УДК: 579:576.6

И.А. РАТНИКОВА[1], Н.Н. ГАВРИЛОВА[1], К. БАЯКЫШОВА[1], З.Ж. ТУРЛЫБАЕВА[1], С.В. ЫБЫШЕВА[1], О.Г. ЧУГАЙ[2]

ЭШЕРИХИЯ МЕН САЛЬМОНЕЛЛАҒА ҚАРСЫ СҮТ ЖӘНЕ ПРОПИОН ҚЫШҚЫЛЫ БАКТЕРИЯЛАРЫН ІРІКТЕУ ЖӘНЕ СЕЛЕКЦИЯ ЖҮРГІЗУ

[1]РМК «Микробиология және вирусология институты» ҚР БҒМ ҒК, Алматы қ. Қазақстан
[2]Республикалық клиникалық ОСА мүгедектерінің госпиталі

Түйін

Кең спектрлі антимикробтық белсенділігі бар күшті антагонистер (лактобактериялар мен бифидобактериялар) табылды. Антагонистік белсенділік антибиотикалық заттардың кешенінен тұратыны анықталды. Лакто- бифидобактериялардың антибиотикалық заттарына алғаш рет жіктеу (идентификация) жасалғаны жөнінде мәліметтер келтірілген. Жануарлар мен құстардың ішек-қарын жолынан бөлініп алынған бактериялардың биологиялық қасиеттерін негізге ала отырып; сальмонеллездерді, колибактериоздерді және басқа да ілеспелі инфекцияларды емдеуде және олардың алдын-алу үшін мына бактерияларды - *L. casei 139, L. casei 173a, L.brevis B-3, P. shermanii-15* пробиотиктердің құрамына енгізу ұсынылады.

Инфекция – адам мен жануарлардағы жаппай ауру таралуының негізгі себептерінің бірі болып қала береді. Дүние жүзілік банктың мәліметі бойынша, адамда ең көп таралатын ауруларға диарейлер, ішек аурулары, гельминтоздар мен туберкулез жатады, 84%-ға дейінгі рак ауруларының кей бір түрлері этиология жағынан вирустарға, бактериялар мен паразиттерге байланысты болады. Ісік ауруларының дамуына әкеліп соқтыратын, жыл сайын 15%-ға дейінгі рак ауруының жаңа түрлерінің пайда болуынан, инфекциялық және паразитарлық аурулардың алдын-алу арқылы құтылуға болады. Бұл профилактикалық шаралардың стратегиясы мен тактикасын түбегейлі өзгертуге негіз болады [1].

Инфекциялық ауруларды емдеудің күрделілігі, патогенді микроорганизмдерде антибиотиктерге полирезистенттіліктің пайда болуымен қортындалады. Сонымен қатар, антибиотиктердің өздері адам организміне қосымша әсерін тигізеді және негізгі аурудың мерзімін ұзартатын, ішек дисбактериозын туғызады. Бұл – осы мәселені шешудің жаңа жолдарын іздестіру қажеттілігін тудырады.

Инфекциялық аурулармен күресудің жолдарының біріне, емдік және аурудың алдын-алу мақсатында сүт қышқылы бактериялары мен олардың метаболиттерін пайдалану, жатуы мүмкін. Бұл микроорганизмдер ішек-қарын жолының симбионттары болып табылады, адам мен жануарлар үшін зиянсыз. Емдік әсерді, олар антимикробтық белсенділіктің көмегімен, иммунитеттің спецификаға жатпайтын, ең алдымен иммундық жүйесінің қызметін қуаттайды және ішек микрофлорасын қалпына келтіреді.

Медицина мен ветеринария үшін ұсынылатын саудадағы пробиотиктердің санының көптігі, оларды жасап шығару мәселесіне жеткілікті назар аударылатындығын куәландырады [2, 3, 4, 5, 6].

Материалдар мен әдістер

Антагонист-микроорганизмдерді бөліп алу, сау жануарлардың ішегінен алынған қалдықты тығыз қоректік орталарға; МРС, сусло және негізінде жүгері сығындысы бар, құрама қоректік ортаға себу арқылы жүргізілді. Микроорганизм культураларын сақтау үшін негізгі қоректік орталарға; сусло-агар мен жүгері-қант қосылған қоректік орта жатады.

