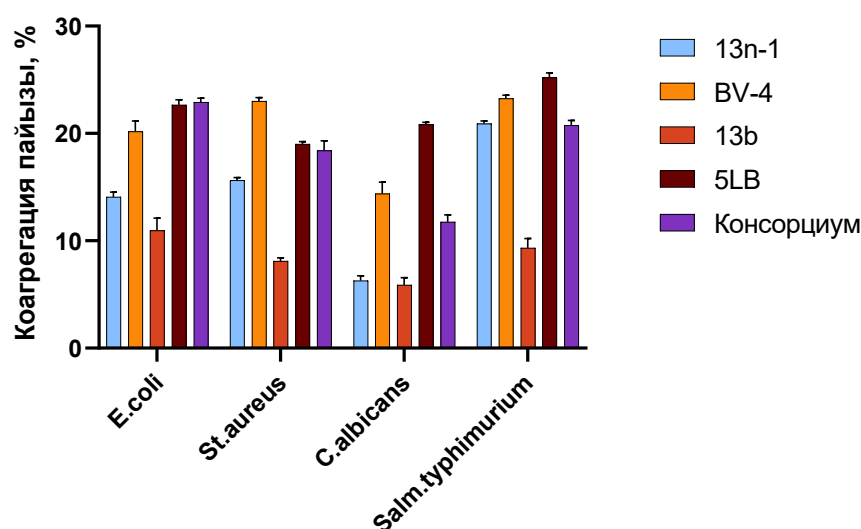
Бір сағаттық инкубациялық кезеңнен кейін консорциум мен 13b штаммы арасындағы шөгу жылдамдығының айырмашылығы байқалды. Барлық штаммдар 3 сағаттық

белгімен (15%-28%) салыстырғанда 5 сағаттық белгіде (19%-дан 47%-ға дейін) автоагрегацияның жоғарылауын көрсетті. 24 сағатта автоагрегация пайызы консорциум үшін 86,66%, 5LB изоляты үшін 84,30% және 13b изолят үшін 77,52% болды. Сонымен қатар, 13n-1 және BV-4 изоляттары сәйкесінше 83,85% және 83,94% жоғары тұрақтылық көрсетті.

#### Патогендік штаммдармен коагрегация

Ferreira *et al* мәліметтері бойынша, *Lactobacillus* штаммдарының коагрегация арқылы тосқауыл жасау қабілеті патогендік бактериялардың колонизациясының алдын алу үшін өте маңызды болуы мүмкін [23]. Бұл коагрегацияның қорғаныс механизмі ретіндегі маңыздылығын, патогендер үшін дұшпандық орта құру арқылы олардың өсуін азайтуды, патогенді жоюды жеңілдетуді және жергілікті микробиотаны қалпына келтіруді білдіреді, бұл кейіннен асқазан-ішек жолдарының денсаулығын сақтауға көмектеседі.

5-суретте көрсетілгендей барлық сыналған штаммдар үшін 5 сағаттық зерттеуде коагрегация қабілетінде айтарлықтай айырмашылық байқалды, коагрегацияның ең жоғары пайызы 5LB (25,20±0,40%), ал 13b ең төменгі (5,89±0,70%) көрсетті.



Сурет 5. Бес сағат ішінде зерттелген штаммдардың коагрегация пайызы

Барлық культуралар арасындағы коагрегацияның ең аз белсенділігі *Candida albicans* сынақ штаммымен әрекеттесу кезінде көрінді. Барлық төрт культураның ішінде тек *Lactiplantibacillus plantarum* 5LB орташа белсенділікті көрсетіп, 20,85±0,20% мәнін тіркеді, ал қалғандары 15%-дан аспады.

Керісінше, 13B (9,34±0,90%) қоспағанда, дақылдардың ең маңызды агрегациялық белсенділігі *Salm. Typhimurium* сынақ штаммымен жұмыс істеу кезінде байқалды, 20% - ға тең немесе одан жоғары мәндерге жетті.

