

eISSN 2957-5702

ҒЫЛЫМИ ЖУРНАЛ

БИОҚАУІПСІЗДІК ЖӘНЕ БИОТЕХНОЛОГИЯ

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

**БИОБЕЗОПАСНОСТЬ
И БИОТЕХНОЛОГИЯ**



THE SCIENTIFIC JOURNAL

**BIOSAFETY AND
BIOTECHNOLOGY**

www.biosafety.kz

2024 · 20
23.12.2024





ҚЫДЫРБАЕВ ЖАЙЛАУБАЙ ҚЫДЫРБАЙҰЛЫ 1947-2024ж.

2024 жылғы 27 сәуірде 77 қараған шағында көрнекті ғалым, профессор Қыдырбаев Жайлаубай Қыдырбайұлы қайтыс болды.

Ж.Қ. Қыдырбаев биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институтында 1996 жылдан бастап 30 жылға жуық жұмыс істеді, оның ішінде 15 жылдан астам Индеттік аурулардың алдын алу зертханасын басқарды, 200-ден астам ғылыми еңбектердің авторы, оның ішінде 36-сы жоғары рейтингті халықаралық журналдарда жарияланған, 37 өнертабыстың және 24 нормативтік вакцина құжаттарының тең авторы.

Ел Үкіметі Жайлаубай Қыдырбайұлының сіңірген еңбегін жоғары бағалап, оны 2019 жылы «Құрмет» орденімен, ҚР БҒМ «Қазақстан Республикасының ғылымын дамытудағы сіңірген еңбегі үшін» төсбелгісімен, «Еңбек ардагері» медалімен (2016) марапаттап, ҚР БҒМ Ғылым мен техниканың дамуына зор үлес қосқан ғалымдар мен мамандарға арналған мемлекеттік ғылыми стипендия тағайындады (2013-2014), «Ғылым көшбасшысы» тәуелсіз сыйлығының лауреаты атанды (Thomson Reuters).

Соңғы күнге дейін Ж.Қ. Қыдырбаев барлық физикалық және жан-тәнімен күш-жігерін аянбай жұмсай отырып, ғылымға ең адал және жанқиярлық қызметтің, ең жоғары жұмыс қабілеттілігі мен жауапкершіліктің, мақсаттылықтың, сезімталдық пен жанкештіліктің, кез келген өмірлік жағдайға бей-жай қарамаудың үлгісі бола отырып, жұмысты бір мезгілде қалдырмады. Оның БҚПҒЗИ дамуына, ғылыми кадрларды тәрбиелеуге қосқан үлесін асыра бағалау қиын.

Парасатты ғалым Жайлаубай Қыдырбайұлының бейнесі әріптестерінің жүрегінде мәңгі сақталады, иманды болсын! Марқұмның жатқан жері жарық, топырағы торқа болып, нұры пейіште шалқығай.

Отбасы мен жақындарына қайғырып көңіл айтамыз!

27 апреля 2024 года на 77-м году ушел из жизни выдающийся ученый, профессор Жайлаубай Кыдырбаевич.

Жайлаубай Кыдырбаевич Кыдырбаев проработал в Научно-исследовательском институте проблем биологической безопасности почти 30 лет, из них более 15 лет заведовал лабораторией профилактики инфекционных болезней. Кыдырбаев Ж.К. является автором более 200 научных трудов, в том числе 36 из них опубликованы в высокорейтинговых международных журналах, соавтор 37 изобретений и 24 нормативных документов вакцин.

Правительство высоко оценило заслуги Жайлаубая Кыдырбаевича, наградив его орденом «Құрмет» в 2019 г., нагрудным знаком МОН РК «За заслуги в развитии науки Республики Казахстан», медалью «Еңбек ардагері» (2016), был стипендиатом Государственной научной стипендии для ученых и специалистов, внесших выдающийся вклад в развитие науки и техники МОН РК (2013-2014), лауреат независимой премии «Лидер науки» (Thomson Reuters).

До последнего дня Кыдырбаев Ж.К. не оставлял работу, вкладывая в нее все физические и душевные силы, являя собой пример самого преданного и самоотверженного служения науке, высочайшей работоспособности и ответственности, целеустремленности, чуткости и бескорыстия, равнодушного отношения к любой жизненной ситуации. Его вклад в развитие НИИПББ, в воспитание научных кадров трудно переоценить.

Жайлаубай Кыдырбаевич Кыдырбаев навсегда останется в нашей памяти как выдающийся ученый, исследователь и прекрасный, отзывчивый человек и интереснейший собеседник.

Выражаем глубокие соболезнования родным и близким!



ЗАЙЦЕВ ВАЛЕНТИН ЛУКЪЯНОВИЧ 1935-2024ж.

2024 жылы 1 қазанда, 89 жасында биология ғылымдарының кандидаты, профессор, беделді ғалым, Валентин Лукьянович Зайцев дүниеден өтті.

В.Л. Зайцев 1964 жылдан бастап Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институтында жұмыс істеп, бар өмірін ғылымға арнады. Сонымен қатар, КСРО журналдарында, шетелдік журналдарда және еліміздің журналдарында жарияланған 200-ден астам ғылыми жұмыстардың авторы және 20-дан астам өнертабыстарға авторлық құқық куәліктерінің және 4 монографияның авторы болды. Оның жетекшілігімен көптеген аспиранттар оқып, олардың 10-нан астамы кандидаттық диссертация қорғап, биология ғылымдарының кандидаты ғылыми дәрежесін алды.

Ғылыми қызметтегі өнімділігі және ғылыми кадрларды дайындаудағы табысы үшін В.Л. Зайцев КСРО үкіметінің – «Ерен еңбегі үшін» және «Еңбек ардагері» медальдарымен және Қазақстан Республикасының «Қазақстан Республикасының ғылымын дамытуға сіңірген еңбегі үшін», «Қазақстан Республикасының білім беру ісінің үздігі» төсбелгілерімен, сондай-ақ Құрмет грамоталарымен марапатталған.

Валентин Лукьянович Зайцев қызметінің соңғы күніне дейін бар күш-жігерін Институт пен Қазақстан ғылымының дамуына жұмсады. Ерекше ойлаудың, еңбекқорлықтың, тәртіптің үлгісі және табандылықтың, даналық пен адалдықтың символы болды. Біздің көпшілігіміз, оның ішінде жаңадан бастағандар мен тәжірибелі мамандар Валентин Лукьяновичтен ғылым негіздерін үйреніп, ұсыныстар мен қолдау табу үшін оның даналығына жиі жүгіндік, шыдамдылығы мен жауаптылығы шексіз, бәрін тыңдауға, құнды кеңес беруге, көмекке келуге әрқашан уақыт табатын, өтініштерді ешқашан қабылдаусыз қалдырмайтын адам еді.

Әрқайсымыздың өмірімізде із қалдырған адам. Валентин Лукьянович өмірден озды, бірақ ол туралы жарық елес мәңгі есте қалады.

Отбасы мен жақындарына қайғырып көңіл айтамыз!

1 октября 2024 года на 89-м году ушел из жизни кандидат биологических наук, профессор, выдающийся ученый, Зайцев Валентин Лукьянович.

Зайцев В.Л. с 1964 года работал в Научно-исследовательском институте проблем биологической безопасности и посвятил свою жизнь науке. Зайцев В.Л. также являлся автором более 200 научных работ, которые опубликованы в журналах СССР, зарубежных журналах, журналах нашей страны и соавтором более 20 авторских свидетельств на изобретения, автором 4 монографий. Под его руководством обучались аспиранты, более 10 из которых защитили диссертации с присвоением ученой степени кандидата биологических наук.

За результативность в научной деятельности и успехи в подготовке научных кадров Зайцев В.Л. отмечен правительственными наградами СССР – медалями «За трудовое отличие» и «Ветеран труда» и Республики Казахстан – нагрудными знаками «За заслуги в развитии науки Республики Казахстан», «Почётный работник образования Республики Казахстан», а также почётными грамотами.

До последнего дня своей деятельности Валентин Лукьянович Зайцев вкладывал всего себя для блага и развития Института и науки Казахстана. Он был примером неординарного мышления, трудолюбия, дисциплинированности и символом упорства, мудрости и честности. Многие из нас, включая начинающих и опытных специалистов, постигали у него основы науки, часто обращались к его мудрости за рекомендациями и поддержкой. Его терпение и отзывчивость были безграничны, он всегда находил время выслушать всех, дать ценный совет, прийти на помощь, ни разу не отвергая просьбу.

Валентин Лукьянович оставил след в жизни каждого из нас. Его не стало, но память о нем останется навсегда.

Выражаем глубокие соболезнования родным и близким!



«Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының
ғылыми-зерттеу институты»

Жауапкершілігі шектеулі серіктестігі

Товарищество с ограниченной ответственностью
«Научно-исследовательский институт проблем
биологической безопасности»

Limited Liability Partnership

«Research Institute for Biological Safety Problems»

Ғылыми журнал
**БИОҚАУІПСІЗДІК ЖӘНЕ
БИОТЕХНОЛОГИЯ**

Научный журнал
**БИОБЕЗОПАСНОСТЬ И
БИОТЕХНОЛОГИЯ**

The scientific journal
BIOSAFETY AND BIOTECHNOLOGY

2020 ЖЫЛДАН ШЫҒА БАСТАҒАН
ИЗДАЕТСЯ С 2020 ГОДА
PUBLISHED SINCE 2020

Бас редакторы

Закарья К.Д., б.ғ.д., профессор, Ресей жаратылыстану ғылымдары академиясының академигі, *h-index: WoS – 8, Scopus – 9*, Қазақстан Республикасы Президентінің ғылым және инновациялар мәселелері жөніндегі кеңесшісі (Қазақстан)

Бас редакторының орынбасары

Абдураимов Е.О., в.ғ.д., профессор, *h-index: WoS – 4, Scopus – 6*, «QazBioPharm» ұлттық холдингі» АҚ (Қазақстан)

Редакция алқасы:

Биологиялық қауіпсіздік және биологиялық қорғау

Faez Awad, PhD (Ветеринария), *h-index: WoS – 8, Scopus – 8*, Эпидемиология және халық денсаулығы бөлімі (Ливия)

Орынбаев М.Б., академик, в.ғ.к., профессор, ҚР ҰҒА корр.-мүшесі *h-index: WoS – 13, Scopus – 13*, Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ҒЗИ (Қазақстан)

Айтназаров Р.Б., PhD (Биология), *h-index: WoS – 3, Scopus – 4*, Ресей ғылым академиясының Сібір бөлімшесі, Цитология және генетика институты (Ресей)

Сұлтанқұлова К.Т., б.ғ.к., профессор, *h-index: WoS – 9, Scopus – 12*, Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ҒЗИ (Қазақстан)

Кутумбетов Л.Б., в.ғ.д., профессор, *h-index: WoS – 8, Scopus – 9*, Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ҒЗИ (Қазақстан)

Микробиология

Еспембетов Б.А., PhD (Ветеринария), профессор, *h-index: WoS – 7, Scopus – 8*, Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ҒЗИ (Қазақстан)

Жүгүнісов Қ.Д., PhD (Биотехнология), *h-index: WoS – 6, Scopus – 7*, Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ҒЗИ (Қазақстан)

Нұрғазиев Р.З., в.ғ.д., профессор, *h-index: Scopus – 4*, К.И.Скрябин атындағы Қырғыз ұлттық аграрлық университеті (Қырғызстан)

Бұлатов Е.А., б.ғ.к., профессор, *h-index: WoS – 5, Scopus – 5*, Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ҒЗИ (Қазақстан)

Медициналық және ветеринариялық биотехнология

Risatti G., PhD (Ветеринария), профессор, *h-index: WoS – 27, Scopus – 31*, Коннектикут университеті (АҚШ)

Қошембетов Ж.Қ., б.ғ.д., профессор, *h-index: WoS – 2, Scopus – 4*, Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ҒЗИ (Қазақстан)

Gorge O., PhD (Медицина), *h-index: WoS – 10, Scopus – 11*, Қарулы Күштердің биомедициналық ғылыми-зерттеу институты (Франция)

Айқымбаев А.М., м.ғ.д., профессор, *h-index: WoS – 6, Scopus – 8*, М. Айқымбаев атындағы аса қауіпті инфекциялар Ұлттық ғылыми орталығы (Қазақстан)

Червякова О.В., б.ғ.к., профессор, *h-index: WoS – 7, Scopus – 7*, Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ҒЗИ (Қазақстан)

Стукова М.А., PhD (Медицина), *h-index: WoS – 14, Scopus – 14*, А.А.Сморodinцев атындағы тұмау ғылыми-зерттеу институты (Ресей)

Наханов А.Қ., б.ғ.к., *h-index: WoS – 5, Scopus – 5*, Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ҒЗИ (Қазақстан)

Фитопатология және өсімдіктер биотехнологиясы

Рсалиев А.С., PhD (Ауыл шаруашылығы), профессор, *h-index: WoS – 8, Scopus – 10*, «QazBioPharm» ұлттық холдингі» АҚ (Қазақстан)

Гультяева Е.И., б.ғ.д., доцент, *h-index: WoS – 11, Scopus – 13*, Бүкілресейлік өсімдіктерді қорғау ғылыми-зерттеу институты (Ресей)

Корректор: **Әмірханова Н.Т.**, PhD (Биология), Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ҒЗИ (Қазақстан)

Ғылыми журнал «Биоқауіпсіздік және Биотехнология»
eISSN 2957-5702

Құрылтайшы: «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС

Қазақстан Республикасының Ақпарат және қоғамдық даму министрлігінің Ақпарат комитетінде 20.11.2019 ж. №КЗ33V00017380 куәлікпен тіркелген

Мерзімділігі: жылына 4 рет.