Клеткалардың морфологиясын зерттеу Polyvar микроскобында, электроды ЭМ-125 (СССР), М-100 (Япония) микроскоптарында жай көзбен көру арқылы жүргізілді. Микроорганизмдерді түрге дейін жіктеу (идентификациялау) Берге анықтағышы бойынша жүргізілді. Бактериялардың антагонистік белсенділігін агардағы диффузия әдісімен анықтады. Осы әдіспен, сондай-ақ фотометрикалық әдісімен В тобына жататын дірумендердің құрамы анықтады. С дәруменін анықтауды титрометикалық әдіспен, амин қышқылдардың құрамын – аминқышқылдарын анықтайтын Т-339М анализаторында (ЧССР) жүргізілді. Протеолиттік, амилолиттік, пектинолиттік белсенділіктердің бар-жоғы; тығыз қоректік орталарға қосылған казеин, крахмал және пектинді лизистеу аймағы бойынша, целлюлолиттік белсенділікті – Гетчинсон қоректік ортасында целлюлозаны ыдырату дәрежесі бойынша анықталды. Антибиотикалық резистентілікті зерттеу үшін көпшілікке мәлім, антибиотиктерді: стрептомицин, эритромицин, хлорамфеникол – 50 мкг/мл; неомицин, полимикцин, канамицин – 30 мкг/мл; олеандомицин – 15 мкг/мл; нитрофуран қатарындағы антибиотиктерді – 50 мкг/мл концентрацияларында алып, дискілер әдісі пайдаланылды. Адгезивтік белсенділікті анықтау қораз бен теңіз шошқасының эритроциттері арқылы жүргізілді. Зерттеуге алынған антибиотикалық заттарға, алғашқы идентификация жүргізу үшін мына: антимикробтық әсер ету спектрін анықтау, жұқа қабатты хроматография (ТСХ) және спектрофотометрия әдістер қолданылды. Этанолдағы препараттардың УФ-спектрін спекорд «UVVIS» (ГДР) спектрофотометрінде өлшенді.

Нәтижелер және талқылау

Күйіс қайыратын ірі қара малдардың қарын сөлінен бөлініп алынған микроорганизмдердің *Esherichia coli 47* мен *Staphylococcus aureus 209p*-дің патогенді штамдарына қарсы антагтонистік белсенділігі бойынша скрининг жүргізілді. Барлығы 175 бактериялар штамдары зерттелінді, олардың ішінде келтірілген тест-культуралардың өсуін 22 штамм тежеді. Содан соң өлген құстардың әр түрлі ағзаларынан бөлініп алынған бактериялардың ішінен, коли бактериялардың патогенді штамдарына қарсы антагонистер

іріктелініп алынды. Бактериялардың 10 штаммы белсенділік көрсетті. Алынған нәтижелерді талдай отырып, зерттеуді одан әрі жалғастыру үшін бактериялардың 32 штаммы іріктеліп алынды, олар әртүрлі энтеробактериялардың 30 патогенді штамдарына (*Salmonella* – 10 штамм; *shigella* – 9; *Proteus* – 4; *Klebsiella, Providenceae, Citrobacter, Edwardsiella, Yersinia* штамдарына бір-бірден) қарсы сыналды. Антогонистердің ең көп саны *Salmonella dublin, Salmonella enteritidis, Salmonella ovis, Salmonella derby, Shigella flexneri* (3432, 3332В, 8281В, 4302А), *Klebsiella pneumoniae*-ларға қарсы белгіленді.

Жануарларды дәрумендермен және амин қышқылдарымен қамтамасыз етудің бірден-бір жолы пробиотиктердің құрамына дәрумендер мен амин қышқылдарының продуценттерін қолдану болып табылады. Сондықтан бактериялық штамдардың В тобына жататын дәрумендерді: B_1 (тиаминді), $B_{»}$ (рибофлавинді), B_3 (пантотен қышқылын), B_5 (никотин қышқылын), B_6 (пиридоксинді), B_7 (биотинді), B_8 (инозитті), B_{9-11} (фолий қышқылын), B_{12} (цианокобаломинді), сондай-ақ амилолитикалық, протеолитикалық және целлюлитикалық ферменттерді биологиялық жолмен синтездеуге қабылеттілігі зерттелінді. Зерттеуге алынған бактериялар штамдарының ішінде B_7 дәруменінің продуценті кездеспеді. Тиаминді 139, 173а, Б-З, ПКБ-15 штамдары синтездейді. Фолий қышқылын синтездеуге қабылеттілікті 1к, 8д, 65, 69, 75, 106, 136, 138, 139, 155, 156, 157, 162, 163, 165, 173 бактериялар штамдары көрсетті. Рибофлавиннің синтезі Б-З, 10h, 106, 136, 139, 140, 155, 156, 157, 160, 161, 163, 165, 173а, ПКБ-15, ЦЛБ-22 штамдарында, аздаған дәрежеде 1k, 8g, 75, 138, 149, 157, 170, 173 штамдарында белгіленді. Бактериялардың 175 штамының 59-ы B_{12} дәруменін синтездеді. ПКБ-15 және 139 штамдары B_{12} дәруменін ең көп мөлшерде (тиісінше: 2,82 ед/мг және 0,50 ед\мг) синтездейді. Пантотен қышқылын 23 штамм синтездесе, 5 пиридоксинді синтездеуге қабылетті және ең көп белсенділік ПКБ-15-тен табылды. Бактериялардың көптеген штамдары инозитті түзеді, осы дәрумені ең көп мөлшерде 162 (1,19 ед/мг), ПКБ-15 (1,0 ед/мг), 199 (0,59 ед/мг), Б-3 (0,50 ед/мг) штамдарынан табылды. B_5 дәруменін 139, 173а, ПКБ-15, Б-З штамдары синтездейді, ең көп мөлшерде 173а – 0,33 (ед-мг) штамы түзеді.