Yanfeng Tao *et al* жүргізген коагуляцияны зерттеуге байланысты коагуляция мәні *L. plantarum* 24-25% диапазонында. Маңыздысы, бұл мәндер зерттелетін нақты штаммға

байланысты өзгеруі мүмкін. Біздің зерттеуімізде құрады *L. Plantarum* 5LB және Консорциум агрегация пайызы 23-24%-ды құрады, бұл Yanfeng Tao et al зерттеуінде ұсынылған нәтижелерге сәйкес келеді [21].

#### Антагонистік белсенділік

*Lactobacillus* пен патогендердің антагонистік өзара әрекеттесуі осы пробиотиктердің әртүрлі жұқпалы аурулардың алдын алу немесе емдеу және ішектің жалпы денсаулығын нығайту үшін потенциалды терапевтік қолданылуын көрсетеді. Дегенмен, тиімділігі *Lactobacillus* нақты штаммына және патогендік ағзалардың сипаттамаларына байланысты өзгеруі мүмкін.

3-кестеде көрсетілген агар ұяшығының диффузиясының нәтижелері консорциумның барлық тексерілген колонияларға қарсы елеулі антагонистік белсенділік танытқанын көрсетті, консорциум үшін тежеу аймағының диаметрі 7 мм-ден астам болды. Жеке штаммдар арасында *L. plantarum* 5LB тежеу аймағының диаметрі 6 мм-ден асатын жоғары антагонистік белсенділікті көрсетті. Керісінше, *Lactobacillus brevis* 13b төмен антагонистік потенциалды көрсетеді.

#### Кесте 3

#### Республикалық микроорганизмдер коллекциясының патогенді микроорганизмдерге қарсы төрт штаммының және олардың консорциумының антагонистік белсенділігін зерттеу

№	Штамм атауы	Антагонистік белсенділік (мм)			
		<i>Salmonella typhimurium</i> TA 98 B-RKM 0162	<i>Staphylococcus aureus</i> 209 P B-RKM 0057	<i>Candida albicans</i> ATCC- 885- 653 Y-RKM 0475	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922
1	13n-1 L.Casei 2LB	B-RKM 0447	6,07±0,51	3,70±0,75*	9,60±1,40
2	13b L.Brevis 3LB	7,17±0,57	6,53±0,40	4,10±2,10	4,60±0,56
3	L.Plantarum 5LB	8,07±0,51	8,87±0,83*	6,67±0,45	9,57±0,60*
4	L.Fermentum BV-4	6,7±0,40	7,27±2,00	2,90±1,30	6,43±0,31*
5	Консорциум	9,5±0,5	11,70±1,50	7,60±0,60	14,23±1,17

Ескерту: \*p<0,05

Тежеу аймақтары: 0 мм - нөлдік белсенділік; 1,0-4,9 мм - төмен белсенділік; 5,0-8,9 мм – орташа белсенділік; ≥ 9 мм – жоғары белсенділік

*Escherichia coli*-ге антагонистік белсенділікке қатысты орташа белсенділікті *Lactobacillus fermentum* BV-4 (6,43±0,31 мм) көрсетсе, *Lactobacillus brevis* 13b (4,60±0,56 мм) төмен белсенділікті, ал қалған штаммдар жоғары белсенділікті көрсетті.

*Staphylococcus aureus* және *Salmonella typhimurium*-ға келетін болсақ, антагонизм деңгейі зерттелген барлық төрт культура бойынша орташадан жоғары болды. Бір қызығы, тек консорциум сәйкесінше *Staphylococcus aureus* және *Salmonella typhimurium*-ға қарсы 11,70±1,50 және 9,5±0,5 антагонизмнің ерекше жоғары көрсеткішін көрсетті.

Керісінше, барлық мәдениеттердегі антагонистік белсенділіктің ең төменгі көрсеткіштері *Candida albicans* сынақ штаммына қатысты байқалды. Төрт культураның ішінде тек *Lactiplantibacillus plantarum* 5LB орташа белсенділікті  $6,67 \pm 0,45$  көрсетті, бұл консорциум белсенділігінің  $7,60 \pm 0,60$  деңгейіне сәйкес келеді.