Редакцияның мекен-жайы 080409, Жамбыл облысы, Қордай ауданы, Гвардейский қтк., Б. Момышұлы к-сі, 15. тел. (726-36) 7-22-28 www: biosafety.kz, E-mail: unots@biosafety.kz

Главный редактор

Закарья К.Д., д.б.н., профессор, академик Российской академии естественных наук, *h-index: WoS – 8, Scopus – 9*, Советник Президента Республики Казахстан по вопросам науки и инноваций (Казахстан)

Заместитель главного редактора

Абдураимов Е.О., д.в.н., профессор, *h-index: WoS – 4, Scopus – 6*, АО «Национальный холдинг «QazBioPharm» (Казахстан)

Редакционная коллегия:

Биологическая безопасность и биозащита

Faez Awad, PhD (Ветеринария), *h-index: WoS – 8, Scopus – 8*, Кафедра эпидемиологии и здоровья населения (Ливия)

Орынбаев М.Б., академик, к.в.н., профессор, член-корр. НАН РК, *h-index: WoS – 13, Scopus – 13*, НИИ проблем биологической безопасности (Казахстан)

Айтназаров Р.Б., PhD (Биология), *h-index: WoS – 3, Scopus – 4*, Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН (Россия)

Султанкулова К.Т., к.б.н., профессор, *h-index: WoS – 9, Scopus – 12*, НИИ проблем биологической безопасности (Казахстан)

Кутумбетов Л.Б., д.в.н. профессор, *h-index: WoS – 8, Scopus – 9*, НИИ проблем биологической безопасности (Казахстан)

Микробиология

Еспембетов Б.А., PhD (Ветеринария), профессор, *h-index: WoS – 7, Scopus – 8*, НИИ проблем биологической безопасности (Казахстан)

Жугунисов К.Д., PhD (Биотехнология), *h-index: WoS – 6, Scopus – 7*, НИИ проблем биологической безопасности (Казахстан)

Нургазиев Р.З., д.в.н., профессор, *h-index: Scopus – 4*, Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И. Скрыбина (Кыргызстан)

Булатов Е.А., к.б.н., профессор, *h-index: WoS – 5, Scopus – 5*, НИИ проблем биологической безопасности (Казахстан)

Медицинская и ветеринарная биотехнология

Risatti G., PhD (Ветеринария), профессор, *h-index: WoS – 27, Scopus – 31*, Коннектикутский университет (США)

Кошеметов Ж.К., д.б.н., профессор, *h-index: WoS – 2, Scopus – 4*, НИИ проблем биологической безопасности (Казахстан)

Gorge O., PhD (Медицинская наука), *h-index: WoS – 10, Scopus – 11*, Биомедицинский научно-исследовательский институт вооруженных сил (Франция)

Айкимбаев А.М., д.м.н., профессор, *h-index: WoS – 6, Scopus – 8*, Национальный научный центр особо опасных инфекций имени М. Айкимбаева (Казахстан)

Червякова О.В., к.б.н., профессор, *h-index: WoS – 7, Scopus – 7*, НИИ проблем биологической безопасности (Казахстан)

Стукова М.А., PhD (Медицинская наука), *h-index: WoS – 14, Scopus – 14*, НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева (Россия)

Наханов А.К., к.б.н. *h-index: WoS – 5, Scopus – 5*, НИИ проблем биологической безопасности (Казахстан)

Фитопатология и биотехнология растений

Рсалиев А.С., PhD (Сельскохозяйственные науки), профессор, *h-index: WoS – 8, Scopus – 10*, АО «Национальный холдинг «QazBioPharm» (Казахстан)

Гультяева Е.И., д.б.н., доцент, *h-index: WoS – 11, Scopus – 13*, Всероссийский НИИ защиты растений (Россия)

Корректор: **Амирханова Н.Т.**, PhD (Биология), НИИ проблем биологической безопасности (Казахстан)

Научный журнал «Биобезопасность и Биотехнология»
eISSN 2957-5702

Учредитель: ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности»

Зарегистрирован в Комитете информации Министерства информации и общественного развития Республики Казахстан свидетельством №KZ33V00017380 от 20.11.2019 г.

Периодичность: 4 раза в год.

Адрес редакции 080409, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский,

Ул. Б. Момышулы, 15. тел. (726-36) 7-22-28

www: biosafety.kz, E-mail: unots@biosafety.kz

© Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, 2024

Editor-in-chief

Zakarya K.D., D.B.Sci., Professor, Academician of the Russian Academy of Natural Sciences, *h-index: WoS – 8, Scopus – 9*, Advisor to the President of the Republic of Kazakhstan on Science and Innovation (Kazakhstan)

Deputy Chief Editor

Abduraimov Ye.O., D.V.Sci., Professor, *h-index: WoS – 4, Scopus – 6*, JSC «National Holding «QazBioPharm» (Kazakhstan)

Editorial board:

Biological safety and biosecurity

Faez Awad, PhD (Veterinary Science), *h-index: WoS – 8, Scopus – 8*, Department of Epidemiology and Population Health (Libya)

Orynbayev M.B., academician, PhD (Veterinary Science), Professor, Corr.-member of the NAS RK., *h-index: WoS – 13, Scopus – 13*, Research Institute for Biological Safety Problems (Kazakhstan)

Aitnazarov R.B., PhD (Biological Science), *h-index: WoS – 3, Scopus – 4*, Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Russia)

Sultankulova K.T., PhD (Biological Science), Professor, *h-index: WoS – 9, Scopus – 12*, Research Institute for Biological Safety Problems (Kazakhstan)

Kutumbetov L.B., D.V.Sci., Professor, *h-index: WoS – 8, Scopus – 9*, Research Institute for Biological Safety Problems (Kazakhstan)

Microbiology

Yespembetov B.A., PhD (Veterinary Science), Professor, *h-index: WoS – 7, Scopus – 8*, Research Institute for Biological Safety Problems (Kazakhstan)

Zhugunissof K.D., PhD (Biotechnology), *h-index: WoS – 6, Scopus – 7*, Research Institute for Biological Safety Problems (Kazakhstan)

Nurgaziev R.Z., D.V.Sci., Professor, *h-index: Scopus – 4*, Kyrgyz National Agrarian University named after K.I. Scriabin (Kyrgyzstan)

Bulatov Y. A., PhD (Biological Science), Professor, *h-index: WoS – 5, Scopus – 5*, Research Institute for Biological Safety Problems (Kazakhstan)

Medical and veterinary biotechnology

Risatti G., PhD (Veterinary Science), Professor, *h-index: WoS – 27, Scopus – 31*, University of Connecticut (USA)

Koshemetov Zh.K., D.B.Sci., Professor, *h-index: WoS – 2, Scopus – 4*, Research Institute for Biological Safety Problems (Kazakhstan)

Gorge O., PhD (Medical Science), *h-index: WoS – 10, Scopus – 11*, Armed Forces Biomedical Research Institute (France)

Aikimbayev A.M., D.M.Sci., Professor, *h-index: WoS – 6, Scopus – 8*, National Scientific Center of Especially Dangerous Infections named after M.Aikimbayev (Kazakhstan)

Chervyakova O.V., PhD (Biological Science), Professor, *h-index: WoS – 7, Scopus – 7*, Research Institute for Biological Safety Problems (Kazakhstan)

Stukova M.A., PhD (Medical Science), *h-index: WoS – 14, Scopus – 14*, Research Institute of Influenza named after A.A. Smorodintsev (Russia)

Nakhanov A.K., PhD (Biological Science), *h-index: WoS – 5, Scopus – 5*, Research Institute for Biological Safety Problems (Kazakhstan)

Phytopathology and plant biotechnology

Rsaliev A.S., PhD (Agricultural Science), Professor, *h-index: WoS – 8, Scopus – 10*, JSC «National Holding «QazBioPharm», (Kazakhstan)

Gulyaeva E.I., D.B.Sci., Professor, *h-index: WoS – 11, Scopus – 13*, All Russian Institute of Plant Protection (Russia)

Proofreader: **Amirkhanova N.T.**, PhD (Biological Science), Research Institute for Biological Safety Problems (Kazakhstan)

Scientific journal «Biosafety and Biotechnology»
eISSN 2957-5702

Founder: LLP «Research Institute for Biological Safety Problems» Registered with the Information Committee of the Ministry of Information and Public Development of the RK with the Certificate №KZ33V00017380 dated 20.11.2019

Frequency: 4 times a year.

Address of the editorial office 080409, Zhambyl region, Kordai district, Gvardeysky.

15 B. Momysuly str., Tel. (726-36) 7-22-28

www: biosafety.kz, E-mail: unots@biosafety.kz

© Research institute of biosafety problems, 2024

МАЗМҰНЫ

Крутская Е.Д., Нұрғазиев Р.З. БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМДЫҢ ПЕРСПЕКТИВАЛЫҚ БАҒЫТТАРЫНДАҒЫ ЫНТЫМАҚТАСТЫҚТЫ ДАМУ	8
Ауганов А.Н., Тынысбеков Б.К., Ахметоллаев И.А. PASTEURELLA MULTOCIDA А СЕРОГРУППАСЫН АНЫҚТАУДА АМИНҚЫШҚЫЛДЫҚ АЛМАСУЛАРДЫҢ РӨЛІ	14
Сырым Н., Еспембетов Б.А., Анарбекова А.М., Зинина Н.Н., Алпысбаева С.Е., Сармыкова М.К., Серикбай Е.Б., Абдимухтар А.Р., Төлеухан А.Т., Мауленбаева М., Ержігіт Б.Б., Абдықалық А.Ә., Мәуленбай А.Д. ESKARE ПАТОГЕНДЕРІНЕ ҚАРСЫ БАКТЕРИОФАГТАРДЫҢ БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІН ЗЕРТТЕУ	29
Джекебеков К.К., Шораева К.А., Бурабаев Б.К., Молдагулова С.У., Таболдиев Д.Р. БҚПҒЗИ ПАТОГЕНДІ МИКРООРГАНИЗМДЕРМЕН ЖҰМЫС ІСТЕУ КЕЗІНДЕГІ БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАУІПСІЗДІК ЖӘНЕ БИОҚОРҒАНЫС	39
Наханов А.К., Терейбай А.А., Мараховская Л.Г., Коканов С.К., Сейдахметова Б.А. ЖАСУША ӨСІНДІЛЕРІНІҢ МИКОПЛАЗМАЛЫҚ ЛАСТАНУЫН АНЫҚТАУ ӘДІСТЕРІН ЖӘНЕ МИКОПЛАЗМАҒА ҚАРСЫ ПРЕПАРАТТАРДЫҢ ТИІМДІЛІГІН БАҒАЛАУ	45
Азембаев А.А., Әуелбек Ж. КӘДІМГІ БАҚ ХРИЗАНТЕМАСЫ (CHRYSANTHEMUM MORIFOLIUM VOL.) ӨСІМДІК ШИКІЗАТЫНАН ПЕРКОЛЯЦИЯ ӘДІСІ АРҚЫЛЫ ЭКСТРАКТ АЛУ ЖӘНЕ ФИТОХИМИЯЛЫҚ ҚҰРАМЫН АНЫҚТАУ	57
АВТОРЛАР ТУРАЛЫ МӘЛІМЕТ	67
ЖУРНАЛДА ЖАРИЯЛАУ ҮШІН МАҚАЛАЛАРҒА ҚОЙЫЛАТЫН ТАЛАПТАР	69

СОДЕРЖАНИЕ

Крутская Е.Д., Нургазиев Р.З. РАЗВИТИЕ СОТРУДНИЧЕСТВА В ПЕРСПЕКТИВНЫХ НАПРАВЛЕНИЯХ ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ	8
Ауганов А.Н., Тынысбеков Б.К., Ахметоллаев И.А. ВАЖНОСТЬ ИДЕНТИФИКАЦИИ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ PASTEURELLA MULTOCIDA К СЕРОГРУППЕ А	14
Сырым Н., Еспембетов Б.А., Анарбекова А.М., Зинина Н.Н., Алпысбаева С.Е., Сармыкова М.К., Серикбай Е.Б., Абдимухтар А.Р., Толеухан А.Т., Мауленбаева М., Ержігіт Б.Б., Абдықалық А.Ә., Мауленбай А.Д. ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИОФАГОВ ПРОТИВ ESKAPE – ПАТОГЕНОВ	29
Джекебеков К.К., Шораева К.А., Бурабаев Б.К., Молдагулова С.У., Таболдиев Д.Р. БИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ И БИОЗАЩИТА ПРИ РАБОТЕ С ПАТОГЕННЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ В НИИПББ	39
Наханов А.К., Терейбай А.А., Мараховская Л.Г., Коканов С.К., Сейдахметова Б.А. ОЦЕНКА МЕТОДОВ ДЕТЕКЦИИ МИКОПЛАЗМЕННОЙ КОНТАМИНАЦИИ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР И ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВОМИКОПЛАЗМЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ	45
Азембаев А.А., Ауелбек Ж. ПОЛУЧЕНИЕ ЭКСТРАКТА МЕТОДОМ ПЕРКОЛЯЦИИ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ХРИЗАНТЕМЫ САДОВОЙ ОБЫКНОВЕННОЙ (CHRYSANTHEMUM MORIFOLIUM VOL.) И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФИТОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА	57
ДАННЫЕ ОБ АВТОРАХ	67
ТРЕБОВАНИЯ К НАУЧНЫМ СТАТЬЯМ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В ЖУРНАЛЕ	69