С дәруменінің продуценті анықталды, олар мыналар: 139, 173а, ПКБ-15, Б-З. 173а штаммы ең белсенді продуцент болып табылады, оның тіршілік әрекетінің нәтижесінде, қоректік ортада бір тәулік өсірген кезде С дәрумені 3,52 (ед/%), ал 7- тәулікте – 4,40 (ед/%) жинақталады.

Крахмалды синтездеуге қабылеттілік 11 штамда белгілінді, ең белсенді штамдарға 10н, 156, ЦЛБ-22 және 165а жатады. Көміртегінің жалғыз көзі ретінде целлюлоза қосылған ортада - 149, 156, 165, 169, 171, 172, 173 және ЦЛБ-22 штамдары жақсы өседі. Мұның ішінде фильтр қағазын толық ыдыратуға тек ЦЛБ-22 қабылетті. Протеолиттік белсенділік мына штамдарда

анықталды: 10н, 74, 149, 169, 171, 199, Б-3, ЦЛБ-22. Бактериялардың 165а, 165, 165б штамдары да протеолиттік белсенділікке ие.

139, 173а, ПКБ-15, Б-3 монокультураларының амин қышқылы құрамын зерттегенде, олардың мынандай алмаспайтын амин қышқылдарын – гистидин (0,016-0,116 ммоль/мл), изолейцин (0,079-0,280 ммоль/мл), лейцин (0,046-0,323 ммоль/мл), лизин (0,071-0,131 ммоль/мл), метионин (0,060-0,079 ммоль/мл), треонин (0,108-0,165 ммоль/мл), валин (0,168-0,263 ммоль/мл), аргинин (0,366-0,573 ммоль/мл) синтездей алатыны анықталды. Ең жоғарғы синтезді 139 культура көрсетті. Оны жүгері-қант қосыған қоректік ортада 24 сағат өсіргенде, мына амин қышқылдарын – треонин (0,0151 ммоль/мл), серин (0,171 ммоль/мл), глутамин қышқылы (0,554 ммоль/мл), пролин (0,110 ммоль/мл), глицин (0,518 ммоль/мл), аланин (0,461 ммоль/мл), валин (0,253 ммоль/мл), изолейцин (0,117 ммоль/мл), лейцин (0,323 ммоль/мл), тирозин (0,123 ммоль/мл), гистидин (0,116 ммоль/мл), лизин (0,131 ммоль/мл), өндіруге қабылетті болды.

Жүргізілген эксперименттің нәтижесінде жұмысты одан әрі жалғастыру үшін антагонистік белсенділігі жоғары және биологиялық белсенді заттарды синтездеуге қабылетті бактериялар іріктелініп алынды. Олардың морфологиялық және физиолого-биохимиялық қасиеттері зерттелінді және олардың қай түрге жататыны анықталды – *Lactobacillus casei 139, Lactobacillus casei 173а, Lactobacillus longum* 1*0н, Lactobacillus brevis Б-3, Flavobacterium morbificans 165, Propionibacterium shermanii -15*.

Пробиотиктердің құрамына микроорганизмдерді енгізуде, қажетті жағдайлардың біріне – адгезияға белсенділіктің болуы жатады. Іріктелініп алынған бактериялар штамдары мен олардың құрамаларындағы адгезияға қабылеттілікті зерттеу барысында, сыртқы орта жағдайы мен өсу фазасына байланысты адгезияның өзгеріп отыратыны белгілі болды. Зерттеуге алынған микроорганизмдер культуралары мен олардың құрамаларының көпшілігі, 24 сағат өсіргенде адгезияға қабылеттілік көрсетеді. Бактерияларды ет-пептонды агарда 24 сағат өсіргенде адгезияға қабылеттілік мына штамдардан табылды: *L. casei 139, L. brevis Б-3, P. shermanii -15*, ал осы мерзім ішінде *Cellobiosus flavilena-22* мен *L. longum 10н* адгезия байқалмады.