### Қорытынды

Зерттеулер көрсеткендей, *Lactobacillus* изоляттары қышқыл рН ортасына, өт тұздары және NaCl-ға оң төзімділік танытады, бұл олардың асқазан-ішек ортасында тіршілік ету және колонизациялау қабілетін көрсетеді. Мысалы, бұл штаммдардың рН-тың кең диапазонына төзетіні және қышқыл рН ортасында (3,5-7,0) жақсы өсетіні, сонымен қатар 2-8% NaCl және 0,3-5% өт тұздарына шыдайтыны анықталды.

*Lactobacillus* штаммдарының осы пробиотикалық қасиеттерін түсіну оларды пробиотиктер ретінде пайдалану үшін іріктеу және бағалау кезінде қажет. Асқазан-ішек жолдарының қатал жағдайында өмір сүру, патогендермен бәсекелесу және ішек қабырғаларына жабысу қабілетімен *Lactobacillus* пробиотиктері ішек денсаулына және жалпы әл-ауқатты нығайтуға үлкен септігін тигізеді.

### Қаржыландыру:

Бұл зерттеуді Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім Министрлігінің ғылым комитеті қаржыландырды (грант № AR 19679863)".

### Авторлардың қосқан үлесі

**Құрманғали Д.Е.:** тұжырымдамалау, биоинформатикалық талдау, әдістеме, мақала мәтінін жазу.

**Байқоныс Т.Б.:** тұжырымдамалау, әдістеме, мақаланы сыни тұрғыдан қайта қарау.

**Абилхадиров А.С.:** тұжырымдама мен әдіснаманы дайындады.

**Бекшин Ж.М.:** жобаны басқаруды қадағалады.

**Абитаева Г.К.:** жобаны әкімшілендіруге жетекшілік етті, тұжырымдама мен әдіснаманы дайындады, мақаланы сыни тұрғыдан қайта қарады.

Барлық авторлар зерттеуге елеулі үлес қосты, қолжазбаның соңғы нұсқасын сыни тұрғыдан қарап, мақұлдады және жұмыстың дәлдігі мен тұтастығын қамтамасыз ете отырып, оның барлық аспектілері үшін жауапкершілікті өз мойнына алуға келісті.

### Әдебиеттер тізімі

1. Jose N.M. et al. Short communication: A study of *Lactobacillus* isolates' adherence to and influence on membrane integrity of human Caco-2 cells // J. Dairy Sci. –2017. –Vol. 100, № 10. –P. 7891–7896.
2. Campana R., Van Hemert S., Baffone W. Strain-specific probiotic properties of lactic acid bacteria and their interference with human intestinal pathogens invasion // Gut Pathog. –2017. –Vol. 9, № 1. –P. 12.
3. Bodke H., Jogdand S. Role of Probiotics in Human Health // Cureus. –2022.
4. Hojjati M., Behabhani B.A., Falah F. Aggregation, adherence, anti-adhesion and antagonistic activity properties relating to surface charge of probiotic *Lactobacillus brevis* gp104 against *Staphylococcus aureus* // Microb. Pathog. –2020. –Vol. 147. –P. 104420.