CONTENTS

Krutskaya E.D., Nurgaziev R.Z. DEVELOPMENT OF COOPERATION IN PROMISING AREAS OF EDUCATION AND SCIENCE	8
Auganov A.N., Tynysbekov B.K., Akhmetollaev I.A. THE IMPORTANCE OF IDENTIFYING AMINO ACID SUBSTITUTIONS FOR THE DETECTION OF PASTEURELLA MULTOCIDA BELONGING TO SEROGROUP A	14
Syrym N., Espembetov B.A., Anarbekova A.M., Zinina N.N., Alpysbayeva S.E., Sarmykova M.K., Serikbay E.B., Abdimukhtar A.R., Toleukhan A.T., Maulenbaeva M., Erzhigit B.B., Abdykalyk A.A., Maulenbay A.D. STUDYING THE BIOLOGICAL PROPERTIES OF BACTERIOPHAGES AGAINST ESCAPE PATHOGENS	29
Jekebekov K.K., Shorayeva K.A., Burabayev B.K., Moldagulova S.U., Taboldiev D.R. ENSURING BIOLOGICAL SAFETY AND BIOSECURITY IN HANDLING PATHOGENIC MICROORGANISMS AT THE RESEARCH INSTITUTE OF BIOSAFETY AND BIOSECURITY	39
Nakhanov A.K., Terebay A.A. , Marakhovskaya L.G., Kokanov S.K., Seydakhmetova B.A. EVALUATION OF METHODS FOR THE DETECTION OF MYCOPLASMA CONTAMINATION OF CELL CULTURES AND THE EFFECTIVENESS OF ANTIMYCOPLASMA PREPARATIONS	45
Azembraev A.A., Auelbek Zh. OBTAINING AN EXTRACT BY PERCOLATION FROM PLANT RAW MATERIALS OF THE COMMON CHRYSANTHEMUM (CHRYSANTHEMUM MORIFOLIUM BOL.) AND DETERMINING THE PHYTOCHEMICAL COMPOSITION	57
AUTHORS' INFORMATION	67
AUTHOR INSTRUCTIONS TO THE JOURNAL	69

РАЗВИТИЕ СОТРУДНИЧЕСТВА В ПЕРСПЕКТИВНЫХ НАПРАВЛЕНИЯХ ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ

Е.Д. Крутская*^{id}, Р.З. Нургазиев^{id}

Кыргызский национальный аграрный университет им К.И.Скрябина, Бишкек,
Кыргызстан
*krutskaya00@mail.ru

Аннотация. Для развития АПК Кыргызстана и реализации всех его задач необходимо повышение качества профессионального образования, подготовка специалистов, отвечающих международным стандартам и востребованных на рынке труда, следовательно, должно быть приобщение студентов и аспирантов к научной работе. Именно научная деятельность и достижения в этой области определяют качество подготовки бакалавра или магистра, позволяют выявить ярких и талантливых студентов и молодых ученых. Никакая инновационная педагогическая технология не будет достаточно эффективной без связи образования, науки, бизнеса и производства. Данная цепочка не должна прерываться.

Ключевые слова: образование; наука; повышение; квалификация; цифровизация; сотрудничество; инновационные технологии.

Введение

Наука мощнейший двигатель прогресса во всех сферах жизнедеятельности человека. Миссия науки – превращение денег в знания, а миссия бизнеса – внедрение результатов науки в производство и превращение знаний в деньги. Сердцевина этой формулы – знания. Конечная цель науки это обновление и улучшение всех сфер жизнедеятельности человека [1,2,3].

Бурное развитие научных парков в Европе началось уже в 1980-е годы. С развитием таких технологических парков на сегодняшний день уровень производства и индекс человеческого развития (ИЧР) в данных странах показывают самые высокие уровни. Индекс человеческого развития это показатель сравнения и измерения уровня жизни, грамотности, образованности и долголетия как основных характеристик человеческого потенциала исследуемой территории. Кыргызстан по этим показателям находится на 122 месте.

Занимаемое место	Страны	Показатель ИЧР
1 Очень высокий	Норвегия	0.954
2	Швейцария	0.946
3	Ирландия	0.942
4	Германия	0.939
15	США	0.920
49	Россия	0.824
50	Казахстан	0.817
59	Турция	0.806
65 Высокий	Иран	0.797
85	Китай	0.758
108	Узбекистан	0.710
122 Средний	Кыргызстан	0.674
125	Таджикистан	0.656

Общемировые тенденции развития вузов и науки динамично меняются и в настоящий момент все больше мировых университетов стремятся к переходу в модель 4.0, т.е. интеграция образование + наука + инновация = развитие экономики. что подразумевает современную форму интеграции образования и науки. И как показывает практика именно эти университеты пользуются наибольшей поддержкой для проведения научной и образовательной деятельности [4].

Если характеризовать университеты мирового класса, то они включают в себя следующие составляющие:

- концентрация талантов - студентов, ППС, международное сотрудничество;
- изобилие ресурсов – привлечение государственного, частного финансирования, гранты и т.д.
- эффективное управление – благоприятная нормативно-правовая платформа, академическая свобода и автономия.

Из этого делаем вывод, что утверждая рост ценности прикладного знания, современные западные страны не стремятся сокращать финансирование фундаментальной науки. Этим они показывают, что фундаментальное знание само по себе является ценностью, и если страна не имеет сильной науки, она не в состоянии создавать технологические инновации.

С получением независимости система образования и науки в Кыргызстане прошла различные преобразования, такие как сама структура, форма образования, механизмы обеспечения качества образования и науки, активно внедряются цифровые технологии [5]. Сама концепция развития вузовской науки направлена на усиление совместной деятельности вузов, МОиН КР, профильных министерств и агентств КР с достаточным финансированием из госбюджета, грантов, международных доноров. Конечный результат - научные кадры и компетентные специалисты для профильных отраслей, а также разработанные инновационные технологии, обеспечивающие социально-экономическое благополучие страны.

В целях реализации концепции развития вузовской науки и исходя из миссии университета: “Подготовка высококвалифицированных специалистов, способных решать задачи продовольственной и биологической безопасности” в КНАУ создаются все условия для студентов, чтобы они успешно вовлекались в образовательный процесс, в научно-исследовательско-творческую деятельность. Для этого университет успешно прошел международную институциональную аккредитацию [6,7].

Жизненный потенциал, здоровье и будущее народов всё более зависят от глобальных перемен, диктуемых распространением новых технологий, роботизацией, экологическим кризисом и разрушением биосферы, а также глобализацией рынков продовольствия и новыми формами контроля доступа к здоровому и качественному питанию.

По данным ООН рост численности мирового населения: к 2030 году будет населять планету 8,6 млрд человек, к 2050-му году 10 млрд., повышение среднего уровня благосостояния, рост ВВП на душу населения - в среднем на 40-50% к 2030-2035 годам, а к 2050 году спрос на продукты питания на 60-70% по отношению к 2000 году. Вопрос чем будут питаться потомки и будет ли народ обладать суверенным правом в этой фундаментальной сфере, становится всё более острым во всем мировом сообществе и актуален не только для отраслей АПК, но и в других сферах человеческой деятельности.

В Кыргызской Республике развитие сельскохозяйственной отрасли и обеспечение продовольственной безопасности являются одними из главных целей политики государства. Вместе с тем остро стоит вопрос в кадрах по обеспечению продовольственной и биологической безопасности.

Необходимо в КР, создать научные фонды по приоритетным направлениям аграрного сектора, так как во всем мире в настоящее время наблюдается угроза продовольственной безопасности [8,9]. Обеспечение продовольственной безопасности, улучшение доступа к полноценному и разнообразному питанию являются важной целью повышения уровня и качества жизни граждан во всем мире и, конечно же, в Кыргызской Республике.

Здесь целесообразным будет остановиться на важных аспектах образовательного и научного сотрудничества: в области рыбоводства, имплементация опыта по подготовке: специалистов-ихтиопатологов, изучающих вопросы инфекционных, инвазионных, незаразных болезней и отравления рыб, которые способны будут их решить. Республика нуждается в развитии интенсивного садоводства, которая является одной из наиболее прибыльных отраслей сельского хозяйства. Увеличение валовой продукции садоводства, за счет интенсификации, расширения площадей и внедрения современных сортов яблони и технологии их выращивания. У нас наблюдается дефицит кадров в области рыбоводства, по внедрению и развитию интенсивного садоводства. В дальнейшем планируется, применяя, лучший опыт других стран, вносить вклад в решение вопросов органического земледелия и производства семян, по клонированию, внедрению современных инновационных и информационных с/х технологий.

В животноводстве необходимо воссоздание на новых принципах элементов крупномасштабной селекции в молочном скотоводстве; создание новой научно-педагогической школы в области биоинформатики и статистической генетики; внедрение в производство инструментов геномной оценки; построение единой генеалогической базы данных скота в Кыргызской Республике; повышение квалификационного уровня селекционеров; оцифровка, цифровизация и цифровая трансформация племенной работы.

В настоящее время на базе КНАУ им. К.И. Скрябина действует проект Всемирного Банка по созданию Национального центра передового опыта в области продовольственной и биологической безопасности. Цель данного проекта: подготовка высококвалифицированных специалистов и научных кадров по обеспечению продовольственной и биологической безопасности, а также оценка качества и сертификации продовольственного сырья, охраны здоровья животных и контроля болезней растений в соответствии с требованиями международных стандартов.

Кроме того в университете открыта и функционирует *in vitro* лаборатория, где с использованием технологии микрклонального размножения растений выращиваются свободные от инфекций (без вирусов) картофель и ягодные культуры. В этот процесс, процесс научной и коммерческой деятельности вовлечены студенты и магистранты под управлением старших коллег, что благотворно влияет на развитие творческих способностей будущих специалистов, естественно это ведет к повышению качества подготовки. Таких преподавателей и студентов мы относим к внутривузовской форме интеграции.

Наш университет передает ноу-хау в области органического сельского хозяйства, а также предоставляет научные данные и дает рекомендации Правительству Кыргызской Республики. Крайне важно научно проанализировать взаимосвязь между органическими

удобрениями, урожайностью и качеством сельскохозяйственных культур посредством анализа почвы и сельскохозяйственных культур, а также внедрить собственную технологию внесения органических удобрений в Кыргызской Республике для усиления экспорта в соседние страны в будущем. В дальнейшем мы планируем построить на базе КНАУ учебно-экспериментальный центр по подготовке кадров для реализации научно-исследовательских программ. Тем более, что принимаемые со стороны Президента и Кабинета Министров КР меры по социальному и экономическому развитию КР, а также государственной политике по поддержке молодежи, науки и образования, и придания особого статуса судьбоносным вузам КР создают для нас благоприятную среду для дальнейшего развития.

Для более плодотворного и широкого развития наш Университет, как и любой другой современный университет, работает с международными проектами. Так как, обмениваясь идеями, технологиями, научными кадрами и образовательными услугами, мы будем обладать большими возможностями для своего развития и будем более авторитетны в научном и образовательном сообществе, а, следовательно, дадим более качественное и всестороннее образование, которое способны предоставить гражданам Кыргызстана и других стран.

Сотрудничая в области высшего образования и науки, закладывается фундамент единого рынка квалифицированных специалистов, способствует формированию кадрового потенциала, развитию связей между молодёжью разных государств, соединению общих ценностей и идей.

Литература

1. Хачев М.М., Теммоева С.А., Трамова А.М. Роль вузовской науки в инновационном развитии народного хозяйства // Интернет-журнал «НАУКОВЕДЕНИЕ» Том 7, №5 (2015) <http://naukovedenie.ru/PDF/135EVN515.pdf> (доступ свободный). Загл. с экрана. Яз. рус., англ. DOI: 10.15862/135EVN515
2. Наливайко Н. В., Панарин В. И., Паршиков В. И. Глобальные и региональные тенденции развития отечественного образования. – Новосибирск, 2010.
3. Черных С. И., Паршиков В. И. Трансграничное образование: перспективы развития на российском образовательном пространстве // Профессиональное образование в современном мире. – 2013. – № 3 (10). – С. 3–10.
4. Глобалистика: междунар., междисциплинар. энцикл. слов. (Global Studies) / гл. ред. И. И. Мазур, А. Н. Чумаков. – М.; СПб.; Нью-Йорк, 2006. 10. Миронов В. В. Модернизационные процессы в управлении образованием // Вестник Рос. филос. о-ва. – 2008. – № 2. – С. 51–59.
5. О Закон Кыргызской Республики «Об образовании» от 30 апреля 2003 года № 92 <http://cbd.minjust.gov.kg/act/view/ru-ru/1216>
6. Постановление Правительства Кыргызской Республики № 670 от 29 сентября 2015 года «Об утверждении актов по независимой аккредитации в системе образования Кыргызской [ru/98206?cl=ru-ru#p1](http://cbd.minjust.gov.kg/act/view/ru-ru/98206?cl=ru-ru#p1)
7. Дедакова Е.Г., Коростоленко И.А. Развитие экспорта образовательных услуг в России/Вестник Прикамского социального института. 2018.-136 с.