Штамдардың ветеринарияда қолданылатын емдік препараттарға сезімталдығы зерттелінді. Зерттеуге алынған штамдар: стрептомицинге, тетрохлоридке, сульфадиметоксинге, тетрациклинге, гентамицинге, канамицинге, олеандомицинге, ампициллинге сезімтал келетіні белгілі болды. Левомицетин, ристомицин, бензолпенициллин, леворин, хлортетрациклин, бисептол, АСД, фитолизин сияқты емдік препараттарға – резистенттік көрсетті. Норсульфазол, фуразолидин, линкомицин,

мономицин, фузгидин, эритромицин, полимикциндерге сезімталдығы бәсең болды. Бактериялар штамдарының көптеген емдік препараттарға резистенттілігін ескере отырып, оларды антибиотикпен емдеуден және химиотерапиядан кейін ішек-қарын жолының микрофлорасын қалпына келтіру мақсатына сай пайдалануға болады.

L. casei 139, 173а, L. brevis Б-3, сондай-ақ *Bifidobacterium bifidum* лактобациллалары штамдарындағы антибиотикалақ заттарға алғаш рет идентификация жүргізілді. Басым көпшілігінде антибиотикалық заттар биомассада және аздау мөлшерде культуралдық сұйықтықта кезесетіні анықталды. Зерттелінген антибиотиктік заттардың мөлшері (Rf) анықталды: *L. casei 139* – 0,18, *L. casei 173а* – 0,47, *L. brevis Б-3* – 0,20, *B. bifidum* – 0,06. Биомассадағы компоненттердің сіңіру спектрі 276-293нм ішінде ең көп сіңіру қабылетімен сипатталады (этанолда). Сапалық реакциялардан алынған мәліметтер бойынша, бөлініп алынған антибиотиктерді табиғаты белоктан тұратын төменгі молекулалы заттарға жатқызуға болады. Зерттелініп отырған антибиотиктік заттар антимикробтық әсер ету спектрінің кеңдігімен ерекшелінеді. Грам-оң бактериялардың (әсіресе ішек тобының өкілдерін): *E. coli* (79/1; 0/78; 76/1; 47; 38), *S. typhimurium, suis, dublin, Proteus mirabilis, vulgaris, Yersinia enterocolitica, Enterobacter agglomerance, Pseudomonas aeruginosa, Hafnia sp., Citrobacter sp., serratia marcescens,* сондай-ақ *Klebsiella pneumoniae 444, Vibrio colerae*; грам-теріс бактериялар: *Staphylococcus aureus, Staphylococcus aureus 209p, Bacillus subtilis* ATCC 9341, *Micrococcus sp.*; қышқылға төзімді бактериялар: *Mycobacterium rubrum*; дрожжыға ұқсас саңырауқұлақтар: *Candida utilis, Candida albicans, Aspergillus niger*. Барлық зерттеуге алынған тест-микроорганизмдердің ішінен, антибиотиктер тек *Saccharomyces cerevisiae*-ға белсенділік көрсетпеді.

Жануарлар мен құстардың ішек-қарын жолынан бөлініп алынған бактериялардың биологиялық қасиеттерін негізге ала отырып, сальманеллез бен колибактерезды және басқа да ілеспелі инфекцияны емдеуге және оның профилактикасы үшін мына бактерияларды – *L. casei 139,* 173а, *L. brevis Б-3, P. shermanii-15* пробиотиктердің құрамына енгізуге болады; мұның ішінде *P. shermanii*-15 – B_3, B_6, B_8, B_{12}, фоли қышқылы дәрумендерінің продуценті болса, *S. typhimurium, S. suis, S. dublin, E. coli*-ге қарсы антагонист болып келетін *L. casei* 139 – гистидин, изолейцин, лейцин, лизин, треонин, валин сияқты алмаспайтын амин қышқылдары мен B_1, B_{12} дәрумендерінің продуценті, ал *L. casei 173а – S. typhimurium, S. suis, Shigella flexneri, Klebsiella pneumoniae*-ға антагонист, әрі протеолитикалық ферменттер мен С, B_5 дәрумендері мен аргининнің продуценті, *L. brevis Б-3* пробиотиктің құрамына B_8 дәруменінің продуценті ретінде және *E. coli, Citrobacter cloaceae, Proteus inconstans, S.*

typhimurium, S. dublin-нің кейбір өзгерген түрлеріне қарсы антагонист болғандықтан енгізілді.

L. casei 139, L. casei 173a, L. brevis Б-3, P. shermanii -15 культуралары өз-ара бір-бірінің өсуін тежемейтіндіктен, оларды көміртегінің көзі ретінде мелассаны, сонымен қатар сүт сарсуына меласса мен дрожжылар автолизатын қосып, жүгері-қант қосылған қоректік ортада бірге өсіруге болады. Бактериялардың монокультуралары мен консорциумының антагонистік белсенділігі тексерілді.