5. Rahayu E.S. et al. Effect of probiotic *Lactobacillus plantarum* Dad-13 powder consumption on the gut microbiota and intestinal health of overweight adults // *World J. Gastroenterol.* –2021. –Vol. 27, № 1. –P. 107–128.
6. Talib et al. Isolation and Characterization of *Lactobacillus* spp. from Kefir Samples in Malaysia // *Molecules.* –2019. –Vol. 24, № 14. –P. 2606.
7. Marasco G. et al. Probiotics, Prebiotics and Other Dietary Supplements for Gut Microbiota Modulation in Celiac Disease Patients // *Nutrients.* –2020. –Vol. 12, № 9. –P. 2674.
8. Bagon B.B. et al. Exploring the Bile Stress Response of *Lactobacillus mucosae* LM1 through Exoproteome Analysis // *Molecules.* –2021. –Vol. 26, № 18. –P. 5695.
9. Li Y. et al. Effects of two strains of *Lactobacillus* isolated from the feces of calves after fecal microbiota transplantation on growth performance, immune capacity, and intestinal barrier function of weaned calves // *Front. Microbiol.* –2023. –Vol. 14. –P. 1249628.
10. Tropcheva R. et al. Antifungal activity and identification of *Lactobacilli*, isolated from traditional dairy product “katak” // *Anaerobe.* –2014. –Vol. 28. –P. 78–84.
11. Larkin M.A. et al. Clustal W and Clustal X version 2.0 // *Bioinformatics.* –2007. –Vol. 23, № 21. –P. 2947–2948.
12. Khushboo, Karnwal A., Malik T. Characterization and selection of probiotic lactic acid bacteria from different dietary sources for development of functional foods // *Front. Microbiol.* –2023. –Vol. 14. –P. 1170725.
13. Jatmiko Y.D., Howarth G.S., Barton M.D. Assessment of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Indonesian naturally fermented milk. Malang, Indonesia, –2017. –P. 050008.
14. Abitaeva G.K. et al. Harakteristika shtammov probiotikov dlia razrabotki napitkov profilakticheskogo naznacheniia, Mikrobiologiya i virusologiya [Characterization of probiotic strains for the development of preventive drinks, Microbiology and Virology], 4(39), 142-158 (2022). [Характеристика пробиотических штаммов для разработки профилактических напитков, Микробиология и вирусология], 4(39), 142-158 (2022).
15. Miles A.A., Misra S.S., Irwin J.O. The estimation of the bactericidal power of the blood // *Epidemiol. Infect.* –1938. –Vol. 38, № 6. –P. 732–749.
16. Chen Z. et al. Screening and Identification of Probiotic *Lactobacilli* from the Infant Gut Microbiota to Alleviate Lead Toxicity // *Probiotics Antimicrob. Proteins.* –2023. –Vol. 15, № 4. –P. 821–831.
17. Kos B. et al. Adhesion and aggregation ability of probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92: Adhesion of *L. Acidophilus* M92 // *J. Appl. Microbiol.* –2003. –Vol. 94, № 6. –P. 981–987.
18. Pessoa W.F.B. et al. *In Vitro* Activity of *Lactobacilli* with Probiotic Potential Isolated from Cocoa Fermentation against *Gardnerella vaginalis* // *BioMed Res. Int.* –2017. –Vol. 2017. –P. 1–10.
19. Yamamura R. et al. Intestinal and fecal pH in human health // *Front. Microbiomes.* –2023. –Vol. 2. –P. 1192316.
20. Islam K.B.M.S. et al. Bile Acid Is a Host Factor That Regulates the Composition of the Cecal Microbiota in Rats // *Gastroenterology.* –2011. –Vol. 141, № 5. –P. 1773–1781.
21. Tuo Y. et al. Aggregation and adhesion properties of 22 *Lactobacillus* strains // *J. Dairy Sci.* –2013. –Vol. 96, № 7. –P. 4252–4257.
22. Zawistowska-Rojek A. et al. Adhesion and aggregation properties of *Lactobacillaceae* strains as protection ways against enteropathogenic bacteria // *Arch. Microbiol.* –2022. –Vol. 204, № 5. –P. 285.
23. Ferreira C.L. et al. *In Vitro* Evaluation of *Lactobacillus gasseri* Strains of Infant Origin on Adhesion and Aggregation of Specific Pathogens // *J. Food Prot.* –2011. –Vol. 74, № 9. –P. 1482–1487.

Д.Е. Курманғали\*, Б.Т. Байқоныс, А.С. Абилхадиров, Ж.М. Бекшин, Г.К. Абитаева  
Республиканская коллекция микроорганизмов, Астана, Казахстан

### Изучение антимикробной активности и толерантности к стресс-факторам штаммов *Lactobacillus* для разработки нового пробиотика