8. Кларк Б. Создание предпринимательских университетов: организационные пути трансформации. Проблемы в высшем образовании. Нью-Йорк: Elsevier Science Regional Sales, 1998. 28

9. <http://odiplom.ru/lab/eksport-obrazovaniya.html>

References

1. Khachev, M. M., Temmoeva, S. A., & Tramova, A. M. (2015). The role of university science in the innovative development of the national economy. *Internet Journal "NAUKOVEDENIE"*, 7(5). Retrieved from <http://naukovedenie.ru/PDF/135EVN515.pdf>. DOI: 10.15862/135EVN515.

2. Nalivayko, N. V., Panarin, V. I., & Parshikov, V. I. (2010). Global and regional trends in the development of domestic education. Novosibirsk.

3. Chernykh, S. I., & Parshikov, V. I. (2013). Cross-border education: Prospects for development in the Russian educational space. *Professional Education in the Modern World*, 3(10), 3–10.

4. Mazur, I. I., & Chumakov, A. N. (Eds.). (2006). *Globalistics: International, interdisciplinary encyclopedic dictionary (Global Studies)*. Moscow; St. Petersburg; New York.

5. Mironov, V. V. (2008). Modernization processes in education management. *Bulletin of the Russian Philosophical Society*, 2, 51–59.

6. Law of the Kyrgyz Republic "On Education" of April 30, 2003, No. 92. Retrieved from <http://cbd.minjust.gov.kg/act/view/ru-ru/1216>.

7. Resolution of the Government of the Kyrgyz Republic No. 670 of September 29, 2015, "On the approval of acts for independent accreditation in the education system of Kyrgyzstan." Retrieved from <http://cbd.minjust.gov.kg/act/view/ru-ru/98206?cl=ru-ru#p1>.

8. Dedakova, E. G., & Korostolenko, I. A. (2018). The development of educational services export in Russia. *Vestnik of the Perm Social Institute*, 136 pages.

9. Clark, B. (1998). *Creating entrepreneurial universities: Organizational pathways of transformation*. Problems in Higher Education. New York: Elsevier Science Regional Sales.

10. *Export of education*. (n.d.). Retrieved from <http://odiplom.ru/lab/eksport-obrazovaniya.html>.

БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМДЫҢ ПЕРСПЕКТИВАЛЫҚ БАҒЫТТАРЫНДАҒЫ ЫНТЫМАҚТАСТЫҚТЫ ДАМУ

Е.Д. Крутская* , Р.З. Нұрғазиев

К.И. Скрыбин атындағы Қырғыз ұлттық аграрлық университеті, Бішкек, Қырғызстан

*krutskaya00@mail.ru

Аннотация. Қырғызстанның АӨК дамуы мен барлық міндеттерін жүзеге асыру үшін кәсіби білімнің сапасын арттыру, халықаралық стандарттарға сәйкес және еңбек нарығында сұранысқа ие мамандарды даярлау қажет, сондықтан студенттер мен аспиранттарды ғылыми жұмысқа тарту маңызды. Ғылыми қызмет пен осы саладағы жетістіктер бакалавр немесе магистрді даярлау сапасын анықтайды, жарқын әрі талантты студенттер мен жас

ғалымдарды анықтауға мүмкіндік береді. Ешқандай инновациялық педагогикалық технология білім, ғылым, бизнес және өндіріс арасындағы байланыстың болмауымен жеткілікті тиімді болмайды. Осы тізбек үзілмей жалғасуы керек.

Түйін сөздер: білім; ғылым; арттыру; біліктілік; цифрландыру; ынтымақтастық; инновациялық технологиялар.

DEVELOPMENT OF COOPERATION IN PROMISING AREAS OF EDUCATION AND SCIENCE

E.D. Krutskaya* , R.Z. Nurgaziev 

Kyrgyz National Agrarian University named after K.I. Skryabin, Bishkek, Kyrgyzstan
*krutskaya00@mail.ru

Annotation. For the development of the agro-industrial complex of Kyrgyzstan and the implementation of all its tasks, it is necessary to improve the quality of vocational education, train specialists who meet international standards and are in demand on the labor market, therefore, students and postgraduates should be involved in scientific work. It is scientific activity and achievements in this field that determine the quality of bachelor's or master's degree training, and make it possible to identify bright and talented students and young scientists. No innovative pedagogical technology will be effective enough without the connection of education, science, business and production. This chain should not be interrupted.

Keywords: education; science; advanced training; qualifications; digitalization; cooperation; innovative technologies.

ВАЖНОСТЬ ИДЕНТИФИКАЦИИ АМИНОКИСЛОТНЫХ ЗАМЕН ДЛЯ ДЕТЕКЦИИ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ *PASTEURELLA MULTOCIDA* К СЕРОГРУППЕ АА.Н. Ауганов , Б.К. Тынысбеков, И.А. Ахметоллаев* 

ТОО "Национальный центр биотехнологии", Астана, Казахстан

*akhmetollayev@biocenter.kz

Аннотация. *Pasteurella multocida* — грамтрицательная бактерия, являющаяся возбудителем широкого спектра инфекционных заболеваний, таких как птичья холера, атрофический ринит и пастереллез у различных видов животных, включая крупный рогатый скот, свиней и птиц. Одним из ключевых факторов её вирулентности является капсула, состоящая из гиалуроновой кислоты, которая помогает бактерии избегать фагоцитоза и иммунного ответа хозяина. В данной работе проведен комплексный анализ нуклеотидных и аминокислотных последовательностей гена *hyaD*, кодирующего гиалуронатсинтазу (*PmHAS*) у штаммов *P. multocida* серогруппы А. Особое внимание уделено однонуклеотидным заменам, которые, несмотря на их наличие, не изменяют каталитические домены фермента, что обеспечивает его стабильную ферментативную активность. Консервативность ключевых регионов гена *hyaD* создает сложности для точной диагностики серогруппы А с помощью стандартных методов генотипирования. В рамках исследования предложена стратегия разработки специфических TaqMan зондов для детекции серогруппы А на основе переменных участков гена. Эти молекулярные тесты могут значительно повысить точность диагностики и способствовать своевременному мониторингу инфекций, вызванных *Pasteurella multocida*. Полученные данные подчеркивают важность дальнейших исследований однонуклеотидных замен и их влияния на вирулентность бактерии.

Ключевые слова: *Pasteurella multocida*; серогруппа А; гиалуронатсинтаза; однонуклеотидные замены; TaqMan зонды; молекулярная диагностика; вирулентность.

Введение

Pasteurella multocida — грамтрицательная патогенная бактерия, способная вызывать широкий спектр инфекционных заболеваний у разнообразных видов домашних и диких животных, включая птиц, свиней, крупный рогатый скот, овец, кошек и собак [1-3]. Серьезность и разнообразие заболеваний, вызываемых этим патогеном, обусловлены его высокой адаптивностью и вариативностью факторов вирулентности. Среди наиболее распространенных инфекций, связанных с *P. multocida*, — птичья холера, прогрессирующий атрофический ринит и легочный пастереллез у свиней, геморрагическая септицемия, респираторные заболевания и абсцессы у крупного рогатого скота, а также атрофический ринит и легочный пастереллез у кроликов [3]. Инфекции, вызванные этим патогеном, наносят значительный экономический ущерб в сельском хозяйстве, включая прямые потери от падежа животных, расходы на утилизацию, профилактику и лечение. Помимо этого, инфекции *P. multocida* несут риск для общественного здоровья, так как бактерия способна вызывать оппортунистические инфекции у человека, обычно после укусов или царапин, нанесенных инфицированными животными [4-6].

Проблема контроля инфекций, вызываемых *P. multocida*, особенно актуальна для сельскохозяйственной и ветеринарной отраслей. В Республике Казахстан заболевания,

вызванные этим патогеном, широко распространены среди домашнего и дикого животного мира. Частые вспышки пастереллеза крупного рогатого скота регистрируются в таких областях, как Алматинская, Западно-Казахстанская, Костанайская и Актюбинская [7]. Массовая гибель сайгаков в Казахстане также ассоциируется с инфекциями, вызванными *P. multocida*, что свидетельствует о ее высоком патогенном потенциале [8-14]. Особенно тревожным является то, что *P. multocida* обнаружена в органах погибших каспийских тюленей, что указывает на способность этой бактерии заражать даже морских млекопитающих [15]. Такое разнообразие хозяев и географических областей распространения подчеркивает необходимость разработки надежных диагностических методов, позволяющих быстро и точно выявлять патогенные штаммы *P. multocida*, чтобы своевременно предпринимать противоэпидемические меры.

P. multocida — факультативный анаэроб, грамтрицательная коккобацилла, характеризующаяся сложной структурной организацией и уникальными механизмами вирулентности. Важнейшим фактором патогенности *P. multocida* является её капсула, состоящая из полисахаридов, которые защищают бактерию от фагоцитоза и других иммунных механизмов хозяина [16, 17]. Именно наличие капсулы позволяет бактерии эффективно уклоняться от иммунной системы хозяина, что способствует её выживанию и распространению в организме. Капсула *P. multocida* также играет ключевую роль в классификации этой бактерии на капсульные серогруппы. На сегодняшний день выделено пять серогрупп: А, В, D, Е и F [18, 19]. Наибольший интерес для науки и ветеринарии представляет серогруппа А, которая широко распространена среди крупного рогатого скота, птиц и свиней, а также ассоциируется с птичьей холерой, респираторными заболеваниями и атрофическим ринитом [2, 20-22].

Капсула серогруппы А *P. multocida* состоит из гиалуроновой кислоты (ГК) — полимера, который также обнаруживается в тканях млекопитающих и является важным компонентом внеклеточного матрикса [23]. Структурное сходство между капсульной гиалуроновой кислотой бактерии и ГК хозяина обеспечивает бактерии способность к молекулярной мимикрии. Этот феномен позволяет *P. multocida* уклоняться от иммунного ответа хозяина, избегая фагоцитоза и других защитных реакций. Капсула функционирует как «молекулярный камуфляж», делая бактерию невидимой для иммунной системы. Данный процесс включает взаимодействие капсулы с рецепторами CD44 на поверхности клеток хозяина, что нарушает нормальные сигнальные пути и способствует проникновению бактерии в ткани. Кроме того, благодаря молекулярной мимикрии, капсула *P. multocida* конкурирует или заменяет гиалуроновую кислоту хозяина, влияя на физиологические процессы и способствуя инвазии бактерии. Этот механизм усложняет борьбу с инфекциями, вызванными *P. multocida*, поскольку иммунная система не распознает патоген как чужеродный объект.

Гены, участвующие в синтезе капсулы *P. multocida*, расположены в кластерах и разделены на три функциональные области: R1, R2 и R3 [24, 25]. На рисунке 1 представлена схематическая модель организации генов участвующих в биосинтезе капсулы *P. multocida*.

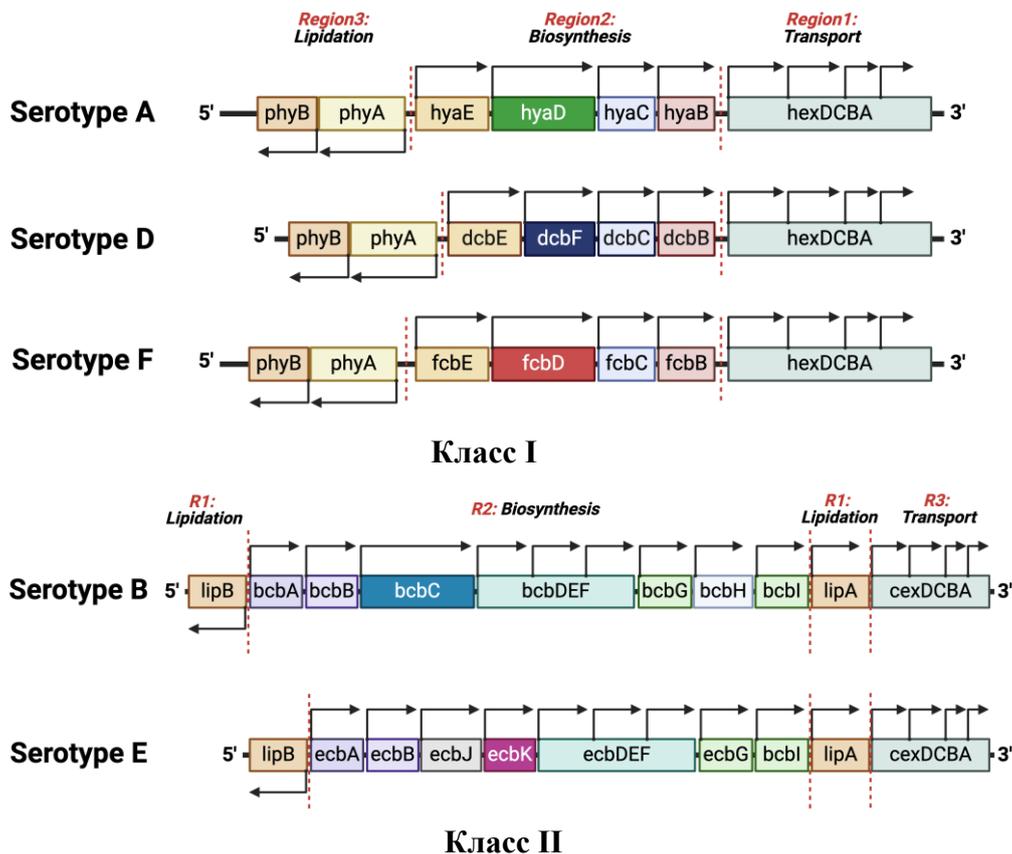


Рисунок 1 – Два класса биосинтетических локусов капсулы для серогрупп *P. multocida* A, D, F, B и E. Капсулы типов A, D и F включают гиалуроновую кислоту, гепарозан и хондроитин соответственно. Генетический кластер капсулы *P. multocida* делится на три области: Region1 (R1), Region2 (R2) и Region3 (R3). Гены, обозначенные одинаковым цветом, кодируют белки с похожими функциями. Названия экспериментально подтвержденных синтаз ГАГ (гликозаминогликанов) указаны над соответствующими стрелками; *PmHAS* обозначает синтазу гиалуроновой кислоты у *P. multocida*, *PmHSI* – гепарозан-синтазу I, а *PmCS* – хондроитин-синтазу. Стрелки, направленные вправо, указывают на гены, транскрибируемые слева направо, а стрелки, направленные влево, – справа налево.