Кесте - Бактериялардың монокультуралары мен консорциумының антагонистік белсенділігі

Бактериялар штамдары	Тест-культуралардың өсуін тежеу аймағы, мм	
	S. dublin	*E. coli* 0/78
L. casei 139	21	19
L. casei 173a	20	20
L. brevis Б-3	18	19
P. shermanii -15	12	-
139+173a+Б-3+ПКБ-15	22	19

Кестенің көрсеткіштеріне сүйене отырып, зерттелініп отырған монокультуралары және олардың 4 культурадан тұратын құрамалары, патогенді эшерихия мен сальмонеллаға қарсы белсенді деп мәлімдеуге болады. Жануарлар мен құстардың ішек-қарын жолынан бөлініп алынған бактериялардың биологиялық қасиеттерін негізге ала отырып; сальмонеллездерді, колибактериоздерді және басқа да ілеспелі инфекцияларды емдеуде және олардың алдын-алу үшін мына бактерияларды - *L. casei 139, L. casei 173a, L.brevis B-3, P. shermanii-15* пробиотиктердің құрамына енгізу ұсынылады.

Әдебиеттер:

1. Шевченко Ю.Л. Роль современных факторов во взаимодействии человека и микроорганизмов, значение национального здравоохранения в профилактике и лечении инфекционных болезней//Микробиология. – 2002. – № 6. – С. 2-5.

2. Бондаренко В.М., Грачева Н.М. Препараты пробиотики, пребиотики и синбиотики в терапии и профилактике кишечных дисбактериозов //Фарматека. - 2003. – № 7. – С. 56-63.

3. Бондаренко В.М., Чупринина Р.П., Воробьева М.А. Механизм действия пробиотических препаратов //Биопрепараты. – 2003. – № 3. – С. 2-5.

4. Бондаренко В.М., Грачева Н.М., Мацулевич Т.В., Воробьев А.А.. Микроэкологические изменения кишечника и их коррекция с помощью лечебно-профилактических препаратов//Журн. гастроэтерология гепатология колопроктология – 2003. – № 4 (приложение № 20). - С. 66-76.

5. Collins M.D., Gibson G.R. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut //Am. J. Clin. Nutr. 1999. - V. 69, № 5. - P. 1052-1057.

6. Holzapfel W.H., Haberer P., Geisen R. et al. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition //Am. J. Clin. Nutr. - 2001. - V. 73. - P. 365-373.

UDS 579:576.6

I.A. RATNIKOVA[1], N.N. GAVRILOVA[1], K. BAYAKISHEVA[1], Z. J. TURLYBAEVA[1], S.D. IBYSHEVA[1], O.G. CHUGAY[2]

SELECTION OF ACTIVE STRAINS LACTICACID AND PROPIONICACID BACTERIA IN THE RELATION TO ESCHERICHIA AND SALMONELLA

[1] SNE "Institute of microbiology and virology" SK MES RK, Almaty, Kazakhstan
[2]Republican clinical hospital of disabled people of GPW, Almaty, Kazakhstan

Summary

Strong antagonists with wide range of antimicrobial activity were found out (lactic acid and bifidobacteria). It is found, that antagonistic activity is caused by complex of antibiotic substances. We have studied their biological activity. Basing on biological properties of bacteria, extracted from gastric-intestinal tract of animals and birds may be recommend to include to probiotic's composition the following bacteria: *Lactobacillus casei 139, Lactobacillus casei 173a, Lactobacillus brevis B-3, Propionibactereium shermanii-15* for preventing and treatment of salmonellosis, colibacteriosis and other accompanying infections. In our science work we had common method.

Infections remain one of the most important reasons of mass diseases of the person and animals. According to the World bank, leading diseases of the person are diarrheas, intestinal, helminthiasis and tuberculosis, to 84% of some forms of a cancer pertaining to is connected with viruses, bacteria and parasites. More than 15% of new cases of a cancer it is annually possible to avoid by prevention of infectious and parasitic diseases which provoke development of tumors. It gives the grounds to change strategy and tactics of preventive actions [1].

Complexity of treatment of infectious diseases consists in emergence at pathogenic microorganisms of polyresistance to antibiotics. Besides, antibiotics often make collateral impact on a human body and cause the dysbacteriosis of intestines aggravating a course of the main disease. It causes need of search of new approaches to the solution of this problem.

Use with the medical and preventive purpose of lactic bacteria and their metabolites can be one of ways of fight against infectious diseases. These microorganisms are symbionts a gastrointestinal path, are harmless to the person and animals. They have medical effect thanks to antimicrobic activity, activation of immune system, mainly a nonspecific link of immunity, and normalization of intestinal microflora.

The extensive number of probiotics possible in the market for veterinary science and medicine testifies that the sufficient attention is paid to a problem of their development. [2, 3, 4, 5, 6].