**Аннотация.** Значительный интерес в биотехнологическом производстве представляют пробиотические штаммы, основным компонентом которых являются полезные молочнокислые бактерии. Среди различных пробиотических микроорганизмов особое внимание уделяется *Lactobacillus*, которые обладают множеством положительных свойств. Объектом исследования являются молочнокислые бактерии рода *Lactobacillus*, выделенные из биологических образцов, а также коллекционные штаммы Биобанка Республиканской коллекции микроорганизмов. Цель исследования – выделить и охарактеризовать пробиотические свойства молочнокислых бактерий для разработки пробиотиков. В ходе работы проведен скрининг 15 пробиотически активных штаммов молочнокислых бактерий и отобраны четыре наиболее активные культуры (*Lactobacillus casei* 2LB, *Lactobacillus brevis* 3LB, *Lactobacillus fermentum* BV-4, *Lactobacillus plantarum* 5LB) среди штаммов Биобанка Республиканской коллекции микроорганизмов. Создан консорциум стартовых культур этих штаммов и отобран оптимальный вариант для включения в разрабатываемый пробиотик. Изучался пробиотический потенциал бактерий, в том числе устойчивость к низким значениям pH, осмотическому давлению, такие свойства, как аутоагрегация и коагрегация к условно-патогенным микроорганизмам. Были проведены исследования по изучению выживаемости *Lactobacillus* в агрессивной среде желудочно-кишечного тракта, их адгезивных свойств, способности продуцировать антимикробные вещества и модулировать иммунный ответ. Результаты показали, что штаммы *Lactobacillus* способны эффективно подавлять патогенную микрофлору, колонизировать кишечник и стимулировать иммунные процессы. Это открывает перспективы для разработки новых пробиотических препаратов на основе *Lactobacillus* с целью улучшения здоровья человека. Эти результаты подчеркивают важность изучения пробиотического потенциала *Lactobacillus* и их штаммоспецифических свойств, которые необходимы для разработки функциональных продуктов.

**Ключевые слова:** молочнокислые бактерии, штамм, стресс-факторы, пробиотик, аутоагрегация, антагонизм, коагрегация

D.E. Kurmangali\*<sup>1</sup>, B.T. Baykonys<sup>2</sup>, A.S. Abilkhadirov<sup>3</sup>, J.M. Bekshin<sup>4</sup>, G.K. Abitaeva<sup>5</sup>  
Republican Collection of Microorganisms, Astana, Kazakhstan

### Study of antimicrobial activity and tolerance to stress factors of *Lactobacillus* strains for the development of new probiotics

**Abstract.** Probiotic strains, the main component of which are beneficial lactic acid bacteria, are of considerable interest in biotechnological production. Among various probiotic microorganisms, special attention is paid to *Lactobacillus*, which have many positive properties. The object of the study is lactic

acid bacteria of the genus *Lactobacillus* isolated from biological samples, as well as collection strains of the Biobank of the Republican Collection of Microorganisms. The aim of the study is to isolate and characterize the probiotic properties of lactic acid bacteria for the development of probiotics. In the course of work, 15 probiotically active strains of lactic acid bacteria were screened and four most active cultures (*Lactobacillus casei* 2LB, *Lactobacillus brevis* 3LB, *Lactobacillus fermentum* BV-4, *Lactobacillus plantarum* 5LB) were selected among the strains of the Biobank of the Republican Collection of Microorganisms. A consortium of starter cultures of these strains was created and the optimal variant was selected for inclusion in the probiotic under development. The probiotic potential of bacteria was studied, including resistance to low pH values, osmotic pressure, such properties as autoaggregation and coaggregation to opportunistic microorganisms. Studies were conducted to investigate the survival of *Lactobacillus* in the aggressive environment of the gastrointestinal tract, their adhesive properties, ability to produce antimicrobial substances and modulate the immune response. The results showed that *Lactobacillus* strains can effectively suppress pathogenic microflora, colonize the intestine and stimulate immune processes. This holds promise for the development of novel *Lactobacillus*-based probiotic preparations to improve human health. These results emphasize the importance of studying the probiotic potential of *Lactobacillus* and their strain-specific properties, which are essential for the development of functional products.