Области R1 и R3 высоко консервативны среди всех пяти серогрупп, что осложняет процесс генотипирования и диагностики. Центральная область R2 специфична для каждой серогруппы и определяет структурные особенности капсулы, влияющие на её антигенные свойства. Серогруппы A, D и F относятся к классу I, а серогруппы B и E — к классу II [26]. Биосинтетический локус класса I имеет длину около 16 кб и содержит 10 открытых рамок считывания (ORF), в то время как локус класса II достигает 21 кб и включает 15 ORF [GenBank AF067175.2, CP003313, AF302467]. Специфичность центральной области R2 для каждой серогруппы и уникальность структуры капсулы делают R2 ключевой мишенью для генетического анализа и идентификации серогрупп.

Для серогруппы A область R2 содержит гены *hyaBCDE*, которые кодируют фермент гиалуронатсинтазу (*pmHAS*) — ключевой компонент в синтезе капсульного гиалуронана [27]. Гиалуронатсинтаза состоит из 972 аминокислотных остатков и обладает двумя независимыми гликозилтрансферазными сайтами. Каждый из этих сайтов имеет критический для его функционирования DXD-мотив [28] [29]. Интересной особенностью *pmHAS* является её

функциональная устойчивость: даже укороченные формы фермента, в которых удалены до 117 аминокислот с N-конца, сохраняют способность к синтезу гиалуроновой кислоты. Это указывает на высокую функциональную пластичность фермента и создает дополнительные сложности при попытках выявления серогруппы А на основе генетических анализов. Необходимо тщательно подбирать консервативные участки гена для создания специфических праймеров, способных точно идентифицировать серотип А.

Точная идентификация серогруппы А представляет серьезные трудности в связи с высокой степенью консервативности некоторых генов и уникальной структурой капсулы. Генотипирование *P. multocida* требует использования специфических праймеров для амплификации областей, которые обладают достаточной вариабельностью для различения серогрупп, но в то же время стабильны в пределах одного типа. Особенности функционирования гиалуронатсинтазы (*pmHAS*) серогруппы А — способность сохранять активность даже в укороченных формах — усложняют задачу определения уникальных мишеней для ПЦР-диагностики. В связи с этим, особое внимание следует уделять ключевым регионам гена, отвечающим за функциональность фермента и специфичность к субстратам.

Активность гиалуронатсинтазы регулируется двумя независимыми гликозилтрансферазными сайтами, которые содержат DXD-мотивы. Мутации в этих сайтах приводят к изменению специфичности фермента: замены D247N и D249N сохраняют активность GlcUA-трансферазы, тогда как замены D527N и D529N обеспечивают активность GlcNAc-трансферазы. Анализ подобных аминокислотных замен имеет решающее значение для разработки специфических праймеров, поскольку эти замены определяют ферментативную активность и способность бактерии синтезировать капсулу. Область между остатками 222–265 в структуре фермента отвечает за селективное связывание субстрата UDP-GlcNAc и представляет собой перспективную мишень для создания высокоспецифичных диагностических инструментов. Однако, при этом следует учитывать возможную вариабельность этой области и ее влияние на функциональность фермента.

Кроме того, генетические исследования должны учитывать наличие других факторов, влияющих на экспрессию генов капсулы и функциональность гиалуронатсинтазы. Например, изменения в регионах R1 и R3 также могут влиять на процесс образования капсулы и её антигенные свойства. Ранее разработанные специфические праймеры для генотипирования *P. multocida* на основе генов *hyaD*, *bcbD*, *dcbF*, *ecbJ* и *fcgD* позволили идентифицировать штаммы и определить их принадлежность к конкретным серогруппам. Тем не менее, проблема перекрестной реактивности и ложноположительных результатов остается актуальной, особенно для серогруппы А, которая характеризуется высокой структурной и генетической сложностью.

Капсула серогруппы А играет ключевую роль не только в патогенезе, но и в усложнении диагностики *P. multocida*. Молекулярная мимикрия, осуществляемая капсулой, позволяет бактерии избегать иммунного распознавания, что существенно затрудняет борьбу с инфекцией и проведение своевременной диагностики [23]. Интеракция капсульной гиалуроновой кислоты с рецептором CD44 на клетках хозяина нарушает нормальные сигнальные пути и способствует проникновению бактерии в ткани, вызывая заболевания. Понимание механизмов молекулярной мимикрии и их влияния на патогенез *P. multocida* необходимо для разработки новых стратегий диагностики, направленных на выявление серогруппы А. Кроме того, идентификация аминокислотных замен в гиалуронатсинтазе и их влияние на ферментативную активность открывает перспективы для создания

высокоспецифичных терапевтических агентов, направленных на ингибирование синтеза капсулы и снижение вирулентности бактерии.

Использование генетического анализа для выявления серогруппы А является одним из наиболее перспективных направлений в разработке диагностических методов для *P. multocida*. Генетическое типирование на основе ПЦР позволяет быстро и точно определять наличие патогенных штаммов, что критически важно для предотвращения распространения инфекции и своевременного введения профилактических мер. Разработка специфических праймеров для амплификации уникальных областей гена гиалуронатсинтазы, а также анализ аминокислотных замен, оказывающих влияние на синтез капсулы, могут повысить точность и эффективность диагностики.

На сегодняшний день применение ПЦР-анализов для генотипирования серогруппы А в сочетании с более глубоким молекулярным анализом позволяет идентифицировать штаммы, определить их патогенность и проводить мониторинг вспышек заболеваний [30, 31]. Точное определение принадлежности штаммов к серогруппе А также имеет важное значение для изучения эпидемиологии и разработки специфических вакцин, нацеленных на профилактику инфекций, вызванных *P. multocida*.

Разработка специфичных методов генотипирования и диагностики серогруппы А *Pasteurella multocida* — сложная, но крайне важная задача для ветеринарии и сельского хозяйства. Вариабельность генов, кодирующих гиалуронатсинтазу, а также структурные особенности капсулы и наличие аминокислотных замен, влияющих на функциональность фермента, требуют тщательного анализа и выбора консервативных участков для создания высокоспецифичных диагностических тестов. Понимание механизмов молекулярной мимикрии, структурных особенностей капсулы и генетической регуляции ее синтеза открывает новые перспективы для повышения эффективности диагностики, мониторинга и контроля инфекций, вызываемых серогруппой А *P. multocida*. Более глубокое исследование генетических и биохимических свойств этой бактерии также имеет потенциал для разработки новых терапевтических стратегий, направленных на ингибирование синтеза капсулы и снижение вирулентности патогена.

Материалы и методы

Для анализа аминокислотных замен, определяющих принадлежность *Pasteurella multocida* к серогруппе А, были использованы данные 151 последовательности ДНК гена *hyaD* пастореллы, загруженные из международной базы данных нуклеотидных последовательностей GenBank NCBI. Отбор последовательностей проводился на основе критериев, включающих полный охват гена, высокую степень идентичности с известными штаммами. Для начального анализа последовательностей использовался алгоритм BLAST, что позволило установить степень сходства между изучаемыми последовательностями и определить предварительные консервативные и вариабельные области. Множественное выравнивание последовательностей проводилось с помощью программы MEGA 6, используя алгоритм Muscle с параметрами: штраф за вставку пробелов – 400, минимальная длина совпадения – 30 нуклеотидов. Это позволило оценить общую степень генетического разнообразия гена *hyaD* среди штаммов, для которых идентифицирована первичная структура ДНК исследуемого гена. В рамках этого анализа особое внимание уделялось выявлению регионов с высокой степенью консервативности, которые впоследствии были использованы для оценки стабильности генома. Для идентификации аминокислотных замен нуклеотидные последовательности были

транслированы в белковые с использованием программы BioEdit. Были изучены как общие паттерны изменений в последовательности, так и конкретные замены, способные влиять на функциональность белка с помощью программного пакета VectorNTI. Основной акцент сделан на области, отвечающие за гликозилтрансферазную активность гиалуронатсинтазы, поскольку они являются ключевыми для процесса синтеза капсулы и, следовательно, для патогенности бактерии.

Результаты

На первом этапе нами был проведен сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей гена *hyaD* в базе данных биотехнологической информации GenBank NCBI посредством алгоритма BLAST. Исходной последовательностью для выравнивания была использована первичная структура ДНК гена кодирующего гиалуронансинтазу (*PmHAS*), взятой из геномной последовательности штамма 33011 *Pasteurella multocida* с идентификационным номером CP097612.1. По результатам анализа схожести нуклеотидных последовательностей ДНК по сравнению с заданной последовательностью был сгенерирован alignment-файл, в котором 151 последовательностей имели 100% перекрытие по длине с исходной последовательностью ДНК. При этом минимальной сходство этих последовательностей с первичной структурой ДНК гена *hyaD* штамма 33011 пастореллы равна 83%. В таких последовательностях как: CP045724.1 штамм PM22; CP015573.1 штамм USDA-ARS-USMARC-60714; CP003022.1 штамм 36950; CP015558.1 штамм USDA-ARS-USMARC-60494 и CP015568 штамм USDA-ARS-USMARC-60248 была выявлена нуклеотидная вставка TCAGCACATCCTTCTGTТААТ кодирующая пептидную последовательность SAHPSVN во всех этих последовательностях. У 47 найденных последовательностей ДНК, имеющих сходство до 83% с последовательностью гена *hyaD* штамма 33011 *Pasteurella multocida* наблюдается делеция фрагмента TCAGCACATCCTTCTGTТААТ которая не приводит к изменениям рамки считывания для этого гена. Среди последовательностей схожих с заданной последовательностью ДНК сходство в пределах 99% на практически весь фрагмент выявлено у 104 найденных молекул ДНК. Различия между выявленными последовательностями наблюдаются в наличии однонуклеотидных заменах вдоль всего гена, кроме тех молекул ДНК, которые имеют сходство с коровой последовательностью ниже, чем 92%. У этих молекул однонуклеотидные замены расположены кластерами на 5' и 3' концах гена. К этим последовательностям относятся молекулы полученные из базы данных NCBI такие как CP037865.1 штамм HN02, CP081487.1 штамм Pm64, CP081487.1 штамм Pm64, CP029712.1 штамм 3358, CP029712.1 штамм 3358, CP023972.1 штамм FDAARGOS_385, CP023516.1 штамм FDAARGOS_384, CP028926.1 штамм 20N, CP097794.1 штамм 28606, CP097618.1 штамм P2095, CP133633.1 штамм Pm1618, CP097604.1 штамм 10159, CP044077.1 штамм FDAARGOS_644, CP133636.1 штамм Past29, CP097795.1 штамм 34030, CP004392.1 штамм OH1905, CP097790.1 штамм 31971, CP026744.1 штамм 161215033201-1, CP026860.1 штамм 12591, CP026860.1 штамм 12591, CP097608.1 штамм 11205, CP097789.1 штамм 35564, CP097788.1 штамм 21317, CP049756.1 штамм KVNON-213, LC537307.1 штамм BD1643, AF195517.2, CP097791.1 штамм 41060, CP111144.1 штамм PF7, AE004439.1 штамм Pm70, CP112897.1 штамм PF19, CP097792.1 штамм 36502, CP020347.1 штамм CIRMБP-0873, CP112892.1 штамм PF14, CP112891.1 штамм PF12, CP111146.1 штамм PF10, CP143878.1 штамм LH06, CP133808.1 штамм W16-1607.1, CP133642.1 штамм Past3, CP111083.1 штамм PF4 ,

CP111142.1 штамм_PF5, CP059703.1 штамм_RCAD0726, CP020345.1 штамм_CIRMBP-0884, CP090521.1 штамм_АН09, CP112894.1 штамм_PF16, CP111147.1 штамм_PF11, CP112898.1 штамм_PF1, CP112895.1 штамм_PF17, CP007040.1 штамм_HN07, CP084165.1 штамм_s4, CP112896.1 штамм_PF18, CP111081.1 штамм_PF2, CP113236.1 штамм_PF8, CP028927.1 штамм_9N, CP111082.1 штамм_PF3, CP111143.1 штамм_PF6, CP111145.1 штамм_PF9, CP090520.1 штамм_SD11, CP113522.1 штамм_PF13, AY604234.1 штамм_J-4103, CP112893.1 штамм_PF15, CP013291.1 штамм_F и AF302467.1 штамм_P4218.