Materials and methods

Selection of microorganisms-antagonists was carried out by seeding of the contents of healthy animals intestines on solid nutritious mediums MRS, worp and combined mediums on the basis of

corn extraction. Main mediums for microorganisms cultures support were worp-agar and corn-sugar mediums. Cells morphology studying was carried out visually using microscope Polyvar, electron microscopes EM-125 (USSR), M-100B(Japan). Microorganisms identification up to species was carried out according to Berge determination. Antagonistic activity of bacteria was determined using diffusion into agar method. Vitamins of B group content was determined by the same method and also by photometrical method. Vitamin C content was determined using titration method; amino-acids contents was determined on amino-acid analyzer T339M (ChSSR). Presence of proteolythical, amylolythical, pectolythical activity was determined according to lysis zones of casein, starch and pectin on solid nutritious mediums; celluloselythical activity - according to rate of cellulose decay in Getchinson medium. For antibiotical resistance studying common method of disks, saturated with antibiotics in the following concentrations: streptomycin, erythromycin, chloramphenicol - 50 mkg/ml; neomycin, polymyxin, kanamycin - 30 mkg/ml; oleandomycin - 15 mkg/ml; antibiotics of nitrophuran series - 50 mkg/ml; was used. Determination of adhesive activity was carried out on guinea-pig and cock's erythrocytes. For original identification of studied antibiotical substances the following methods were used: antimicrobial activity range determination, thinfilm chromatography (TFC) and spectrophotometry. Specimens UV-spectrums in ethanol were measured using spectrophotometer specord "UVVIS" (GDR).

Results and discussion

Biological properties of microorganisms, possessing antagonistic activity, extracted from gastric-intestinal tract of healthy animals, were studied. It is shown, that many strains of bacteria are of low activity. Strong antagonists with wide range of antimicrobial activity were found out. This makes expedient their usage for colibacteriosis, salmonelloses and accompanying infections treatment. It is found, that antagonistic activity is caused by complex of antibiotic substances. Data about lactic acid and bifidobacteria antibiotic substances, which are characterized with wide range of antimicrobial activity, original identification are presented.

Scrining of microorganisms, extracted from ruminants rumens contents, was carried out for antagonistic activity in relation to pathogen strains *Escherichia coli 47* and *Staphylococcus aureus 209p* determination. Totally 175 strains of bacteria were studied, and 22 of these strains oppressed growth of named test-cultures. Then antagonists to pathogen strains of coli-bacteria, extracted from different organs of fell birds, were selected. 10 strains of bacteria appeared to be active. Basing on obtained results 32 strains of bacteria, tested in relation to 32 different strains of pathogen enterobacteria (*Salmonella* - 10 strains; *Shigella* - 9; *Proteus* -4; *Klebsiella, Providenceae, Citrobacter, Edwardsiella, Yersinia* - 1 strain), were chosen for further researches. The maximum

number of antagonists was noted in relation to *Salmonella dublin, Salmonella enteritidis, Salmonella ovis, Salmonella derby, Shigella flexneri* (3432, 3382b, 8281b, 4302a), *Klebsiella pneumoniae.*

One of the ways to supply animals with vitamins and amino-acids is usage of vitamines and amino-acids in composition of producers' probiotics. That's why bacteria strains were investigated on their ability to biosynthesize vitamins of B group: B_l (thiamine), B_2 (riboflavin), B_3 (panthotenic acid), B_5 (nicotinic acid), B_6 (pyrodoxine), B_7 (biotin), B_8 (inositol), $B_{9\text{-}11}$ (folic acid), B_{12} (cyanocobalamin), and also amylolythical, proteolythical and cellulosalythical enzymes. No strain among those investigated was able to produce vitamine B_7. Strains 139, 173a, B-3, *Propionibacterium shermanii-15*(PAB-15) synthesize thiamine. Ability to synthesize folic acid have the following strains of bacteria: 1k, 8g, 65, 69, 75, 106, 136, 138, 139, 155, 156, 157, 162, 163, 165, 173. Riboflavin synthesis was noticed at strains B-3, I0N, 106, 136, 139, 140, 155, 156, 157, 160, 161, 163, 165, 173a, PAB-15, *Cellobiosus flavigena*-22 (CLB-22), and in less rate at strains 1k, 8d, 75, 138, 149, 157, 170, 173. 59 strains among 175 ones synthesize vitamine B_{12}. Strains PKB-15 and 139 synthesize the maximum amount of vitamine B_{12} - 2.82 un/mg and 0.50 un/mg appropriately. Panthotenic acid is synthesized by 23 strains, 5 strains are able to synthesize pyrodoxine, and the highest activity has PKB-15. Many bacteria strains produce inositol, and the maximum amount of this vitamine have strains 162 (1.19 un/mg), PAB-15 (1.0 un/mg), 199 (0.59 un/mg), B-3 (0.50 un/mg). Vitamine B_5 is synthesized by strains: 139, 173a, PAB-15, B-3, the most amount is produced by strain 173a - 0.33 (mg%).