**Keywords:** lactic acid bacteria, strain, stress factors, probiotic, autoaggregation, antagonism, coaggregation

## References

1. Jose N.M. et al. Short communication: A study of *Lactobacillus* isolates' adherence to and influence on membrane integrity of human Caco-2 cells, *J. Dairy Sci.*, 100(10), 7891–7896 (2017).
2. Campana R., Van Hemert S., Baffone W. Strain-specific probiotic properties of lactic acid bacteria and their interference with human intestinal pathogens invasion, *Gut Pathog.*, 9(1), 12 (2017).
3. Bodke H., Jogdand S. Role of Probiotics in Human Health, *Cureus* (2022).
4. Hojjati M., Behabhani B.A., Falah F. Aggregation, adherence, anti-adhesion and antagonistic activity properties relating to surface charge of probiotic *Lactobacillus brevis* gp104 against *Staphylococcus aureus*, *Microb. Pathog.*, 147, 104420 (2020).
5. Rahayu E.S. et al. Effect of probiotic *Lactobacillus plantarum* Dad-13 powder consumption on the gut microbiota and intestinal health of overweight adults, *World J. Gastroenterol.*, 27(1), 107–128 (2021).
6. Talib et al. Isolation and Characterization of *Lactobacillus* spp. from Kefir Samples in Malaysia, *Molecules*, 24(14), 2606 (2019).
7. Marasco G. et al. Probiotics, Prebiotics and Other Dietary Supplements for Gut Microbiota Modulation in Celiac Disease Patients, *Nutrients*, 12(9), 2674 (2020).
8. Bagon B.B. et al. Exploring the Bile Stress Response of *Lactobacillus mucosae* LM1 through Exoproteome Analysis, *Molecules*, 26(18), 5695 (2021).
9. Li Y. et al. Effects of two strains of *Lactobacillus* isolated from the feces of calves after fecal microbiota transplantation on growth performance, immune capacity, and intestinal barrier function of weaned calves, *Front. Microbiol.*, 14, 1249628 (2023).

10. Tropcheva R. et al. Antifungal activity and identification of Lactobacilli, isolated from traditional dairy product "katak", Anaerobe, 28, 78–84 (2014).
11. Larkin M.A. et al. Clustal W and Clustal X version 2.0, Bioinformatics, 23(21), 2947–2948 (2007).
12. Khushboo, Karnwal A., Malik T. Characterization and selection of probiotic lactic acid bacteria from different dietary sources for development of functional foods, Front. Microbiol., 14, 1170725 (2023).
13. Jatmiko Y.D., Howarth G.S., Barton M.D. Assessment of probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Indonesian naturally fermented milk, Malang, Indonesia, 050008 (2017).
14. Abitaeva G.K. et al. Characterization of probiotic strains for the development of preventive drinks, Microbiology and Virology, 4(39), 142–158 (2022).
15. Miles A.A., Misra S.S., Irwin J.O. The estimation of the bactericidal power of the blood, Epidemiol. Infect., 38(6), 732–749 (1938).
16. Chen Z. et al. Screening and Identification of Probiotic Lactobacilli from the Infant Gut Microbiota to Alleviate Lead Toxicity, Probiotics Antimicrob. Proteins, 15(4), 821–831 (2023).
17. Kos B. et al. Adhesion and aggregation ability of probiotic strain Lactobacillus acidophilus M92: Adhesion of L. Acidophilus M92, J. Appl. Microbiol., 94(6), 981–987 (2003).
18. Pessoa W.F.B. et al. In Vitro Activity of Lactobacilli with Probiotic Potential Isolated from Cocoa Fermentation against Gardnerella vaginalis, BioMed Res. Int., 2017, 1–10 (2017).
19. Yamamura R. et al. Intestinal and fecal pH in human health, Front. Microbiomes, 2, 1192316 (2023).
20. Islam K.B.M.S. et al. Bile Acid Is a Host Factor That Regulates the Composition of the Cecal Microbiota in Rats, Gastroenterology, 141(5), 1773–1781 (2011).
21. Tuo Y. et al. Aggregation and adhesion properties of 22 Lactobacillus strains, J. Dairy Sci., 96(7), 4252–4257 (2013).
22. Zawistowska-Rojek A. et al. Adhesion and aggregation properties of Lactobacillaceae strains as protection ways against enteropathogenic bacteria, Arch. Microbiol., 204(5), 285 (2022).
23. Ferreira C.L. et al. In Vitro Evaluation of Lactobacillus gasseri Strains of Infant Origin on Adhesion and Aggregation of Specific Pathogens, J. Food Prot., 74(9), 1482–1487 (2011).