Выравнивание последовательностей ДНК схожих с первичной структурой гена *hyaD* штамма 33011 показало, что однонуклеотидные замены распределены в основном одинаково по большей части выявленных молекул ДНК. Так в позиции 49 имеется замена G на C у 88% схожих последовательностей ДНК. Приблизительно у такого же количества молекул в позиции 72 определяется замена G на A. В позиции 1089 у большей половины молекул наблюдается замена C на T. Замена C на T также определяется у большей части схожих молекул ДНК, полученных с помощью алгоритма BLAST. Остальные однонуклеотидные замены в группе молекул, имеющих сходство более 99% распределены вдоль всей последовательности ДНК, не имея единой локализации. Основные замены нуклеотидной последовательности ДНК у 48 молекул, имеющих сходство с первоначальной последовательностью менее чем 92% локализованы в пределах от 80 нуклеотида и до 1410 положения исходного гена *hyaD*, а также от 1810 нуклеотида до 2750 нуклеотида гена кодирующего гиалуронансинтазу (*PmHAS*).

Несмотря на существенные замены у 47 молекул ДНК, полученных при выравнивании последовательности гена *hyaD* штамма 33011 перевод первичной структуры нуклеиновой кислоты в аминокислотную последовательность согласно правилам генетического кода, разница между аминокислотными последовательностями характеризуется как минимальная. При этом во всех выявленных молекулах формируются достаточно протяженные пептидные последовательности, которые одинаковы у всех 151 молекул, полученных с помощью алгоритма BLAST в базе данных GenBank NCBI. Из 151 последовательностей ДНК схожих по структуре с геном *hyaD* штамма 33011 все приведенные последовательности кроме одной (CP040918.1:20808412083756_Pasteurella_multocida_strain_PM_86) имели полную рамку считывания, без стоп-кодонов. Штамм PM86 *Pasteurella multocida* имеет в первичной последовательности фрагмента схожего с геном *hyaD* штамма 33011 сразу 8 стоп кодонов начиная с 723 аминокислотного остатка. Анализ аминокислотной последовательности по наличию каталитических доменов показал, что из 151 выявленных молекул ДНК гликозилтрансферазной активностью обладают 150 белковых структур, транслируемых с этих последовательностей. Даже в тех последовательностях ДНК, которые отличаются от исходного гена *hyaD* штамма 33011 на 83% каталитические области имеют идентичную аминокислотную последовательность. Выявленные однонуклеотидные замены показали значительное влияние на функционирование капсулы и стабильность фермента, что позволяет сделать выводы о важности этих замен для диагностики серогруппы А.

Обсуждение

Исследование нуклеотидных и аминокислотных последовательностей гена *hyaD* у различных штаммов *Pasteurella multocida* показало, что даже при наличии значительных однонуклеотидных замен, ключевые каталитические участки гиалуронатсинтазы (*PmHAS*) остаются высоко консервативными. Это объясняет высокую функциональную устойчивость

фермента и его критическую роль в патогенезе *P. multocida*. Варибельные области, выявленные в анализируемых последовательностях, представляют собой перспективные мишени для разработки TaqMan зондов, которые могли бы точно детектировать штаммы серогруппы А. Одним из ключевых моментов является то, что функциональные участки, несмотря на их консервативность, могут не подходить для создания диагностических зондов из-за невозможности различения серотипов, что требует использования варибельных участков для более точного генотипирования [32, 26].

Каталитически активные области, такие как DXD-мотивы, представляют собой консервативные элементы, необходимые для синтеза гиалуроновой кислоты в капсуле бактерии. Важность этих участков заключается в их неизменности даже при значительных однонуклеотидных заменах в других частях гена *hyaD*. Мутации D247N и D249N, например, сохраняют активность GlcUA-трансферазы, что указывает на их критическую роль в ферментативной активности. Однако изменения в других участках, таких как D527N и D529N, могут оказывать значительное влияние на активность GlcNAc-трансферазы [33]. Это важное наблюдение подчеркивает необходимость дальнейшего исследования варибельных областей для разработки специфичных диагностических методов.

Особое внимание в нашем исследовании уделено региону между нуклеотидами 80 и 1410, где были обнаружены кластеры однонуклеотидных замен. Эти области потенциально являются идеальными мишенями для разработки молекулярных диагностических тестов, таких как TaqMan зонды. Их использование позволит точно идентифицировать серотип А, что является критически важным для мониторинга вспышек заболеваний, вызванных *P. multocida* [16]. Однако, несмотря на вариации в этих участках, ферментативная активность гиалуронатсинтазы остается неизменной, что говорит о высокой пластичности фермента и его способности поддерживать синтез капсулы даже при значительных генетических изменениях.

Анализ аминокислотных последовательностей показал, что консервативные области, отвечающие за гликозилтрансферазную активность, остаются неизменными во всех штаммах, за исключением небольшого числа мутаций. Эти мутации, однако, не оказывают значительного влияния на общую активность фермента, что подтверждает высокую стабильность этого фермента. Тем не менее, даже такие небольшие изменения могут стать важными для разработки специфичных зондов, способных различать штаммы на основе тонких изменений в аминокислотных последовательностях [17, 29].

Одной из главных сложностей, выявленных в ходе анализа, является высокая степень консервативности генов, кодирующих капсульные структуры *P. multocida*. Например, регионы R1 и R3, которые являются ключевыми для синтеза капсулы, практически не подвергаются мутациям, что затрудняет использование этих участков для дифференциации серогрупп. Напротив, регион R2, который содержит гены, специфичные для серотипов, особенно серогруппы А, может представлять собой перспективную мишень для разработки диагностических тестов [27]. Эти данные подчеркивают важность дальнейшего изучения варибельных областей гена *hyaD* для разработки высокоспецифичных методов генотипирования.

Еще один важный аспект исследования касается влияния мутаций на функциональные свойства фермента. Несмотря на наличие однонуклеотидных замен в некоторых штаммах, каталитическая активность фермента сохраняется. Это подтверждает его критическую роль в вирулентности бактерии и подчеркивает важность консервативных участков, таких как DXD-мотивы, которые остаются неизменными даже при значительных изменениях в других

частях гена [34]. Эта устойчивость делает каталитически активные участки менее пригодными для разработки диагностических тестов, но она также открывает возможности для изучения альтернативных мишеней в более вариабельных участках гена.

Кроме того, важную роль играет взаимодействие капсулы с рецепторами хозяина, такими как CD44, что позволяет бактерии избегать фагоцитоза и других защитных механизмов. Это взаимодействие является ключевым фактором, способствующим патогенезу *P. multocida*, и подтверждает важность разработки диагностических тестов, которые смогут учитывать эти молекулярные взаимодействия. Анализ последовательностей показал, что мутации в гликозилтрансферазных сайтах могут оказывать влияние на структуру и функцию капсулы, что делает эти участки важными для диагностики и терапии.

Прогнозирование функциональных изменений на основе однонуклеотидных замен в последовательностях гена *hyaD* также дает важные данные для разработки молекулярных тестов. В частности, замены в критических участках могут оказывать влияние на специфичность фермента и его способность синтезировать гиалуроновую кислоту. Это открывает перспективы для создания диагностических инструментов, которые могут учитывать эти изменения и обеспечивать более точную детекцию серотипов [35, 12].

Разработка TaqMan зондов, направленных на выявление вариабельных участков гена *hyaD*, представляется перспективным направлением для улучшения диагностики *P. multocida*. Эти зонды смогут точно идентифицировать штаммы серогруппы А, что критически важно для мониторинга вспышек заболеваний и проведения профилактических мероприятий. Дополнительные исследования, направленные на изучение аминокислотных замен и их влияния на каталитическую активность фермента, позволят создать более точные и эффективные диагностические инструменты [36].

Заключение нашего исследования подчеркивает необходимость комплексного подхода к разработке диагностических тестов для серогруппы А *Pasteurella multocida*. Учет как консервативных, так и вариабельных участков гена *hyaD* позволит повысить точность и эффективность диагностики, а также улучшить понимание механизмов патогенеза бактерии. Эти данные важны для создания новых терапевтических и профилактических стратегий, направленных на снижение вирулентности *P. multocida*.

Заключение

Проведенное исследование позволило выявить значительную консервативность каталитических участков гиалуронатсинтазы (*PmHAS*) у штаммов *Pasteurella multocida* серогруппы А, несмотря на наличие однонуклеотидных замен в гене *hyaD*. Этот факт подчеркивает важность каталитических регионов для сохранения ферментативной активности бактерии, что делает их неподходящими для создания диагностических тестов. Однако вариабельные участки гена *hyaD* были определены как перспективные мишени для разработки специфичных TaqMan зондов, что может улучшить точность диагностики серогруппы А и мониторинг вспышек заболеваний, вызванных этим патогеном. На основе полученных данных предложена стратегия дальнейшей работы, которая включает углубленное исследование влияния аминокислотных замен на вирулентность бактерии, а также разработку диагностических и терапевтических методов, направленных на снижение патогенности *P. multocida*.

Финансирование: BR218004/0223 «Совершенствование мер обеспечения биологической безопасности в Казахстане: противодействие опасным и особо опасным инфекциям» на 2023-2025

Литература

1. Peng, Z., Wang, X., Zhou, R., Chen, H., Wilson, B. A., & Wu, B. (). *Pasteurella multocida*: Genotypes and Genomics // Microbiology and molecular biology reviews : MMBR. –2019. – Vol.83(4). –P.e00014-19. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00014-19>– 2013.
2. Wilkie, I.W., Harper, M., Boyce, J.D., Adler, B. *Pasteurella multocida*: Diseases and Pathogenesis. In: Aktories, K., Orth, J., Adler, B. (eds) *Pasteurella multocida* // Current Topics in Microbiology and Immunology– 2012.– Vol. 361. https://doi.org/10.1007/82_2012_216 2013.
3. Wilson B.A., Ho M.. *Pasteurella multocida*: from Zoonosis to Cellular Microbiology // Clin. Microbiol. Rev.– 2013. – Vol. 26. – P. 631-655. <https://doi.org/10.1128/cmr.00024-13>
4. Ryan, J. M., Feder, H. M. Dog licks baby. Baby gets *Pasteurella multocida* meningitis // Lancet. –2019. – Vol. 393(10186), –P.e41. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)30953-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)30953-5)
5. Dryden M. S., Dalglish D. *Pasteurella multocida* from a dog causing Ludwig's angina // Lancet –1996. – Vol. 347,8994. – P.123. doi:10.1016/s0140-6736(96)90250-0
6. Godey B Fau - Morandi X., Morandi X Fau - Bourdinière J., Bourdinière J Fau - Heurtin C., Heurtin C. Beware of dogs licking ears // Lancet. –1999. – 354:1267–8.
7. Дерновая В. Ф. Биологические свойства пастерелл и вопросы лабораторной диагностики пастереллеза: Дисс... канд. мед. наук. 03.00.07. // МЗ РК. Каз. противочумный науч.-исслед. ин-т. – Алматы, 1996. – С. 174 с.
8. Miller MW. Pasteurellosis. In: Williams ES, Barker IK, editors. Infectious diseases of wild mammals, vol. 2001. 3rd ed. p. 331–9.
9. LI. B. The case of isolation of the causative agent of hemorrhagic septicemia from sick gerbils. J Micro // Epidem and Immun. – 1961. – Т. Vol. 4. – С. P. 122–123.
10. Гордиенко О. Пастереллез больших песчанок в моекумах. // Материалы V научной конференции противочумных учреждений Средней Азии и Казахстана, посвященной 50-летию Великой Октябрьской социалистической революции. – 1967. – № Алма-Ата, февраль – С. 353–354
11. Айкимбаев А.М., Мартиневский И.Л., Алтухов А.А., Иванов С.И., Суров В.Ф. О случаях выделения возбудителя пастереллеза из сайгака в феврале-марте 1984 г. на Урале. Математика Академии наук Казахской ССР. –1985. – Т. 4:39. – С.39-41.
12. Мартиневский И.Л., Айкимбаев А.М. О причинах массовой гибели сайгаков. Вторая межгосударственная конференция по взаимодействию государств – участников СНГ в области санитарной защиты территорий. Алматы –2001. –С.143–146.
13. Orynbayev M. B., Rystaeva, R. A., Kerimbayev, A. A., Kopeyev, S. K., Kospanova, M. N., & Kydyrbaev, Z. K. Cases of mass death of Ural saiga population in Kazakhstan // Actual problems of veterinary biology. – 2013. – Vol. 1(17). – P. 20-26.
14. Коспанова М.Н., Омарбекова У.Ж., Сансызбай А.Р., Рыстаева Р.А., Керимбаев А.А., Орынбаев М.Б. Выделение бактериальной культуры *Pasteurella* из биологического материала сайгака. Материалы международной молодежной научно-практической конференции «Биомедицина, биотехнология и экологическая безопасность: достижения молодых ученых и специалистов Евразии», Казань, 2014:77.