Vitamine C producers are found - 139, 173a, B-3, PAB-15. Most active producer appeared to be strain 173a, as a result of its activity after a day of cultivation vitamine C was accumulated in medium up to 3.52 (mg%), after 7 days - 4.40 (mg%).

Ability to synthesize starch have 11 strains, most active appeared to be strains 10N, 156, CLB-22 and 165a. Strains 149, 156, 165, 169, 171, 172, 173 and CLB-22 grow well on cellulose as a single source of carbon. While only CLB-22 has the ability to decay filter paper completely. Proteolythical activity have the following strains: 10N, 74, 149, 160, 171, 173, 199, B-3, CLB-22 Bacteria strains 165a, 165, 165b also have proteolythical activity. While researching amino-acid composition it was found, that monocultures 139, 173a, B-3, PAB-15 are able to synthesize the following irreplaceable amino-acids: histidine (0.016-0.116 mmol/ml), isoleucine (0.079-0.280 mmol/ml), leucine (0.046-0.323 mmol/ml), lysine (0.071-0.131 mmol/ml), methionine (0.060-0.079 mmol/ml), threonine (0.108-0.165 mmol/ml), valine(0.168-0.263 mmol/ml), arginine (0.366-0.573 mmol/ml). The most productive synthesis has the culture 139. It is able to produce amino-acids threonine (0.0151 mmol/ml), serine (0.171 mmol/ml), glutaminic acid (0.554mmol/ml), proline (0.110 mmol/ml), glycine (0.518 mmol/ml), alanine (0.461 mmol/ml), valine (0.253 mmol/ml), isoleueine (0.117 mmol/ml),

leucine (0.323 mmol/ml), tyrosine (0.123 mmol/ml), histidine (0.116 mmol/ml), lysine (0.131 mmol/ml) after 24 hours of cultivation on corn-sugar medium.

As the result of fulfilled experiments bacteria, possessing high antagonistic activity and able to synthesize biologically active substances were chosen for further work. Their morphological and physiologo-biochemical properties were studied and their species belonging was determined - *Lactobacillus casei139, Lactobacillus casei 173a, Lactobacillus longus 10N, Lactobaccilus brevis B-3, Flavobacterium morbificans 165, Propionibacterium shermanii 15.*

One of necessary conditions for including microorganisms into a probiotic's composition is presence of adhesive activity. Research of selected bacteria strains and their combinations adhesive ability showed that adhesion can - change depending on environment conditions and growth phase. Majority of studied cultures of microorganisms and their combinations displaied maximum ability for adhesion after 24 hours of cultivation. While growing bacteria on meat-peptone agar ability for adhesion after 24 hours had strains *L. casei 139, L casei 173a, L. brevis B-3, P. shermanii-15,* and at the same time *CLB-22, L. longus 10N* did not have it.

Sensibility of strains to used in veterinary medicine medicaments was tested. Studied strains appeared to be sensitive to streptomycin, tetrachlorid, sulphodimetoxin, tetracycline, gentamycin, kanamycin, oleandomycin, ampicillin. They are resistant to chloramphenicol, ristomycin, benzilpenicillin, levorine, chloretracycline, biseptol, ACD, phytolysine. They are weak sensitive to furasolydine, linkomycin, monomycin, fusgidine, erythromycin, polymyxins Taking into account resistance of bacteria strains to a number of medicines, they can be purposely used for normal microfloraof gastric-intestinal tract restoration while antobiotico- and chemical therapy.

Primary identification of antibiotic substances of lactobacilli strains *L. casei 139, 173a, L. brevis B-3* and also *Bifidobacterium bifidum* was carried out. It was discovered, that antibiotic substances are contained mainly in biomass and in less rate in cultural liquid. Values of *Rf* of investigated antibiotic substances were determined: *L. casei 139* - 0.18, *L. casei 173a* - 0.47, *L. brevis B-3* - 0.20, *B. bifidum* - 0.06, Absorption spectrums of components from biomass are characterized with absorption maximum at 276-293 nm (in ethanol). According to quality reactions data extracted antibiotics may be associated with substances with small amount of molecules of protein type. Studied antibiotic substances are characterized with wide range of antimicrobial activity. They oppress growth of gram-negative bacteria (especially intestinal group representatives): *E. coli* (79/1, 0/78, 76/1, 47, 38); *S. typhimurium, suis, dublin, Proteus mirabilis, vulgaris; Yersinia enterocolitica; Enterobacter agglomerance; Pseudomonas aeruginosa; Hafnia sp.; Citrobacter sp.; Serratia marcescens* and also *Klebsiella pneumoniae 444; Vibrio coleneae;* gram-positive bacteria: *Staphylococcus aureus; Staphylococcus aureus 209p; Bacillus subtilis A TCC 6633; Bacillus*

mycoides R-537; Micrococcus luteus A TCC 9341; Micrococcus sp.; acid-resistant bacteria: *Mycobacterium rubrum;* yeasts-similar fungi: *Candida utilis, Candida albicans; Aspergillus niger.* Among all taken for researches test-microorganisms antibiotics appeared to be not active only in relation to *Saccharomyces cerevisiae.*