#### Information about authors:

**Kurmangali D.E.** – Master of Natural Sciences, Junior Scientific Associate of "Republican collection of microorganisms" LLP, Sh. Ualikhanov street 13/1, 020000, Astana, Kazakhstan.

**Baikonys T.B.** – Master of Veterinary Sciences, Junior Scientific Associate, "Republican Collection of Microorganisms" LLP, 13/1 Sh. Ualikhanov Street, 020000, Astana, Kazakhstan.

**Abilkhadirov A.S.** – Master of Veterinary Sciences, engineer of Republican Collection of Microorganisms LLP, Sh. Ualikhanov street 13/1, 020000, Astana city, Kazakhstan.

**Bekshin J.M.** – Candidate of Medical Sciences, specialty "Hygiene, epidemiology, sanitation", senior researcher, "Republican Collection of Microorganisms" LLP, 13/1 Sh. Ualikhanov Street, 020000, Astana, Kazakhstan.



**Abitaeva G.K.** – PhD, Project Manager, Head of Laboratory of Genetics and Biochemistry of Microorganisms, Senior Researcher, "Republican Collection of Microorganisms" LLP, 13/1 Sh. Ualikhanov Street, 020000, Astana, Kazakhstan.

**Сведения об авторах:**

**Құрманғали Д.Е.** – магистр естественных наук, младший научный сотрудник ТОО «Республиканская коллекция микроорганизмов», улица Ш. Уалиханова, 13/1, 020000, Астана, Казахстан.

**Байқоныс Т.Б.** – магистр ветеринарных наук, младший научный сотрудник ТОО «Республиканская коллекция микроорганизмов», улица Ш. Уалиханова, 13/1, 020000, Астана, Казахстан.

**Абилхадиров А.С.** – магистр ветеринарных наук, инженер ТОО «Республиканская коллекция микроорганизмов», улица Ш. Уалиханова, 13/1, 020000, Астана, Казахстан.

**Бекшин Ж.М.** – кандидат медицинских наук по специальности «Гигиена, эпидемиология, санитария», старший научный сотрудник ТОО «Республиканская коллекция микроорганизмов», улица Ш. Уалиханова, 13/1, 020000, Астана, Казахстан.

**Абитаева Г.К.** – PhD, руководитель проекта, заведующий лабораторией генетики и биохимии микроорганизмов, старший научный сотрудник ТОО «Республиканская коллекция микроорганизмов», улица Ш. Уалиханова, 13/1, 020000, Астана, Казахстан.

**Авторлар туралы мәлімет:**

**Құрманғали Д.Е.** – жаратылыстану ғылымдарының магистрі, «Республикалық микроорганизмдер коллекциясы» ЖШС кіші ғылыми қызметкері, Ш.Уәлиханов көшесі 13/1, 020000, Астана, Қазақстан

**Байқоныс Т.Б.** – ветеринария ғылымдарының магистрі, «Республикалық микроорганизмдер коллекциясы» ЖШС кіші ғылыми қызметкері, Ш.Уәлиханов көшесі 13/1, 020000, Астана, Қазақстан

**Абилхадиров А.С.** – ветеринария ғылымдарының магистрі, «Республикалық микроорганизмдер коллекциясы» ЖШС инженер қызметкері, Ш.Уәлиханов көшесі 13/1, 020000, Астана, Қазақстан

**Бекшин Ж.М.** – «Гигиена, эпидемиология, санитария» мамандығы бойынша медицина ғылымдарының кандидаты, «Республикалық микроорганизмдер коллекциясы» ЖШС аға ғылыми қызметкері, Ш.Уәлиханов көшесі 13/1, 020000, Астана, Қазақстан

**Абитаева Г.К.** – PhD, жоба жетекшісі, микроорганизмдердің генетикасы және биохимиясы зертханасының меңгерушісі, «Республикалық микроорганизмдер коллекциясы» ЖШС аға ғылыми қызметкері, 020000, Ш.Уәлиханов көшесі, 13/1, Астана, Қазақстан