15. Мека-Меченко Т.В. и др. Характеристика штамма *P.haemolitica* выделенного от Каспийского тюленя // Проблемы особо опасн. инфекций. – 2001. – №1, –С.164-165.
16. Harper M., Boyce, J.D., Adler, B. The key surface components of *Pasteurella multocida*: capsule and lipopolysaccharide. Curr. Top // Microbiol. Immunol. – 2012–Vol. 361.– P. 39–51. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/82-2012-202>.
17. Boyce J. D., Adler B. The Capsule Is a Virulence Determinant in the Pathogenesis of *Pasteurella multocida* M1404 (B:2) // Infection and Immunity. – 2000. – Vol. 68(6). – P. 3463-3468. <https://doi.org/10.1128/iai.68.6.3463-3468.2000>
18. Carter G. R. The type specific capsular antigen of *Pasteurella multocida* // Canadian journal of medical sciences. – 1952. – Vol. 30(1). –P. 48-53. doi:10.1139/cjms52-008
19. Rimler R. B., Rhoades K.R. Serogroup F, a new capsule serogroup of *Pasteurella multocida* // Journal of clinical microbiology –1987. –Vol. 25(4). –P. 615-618. doi:10.1128/jcm.25.4.615-618.1987
20. Ewer C., Lübke-Becker A., Bethe A., Kießling S., Filter M., Wieler L.H. Virulence genotype of *Pasteurella multocida* strains isolated from different hosts with various disease status // Vet. Microbiol. –2006. – Vol. 114(3). – P.304-317.
21. Ferreira T.S., Felizardo M.R., de Gobbi D.D., Moreno M., Moreno A.M. Antimicrobial resistance and virulence gene profiles in *P. multocida* strains isolated from cats // Braz. J. Microbiol. –2015. – Vol. 46(1). –P. 271-277. Published 2015 Mar 1. doi:10.1590/S1517-838246120140084
22. Bethe A., Wieler L.H., Selbitz H.J., Ewers C. Genetic diversity of porcine *Pasteurella multocida* strains from the respiratory tract of healthy and diseased swine // Vet. Microbiol. –2009. – Vol.139(1-2). –P. 97-105. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.04.027.
23. DeAngelis P. L. Microbial glycosaminoglycan glycosyltransferases // Glycobiology. – 2002. – Vol. 12, (1). – P. 9R-16R. <https://doi.org/10.1093/glycob/12.1.9R>.
24. Boyce J.D., Chung J.Y., Adler B. Genetic organisation of the capsule biosynthetic locus of *Pasteurella multocida* M1404 (B:2) // Vet. Microbiol. – 2000 – Vol. 72(1-2). – P. 121-34. doi: 10.1016/s0378-1135(99)00193-5. PMID: 10699509.
25. Chung J.Y., Zhang Y., Adler B. The capsule biosynthetic locus of *Pasteurella multocida* A:1 // FEMS Microbiol Lett. – 1998– Vol. 166(2). – P.289-96. doi: 10.1111/j.1574-6968.1998.tb13903.x.
26. Townsend K.M., Boyce J.D., Chung J.Y., Frost A.J., Adler B. Genetic organization of *Pasteurella multocida* cap Loci and development of a multiplex capsular PCR typing system // J. Clin. Microbiol. – 2001. – Vol. 39(3). – P.924-929. doi: 10.1128/JCM.39.3.924-929.2001.
27. DeAngelis P.L. Enzymological characterization of the *Pasteurella multocida* hyaluronic acid synthase // Biochemistry – 1996– Vol. 35(30). – P. 9768-9771. doi: 10.1021/bi960154k. PMID: 8703949.
28. DeAngelis PL. Hyaluronan synthases: fascinating glycosyltransferases from vertebrates, bacterial pathogens, and algal viruses // Cell Mol Life Sci. –1999– Vol. 56(7-8). –P. 670-682. doi: 10.1007/s000180050461.
29. Rosner H, Grimmecke HD, Knirel YA, Shashkov AS. Hyaluronic acid and a (1-4)-beta-D-xylan, extracellular polysaccharides of *Pasteurella multocida* (Carter type A) strain 880 // Carbohydr. Res. – 1992. – Vol. 223. – P.329–333.
30. Soriano-Vargas, E., Vega-Sánchez, V., Zamora-Espinosa, J.L. et al. Identification of *Pasteurella multocida* capsular types isolated from rabbits and other domestic animals in Mexico

with respiratory diseases // Trop Anim Health Prod. – 2012.– Vol. 44. – P. 935–937.
<https://doi.org/10.1007/s11250-011-9995-x>

31. Liu H, Zhao Z, Xi X, Xue Q, Long T, Xue Y. Occurrence of *Pasteurella multocida* among pigs with respiratory disease in China between 2011 and 2015. // Ir Vet J. – 2017. – Vol.70(2). doi:10.1186/s13620-016-0080-7

32. DeAngelis P.L. Molecular directionality of polysaccharide polymerization by the *Pasteurella multocida* hyaluronan synthase // J. Biol. Chem. – 1996. – 35 (30). – P. 9768-9771. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.37.26557>.

33. Wei J., DeAngelis P., Dissection of the two transferase activities of the *Pasteurella multocida* hyaluronan synthase: two active sites exist in one polypeptide // Glycobiology, Vol. (10), Sep. –2000.– P.883–889, <https://doi.org/10.1093/glycob/10.9.883>

34. Kodama H, Matsumoto M, Snow LM. Immunogenicity of capsular antigens of *Pasteurella multocida* in turkeys // Am J Vet Res. – 1981. – Oct; Vol. 42(10). –P. 1838-1841. PMID: 7325454.

35. Pruijboom, I. M., Rimler, R. B., Ackermann, M. R., and Brogden, K. A. Capsular hyaluronic acid-mediated adhesion of *Pasteurella multocida* to turkey air sac macrophages. //Avian diseases – 1996.– Vol.40(4). – P.887–893.

36. Weigel, P. H., Hascall, V. C., and Tammi, M. (). Hyaluronan synthases. The Journal of biological chemistry – 1997. – Vol. 272(22), – P. 13997–14000. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.22.13997>

References

1. Peng Z., Wang X., Zhou R., Chen H., Wilson B. A., Wu B. *Pasteurella multocida*: Genotypes and Genomics // Microbiology and molecular biology reviews : MMBR. –2019. –Vol. 83(4). –P.e00014-19. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00014-19>– 2013.

2. Wilkie I.W., Harper M., Boyce J.D., Adler B. *Pasteurella multocida*: Diseases and Pathogenesis. In: Aktories, K., Orth, J., Adler, B. (eds) *Pasteurella multocida* // Current Topics in Microbiology and Immunology– 2012.– Vol. 361. https://doi.org/10.1007/82_2012_216 2013.

3. Wilson B.A., Ho M. *Pasteurella multocida*: from Zoonosis to Cellular Microbiology // Clin. Microbiol. Rev.– 2013. – Vol. 26. – P. 631-655. <https://doi.org/10.1128/cmr.00024-13>.

4. Ryan J. M., Feder H. M. Dog licks baby. Baby gets *Pasteurella multocida* meningitis // Lancet. –2019. – Vol. 393(10186), –P.e41. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)30953-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)30953-5).

5. Dryden M. S., Dalgliesh D. *Pasteurella multocida* from a dog causing Ludwig's angina // Lancet –1996. – Vol. 347,8994. – P.123. doi:10.1016/s0140-6736(96)90250-0.

6. Godey B. Fau - Morandi X., Morandi X. Fau - Bourdinière J., Bourdinière J. Fau - Heurtin C., Heurtin C. Beware of dogs licking ears // Lancet. –1999. – 354:1267–8.

7. Dernovaya V. F. Biological properties of *Pasteurella* and issues of laboratory diagnostics of pasteurellosis: Diss... Cand. of Medicine. 03.00.07. // Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan. Kazakh Anti-Plague Research Institute. – Almaty, 1996. – P. 174 p.

8. Milner-Gulland A. B. B. a. I. A. G. a. E. J. The ecology and management of the Saiga antelope in Kazakhstan // Mammal Review. – 1998. – Vol. 28. – C. 1-52.

9. Li B. The case of isolation of the causative agent of hemorrhagic septicemia from sick gerbils. J Micro // Epidem and Immun. – 1961. – Vol. 4. – C. P. 122–123.

10. Gordienko O. Pasteurellosis of large gerbils in moyunkums. // Materials of V scientific conference of anti-plague institutions of Central Asia and Kazakhstan, dedicated to the 50th anniversary of the great October socialist revolution. – 1967. № Alma-Ata, February –C. 353–354

11. Aykimbaev A. M., Martinevsky I.L., Altukhov A.A., Ivanov S.I., Surov V.F. About the cases of pasteurilosis agent isolation from saiga in February-march 1984 in the Ural region. // *Math of the Academy of Science of Kazakh SSR.* . – 1985. – T. 4:39–41.
12. Martinevsky I.L., Aykimbaev A.M. About the causes of saiga mass death // *Second interstate conference on interaction of CIS member states in the field of territory sanitary protection.* – 2001. – C. 143–146.
13. Orynbayev M. B., Rystaeva, R. A., Kerimbayev A. A., Kopeyev S. K., Kospanova M. N., Kydyrbaev Z. K. Cases of mass death of Ural saiga population in Kazakhstan // *Actual problems of veterinary biology.* – 2013. – Vol. 1(17). – P. 20-26.
14. Kospanova M.N., Omarbekova O. U., Sansyzybay A.R., Rystaeva R.A., Kerimbayev A.A., Orynbayev M.B. Isolation of *Pasteurella* bacterial culture from biological material from the saiga // *Proceedings of the international youth scientific and practical conference “biomedicine, biotechnology and environmental safety: achievements of young scientists and specialists of Eurasia.* – 2014, Kazan, . – T. 77.
15. Meka-Mechenko T.V. et al. Characteristics of the *P.haemolitica* strain isolated from the Caspian seal // *Problems of especially dangerous infections.* - 2001. - No. 1, - P. 164-165
16. Harper M., Boyce J.D., Adler B. The key surface components of *Pasteurella multocida*: capsule and lipopolysaccharide. *Curr. Top // Microbiol. Immunol.* – 2012.–Vol. 361.– P. 39–51. <https://doi.org/https://doi.org/10.1007/82-2012-202>
17. Boyce J. D., Adler B. The Capsule Is a Virulence Determinant in the Pathogenesis of *Pasteurella multocida* M1404 (B:2) // *Infection and Immunity.* – 2000. – Vol. 68(6). – P. 3463-3468. <https://doi.org/10.1128/iai.68.6.3463-3468.2000>
18. Carter G. R. The type specific capsular antigen of *Pasteurella multocida* // *Canadian journal of medical sciences.* – 1952. – Vol. 30(1). –P. 48-53. doi:10.1139/cjms52-008.
19. Rimler R. B., Rhoades K.R. Serogroup F, a new capsule serogroup of *Pasteurella multocida* // *Journal of clinical microbiology* – 1987. – Vol. 25(4). – P. 615-618. doi:10.1128/jcm.25.4.615-618.1987.
20. Ewer C., Lübke-Becker A., Bethe A., Kießling S., Filter M., Wieler L.H. Virulence genotype of *Pasteurella multocida* strains isolated from different hosts with various disease status // *Vet. Microbiol.* –2006. – Vol. 114(3). – P.304-317.
21. Ferreira T.S., Felizardo M.R., de Gobbi D.D., Moreno M., Moreno A.M. Antimicrobial resistance and virulence gene profiles in *P. multocida* strains isolated from cats // *Braz. J. Microbiol.* –2015. – Vol. 46(1). –P. 271-277. doi:10.1590/S1517-838246120140084.
22. Bethe A., Wieler L.H., Selbitz H.J., Ewers C. Genetic diversity of porcine *Pasteurella multocida* strains from the respiratory tract of healthy and diseased swine // *Vet. Microbiol.* –2009. – Vol.139(1-2). –P. 97-105. doi: 10.1016/j.vetmic.2009.04.027.
23. DeAngelis P. L. Microbial glycosaminoglycan glycosyltransferases // *Glycobiology.* – 2002. – Vol. 12, (1). – P. 9R-16R. <https://doi.org/10.1093/glycob/12.1.9R>
24. Boyce J.D., Chung J.Y., Adler B. Genetic organisation of the capsule biosynthetic locus of *Pasteurella multocida* M1404 (B:2) // *Vet. Microbiol.* – 2000 – Vol. 72(1-2). – P. 121-134. doi: 10.1016/s0378-1135(99)00193-5. PMID: 10699509.
25. Chung J.Y., Zhang Y., Adler B. The capsule biosynthetic locus of *Pasteurella multocida* A:1 // *FEMS Microbiol Lett.* – 1998 – Vol. 166(2). – P. 289-296. doi: 10.1111/j.1574-6968.1998.tb13903.x.