Basing on biological properties of bacteria, extracted from gastric-intestinal tract of animals and birds one may recommend to include to probiotic's composition the following bacteria: *L. casei 139, L. casei 173a, L. brevis B-3, P. shermanii-15* for preventing and treatment of salmonellosis, colibacteriosis and other accompanying infections, where *P. shermanii-15* is a producer of vitamines B_3, B_6, B_8, B_{12}; *L. casei 139* - a producer of irreplaceable amino-acids histidine, isoleucine, leucine, lysine, threonine, valine, vitamins B_l, B_{12}, folic acid, and antagonist to *S. typhimurium, S. dublin, S. suis, E. coli; L. casei* is a producer of vitamines B_5, C, arginine and proteolythical enzymes, and antagonism to *S. typhimurium, S. dublin, Sh. flexneri, K. pneumoniae; L. brevis B-3* is included to the preparation composition as vitamine B8 producer and antagonist to *E. coli, Citrobacter cloaceae, Proteus inconstans,* some varieties of *S. typhimurium, S. dublin.*

It is found out that cultures *L. casei 139, L. casei 173a, L. brevis B-3, P. shermanii-15* do not have inhibition activity in relation to each other and may be cultivated all together in corn-sugar medium, where as carbon source molasses is used; and in milk whey with molasses and yeasts autolysate adding.

Table - Antagonistic activity of bacteria monocultures and consortium were checked

Strains	Zones of test-cultures growth inhibition, mm	
	Salmonella dublin	*Escherichia coli*
L. casei 139	21	19
L. casei 173a	20	20
L. brevis Б-3	18	19
P. shermanii -15	12	0
139+173a+Б-3+PAB -15	22	19

Basing on the data of the Table one can say that studied monocultures and the composition of the four cultures are active in relation to pathogen *Escherichia* and *Salmonella*. They may be may be recommend to include to probiotics composition the following bacteria: *Lactobacillus casei 139, Lactobacillus casei 173a, Lactobacillus brevis B-3, Propionibactereium shermanii-15* for preventing and treatment of salmonellosis, colibacteriosis and other accompanying infections.

Reference:

1. Shevchenko YU.L. Role of modern factors in interaction of the person and microorganisms, value of national health care in prevention and treatment of infectious diseases//Microbiology. – 2002 . – No. 6. – P. 2-5.

2. Bondarenko V. M., Grachev N. M. Probiotics preparations, prebiotics and синбиотики in therapy and prevention of intestinal dysbacterioses//Farmateka. - 2003. – N. 7. – P. 56-63.

3. Bondarenko V. M., Chuprinina R.P., Vorobyov M. A. Mechanism of action of pro-biotic preparations//Biological products. – 2003. – N. 3. – P. 2-5.

4. Bondarenko V. M., Grachev N. M., Matsulevich T.V. A.A.Mikroekologicheskiye's sparrows changes of intestines and their correction with treatment-and-prophylactic preparations//Zhurn. Gastroeterologiya hepatology a koloproktologiya – 2003. – N. 4 (appendix N. 20). - P. 66-76.

5. Collins M.D., Gibson G.R. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut//Am. J. Clin. Nutr. 1999. - V. 69, No. 5. - P. 1052-1057.

6. Holzapfel W.H. Haberer P. Geisen R. et al. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition//Am. J. Clin. Nutr. - 2001. - V. 73. - P. 365-373.

И.А. РАТНИКОВА[1], Н.Н. ГАВРИЛОВА[1], К. БАЯКЫШОВА[1], З.Ж. ТУРЛЫБАЕВА[1], С.В. ЫБЫШЕВА[1], О.Г. ЧУГАЙ[2]

ОТБОР АКТИВНЫХ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ И ПРОПИОНОВОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ В ОТНОШЕНИИ МОЛОЧНОКИСЛЫХ И ПРОПИОНОВОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

[1]РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы
[2]Республиканский клинический госпиталь инвалидов ВОВ

Аннотация

Выявлены сильные антагонисты с широким спектром антимикробного действия (лактобактерии и бифидобактерии). Установлено, что антагонистическая активность обусловлена комплексом антибиотических веществ. Приведены сведения о первичной идентифиации антибиотичеких веществ лакто и бифидобактерий. На основании биологических свойств бактерий, выделенных из желудочно-кишечного тракта животных и птиц возможно рекомендовать включить в состав пробиотика следующие бактерии - *L. casei 139, L. casei 173a, L. brevis B-3, P.shermanii-15* для профилактики и лечения сальмонеллезов, колибактериозов и другой сопутствующей инфекции.