26. Townsend K.M., Boyce J.D., Chung J.Y., Frost A.J., Adler B. Genetic organization of *Pasteurella multocida* cap Loci and development of a multiplex capsular PCR typing system // J. Clin. Microbiol. – 2001. – Vol. 39(3). – P.924-929. doi: 10.1128/JCM.39.3.924-929.2001.
27. DeAngelis P.L. Enzymological characterization of the *Pasteurella multocida* hyaluronic acid synthase // Biochemistry – 1996 – Vol. 35(30). – P. 9768-9771. doi: 10.1021/bi960154k. PMID: 8703949.
28. DeAngelis P.L. Hyaluronan synthases: fascinating glycosyltransferases from vertebrates, bacterial pathogens, and algal viruses // Cell Mol Life Sci. –1999– Vol. 56(7-8). –P. 670-682. doi: 10.1007/s000180050461.
29. Rosner H., Grimmecke H.D., Knirel Y.A., Shashkov A.S. Hyaluronic acid and a (1-4)-beta-D-xylan, extracellular polysaccharides of *Pasteurella multocida* (Carter type A) strain 880 // Carbohydr. Res. – 1992. – Vol. 223. – P.329–333.
30. Soriano-Vargas, E., Vega-Sánchez, V., Zamora-Espinosa J.L. et al. Identification of *Pasteurella multocida* capsular types isolated from rabbits and other domestic animals in Mexico with respiratory diseases // Trop Anim Health Prod. – 2012.– Vol. 44. – P. 935–937. <https://doi.org/10.1007/s11250-011-9995-x> .
31. Liu H., Zhao Z., Xi X., Xue Q., Long T., Xue Y. Occurrence of *Pasteurella multocida* among pigs with respiratory disease in China between 2011 and 2015. // Ir. Vet. J. – 2017. – Vol.70(2). doi:10.1186/s13620-016-0080-7.
32. DeAngelis P.L. Molecular directionality of polysaccharide polymerization by the *Pasteurella multocida* hyaluronan synthase // J. Biol. Chem. – 1996. – 35 (30). – P. 9768-9771. <https://doi.org/10.1074/jbc.274.37.26557>.
33. Wei J., DeAngelis P., Dissection of the two transferase activities of the *Pasteurella multocida* hyaluronan synthase: two active sites exist in one polypeptide // Glycobiology, Vol. (10), Sep. –2000.– P.883–889, <https://doi.org/10.1093/glycob/10.9.883>.
34. Kodama H., Matsumoto M., Snow L.M. Immunogenicity of capsular antigens of *Pasteurella multocida* in turkeys // Am J. Vet. Res. – 1981. – Oct; Vol. 42(10). –P. 1838-1841. PMID: 7325454.
35. Prumboom I. M., Rimler R. B., Ackermann M. R., Brogden K. A. Capsular hyaluronic acid-mediated adhesion of *Pasteurella multocida* to turkey air sac macrophages //Avian diseases – 1996.– Vol.40(4). – P.887–893.
36. Weigel P. H., Hascall V. C., Tammi M. Hyaluronan synthases. The Journal of biological chemistry – 1997. – Vol. 272(22), – P. 13997–14000. <https://doi.org/10.1074/jbc.272.22.13997>.

PASTEURELLA MULTOCIDA А СЕРОГРУППАСЫН АНЫҚТАУДА АМИНҚЫШҚЫЛДЫҚ АЛМАСУЛАРДЫҢ РӨЛІ

А.Н. Ауганов , Б.К. Тынысбеков, И.А. Ахметоллаев* 

«Ұлттық Биотехнология Орталығы» ЖШС, Қазақстан, Астана
*akhmetollayev@biocenter.kz

Аннотация. *Pasteurella multocida* - әртүрлі жануарлар түрлерінде, соның ішінде ірі қара, шошқа және құстарда құс тырысқағы, атрофиялық ринит және пастереллез сияқты көптеген жұқпалы аурулардың қоздырғышы болып табылатын грамтеріс бактерия. Оның вируленттілігінің негізгі факторларының бірі-гиалурон қышқылынан тұратын капсула, ол

бактерияға фагоцитоздан және иесінің иммундық реакциясынан аулақ болуға көмектеседі. Бұл жұмыста *P.multocida* А серогруппасы штаммдарындағы гиалуронатсинтазаны (*PmHAS*) кодтайтын *hyaD* генінің нуклеотидтер және аминқышқылдардар тізбегіне кешенді талдау жүргізіліп, ерекше назар бір нуклеотидті алмастыруларға аударылды. Олар болғанына қарамастан ферменттің каталикалық домендерін өзгертпейді, бұл оның тұрақты ферментативті белсенділігін қамтамасыз етеді. *hyaD* генінің негізгі аймақтарының консервативтілігі стандартты генотиптеу әдістері арқылы А серогруппасының диагностикасына қиындықтар туғызады. Зерттеу шеңберінде геннің өзгермелі учаскелері негізінде А серогруппасын анықтау үшін арнайы TaqMan зондтарын әзірлеу стратегиясы ұсынылды. Бұл молекулалық сынақтар диагностиканың дәлдігін айтарлықтай жақсартады және *Pasteurella multocida* инфекцияларын уақтылы бақылауға ықпал етеді. Нәтижелер бір нуклеотидті алмастыруларды әрі қарай зерттеудің маңыздылығын және бактерияның вируленттілігіне әсерін көрсетеді.

Түйін сөздер: *Pasteurella multocida*; А серогруппасы; гиалуронатсинтаза; бір нуклеотидті алмастырулар; TaqMan зонд; молекулалық диагностика; вируленттілік.

THE IMPORTANCE OF IDENTIFYING AMINO ACID SUBSTITUTIONS FOR THE DETECTION OF *PASTEURELLA MULTOCIDA* BELONGING TO SEROGROUP A

A.N. Auganov , B.K. Tynysbekov, I.A. Akhmetollaev *

LLP “National Center for Biotechnology” Kazakhstan, Astana

*akhmetollayev@biocenter.kz

Abstract. *Pasteurella multocida* is a gram-negative bacterium that is the causative agent of a wide range of infectious diseases such as avian cholera, atrophic rhinitis and pasteurellosis in various animal species, including cattle, pigs and birds. One of the key factors of its virulence is a capsule consisting of hyaluronic acid, which helps the bacterium to avoid phagocytosis and the immune response of the host. In this work, a comprehensive analysis of the nucleotide and amino acid sequences of the *hyaD* gene encoding hyaluronate synthase (*PmHAS*) in *P. multocida* of the serogroup A strains was carried out. Special attention is paid to single-nucleotide substitutions, which, despite their presence, do not change the catalytic domains of the enzyme, which ensures its stable enzymatic activity. The conservatism of the key regions of the *hyaD* gene creates difficulties for accurate diagnosis of serogroup A using standard genotyping methods. Within the framework of the study, a strategy for the development of specific TaqMan probes for the detection of gray group A based on variable gene regions is proposed. These molecular tests can significantly improve diagnostic accuracy and facilitate timely monitoring of infections caused by *Pasteurella multocida*. The obtained data emphasize the importance of further studies of single-nucleotide substitutions and their effect on bacterial virulence.

Keywords: *Pasteurella multocida*; serogroup A; Hyaluronan synthase; single nucleotide substitutions; TaqMan probes; molecular diagnostics; virulence.

ИЗУЧЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ БАКТЕРИОФАГОВ ПРОТИВ ESKAPE – ПАТОГЕНОВ

Н. Сырым*^{ID}, Б.А. Еспембетов^{ID}, А.М. Анарбекова^{ID}, Н.Н. Зинина^{ID}, С.Е. Алпысбаева^{ID},
М.К. Сармыкова^{ID}, Е.Б. Серікбай^{ID}, А.Р. Әбдімұхтар^{ID}, А.Т. Төлеухан^{ID}, М.М.
Мауленбаева^{ID}, Б.Б. Ержігіт^{ID}, А.Ә. Абдықалық^{ID}, А.Д. Мауленбай^{ID}

ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности»,
пгт Гвардейский, Казахстан
*n.syrym@biosafety.kz

Аннотация. Бактериальные инфекции, вызываемые МЛУ-штаммами, входят в список самых опасных угроз для мирового общественного здравоохранения. Наибольшее количество случаев устойчивости детектируют среди так называемых ESKAPE патогенов (от начальных букв *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterobacter cloacae*). Бактерии этой группы вызывают угрожающие жизни внутрибольничные инфекции, особенно у людей с ослабленным иммунитетом и хроническими заболеваниями. В статье рассмотрены обоснования фаговой терапии, клинические проблемы и предложена фаготерапия как эффективное средство против ESKAPE патогенов, охарактеризованы их некоторые биологические свойства (действие высокой температуры, устойчивость к воздействию хлороформа и изучение влияния изменений значений pH на активность бактериофагов). В качестве физического фактора изучали действие высокой температуры на бактериофаги, а в качестве химического - действие хлороформа. В результате исследований температурной устойчивости нами было установлено, что прогревание фагов в течение 30 мин при 60 °C не оказывало влияния на их активность, бактериофаги сохраняют активность при значении pH в пределах от 7.0 до 8.0, устойчивы к воздействию хлороформом в течение 45 мин. При этом следует отметить, что щелочная среда буферного раствора незначительно влияла на снижение активности изучаемого бактериофагов. При этом нахождение бактериофага в кислой среде в большей степени отражалось на снижении его инфекционной способности.

Ключевые слова: микробиология; бактерий; бактериофаги; ESKAPE-патогены.

Введение

В современном мире большую угрозу для здоровья людей несут инфекции, возбудителями которых являются бактерии с множественной лекарственной устойчивостью. Сегодня такие патогенные бактерии именуются «супербактериями» [1–3]. Их огромная численность, удивительная пластичность генетического материала, а также способность обмениваться генетической информацией между совершенно разными видами открыли бактериям путь к бесконечной адаптации. Их количество и агрессивность возрастают, что становится глобальной проблемой не только здравоохранения, но практически всех государственных секторов, всего общества [4–6]. Считается, что появление и распространение высокорезистентных к антибиотикам бактерий спровоцировано интенсивным и длительным использованием и злоупотреблением антибиотиками в медицине и сельском хозяйстве. Прогнозное математическое моделирование это подтверждает: уровень использования антибиотиков бактериями существенно влияет на рост уровня их резистентности [7–10]. Распространение мультирезистентных штаммов бактерий требует срочного поиска средств

борьбы с ними. Перспективным направлением лечения мультирезистентных инфекций является использование бактериофагов, специфичных к возбудителям – фаготерапия [11–14].

В литературном обзоре установлено, что фаготерапия эффективна и безопасна для лечения инфекций, вызванных бактериями ESCAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, представителей семейства *Enterobacteriaceae*) - патогенами, которые чаще всего демонстрируют устойчивость к антибиотикам и являются причиной большинства госпитальных инфекций.

В связи с вышеизложенным путем внедрения новых методов лечения, с использованием бактериофагов против штаммов ESCAPE, выделенных от пациентов, проходящих лечение в больницах различных регионов на территории республики является актуальной задачей и представляет огромный интерес для клинической практики.

Целью исследований является изучение биологических свойств выделенных бактериофагов против ESKAPE – патогенов.

Материалы и методы

Материалом служили 18-24 часовые культуры *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*.

Для культивирования бактерий и их фагов использовали питательные среды ГРМ агар и бульон.

При работе с бактериофагами были использованы следующие методы:

Изучение влияния изменений значений рН (водородного показателя) на активность бактериофагов. В опытные пробирки, содержащие стерильный 1,5% ГРМ бульон в объеме 4,5 мл, вносили по 0,4 мл суточных культур каждого вида ESKAPE бактерий и по 0,2 мл гомологичных бактериофагов. Пробирки помещали в термостат и культивировали при температуре: 35 °С в течение 6 часов. Далее опыт повторяли, но уже культивирование проводили при значениях рН 6.0; 6.5; 7.0; 7.5; 8.0. Помутнение пробирки указывало на отсутствие лизиса, просветление в сравнении с контролем на наличие лизиса.

Методы оценки температурной устойчивости бактериофагов. Исследуемые бактериофаги разводили 1:10 в ГРМ бульоне для того, чтобы получить бактериофаг определенной концентрации. Затем пробирки с фагами прогревали на водяной бане в диапазоне измеряемой температуры 60 – 65 °С с интервалом 5 °С в течение 30 мин. Параллельно титровали контроль – фаголизат без прогревания. Количество негативных колоний (титр бактериофага) определяли методом агаровых слоев по Грациа.

Устойчивость бактериофагов к воздействию хлороформа. Определение чувствительности бактериофагов к данному химическому веществу проводили методом обработки фаговой суспензии хлороформом в соотношении 1:10 при постоянном перемешивании на шейкер аппарате с последующим контролем титра фага по Грациа.

Результаты

Устойчивость бактериофагов к воздействию разных значений рН. При культивировании бактерий *in vitro* рН питательной среды создается условий, в которых произрастает тот или иной вид бактерий. От значений рН среды зависит стойкость агаризованной среды (при низких значениях рН стоит добавить больше агар-агара, в

противном случае питательная среда будет не полностью застывшей) и усвояемость ряда составляющих. Так же известно, что рН среды влияет на взаимодействие фага с бактериальными клетками.

В наших экспериментах, изучали рН со стартовым значением рН 6.0; 6.5; 7.0; 7.5; 8.0, которые были доведены с помощью 6 М HCl или 6 М NaOH.

Результаты опытов по изучению зависимости рН на лизогению бактериофагов ESKAPE, было обнаружено, что максимальная лизирующая активность была обнаружена при начальном значении рН среды 7.0, в котором эти численные значения достигали уровня 7.5 (рисунок 1).



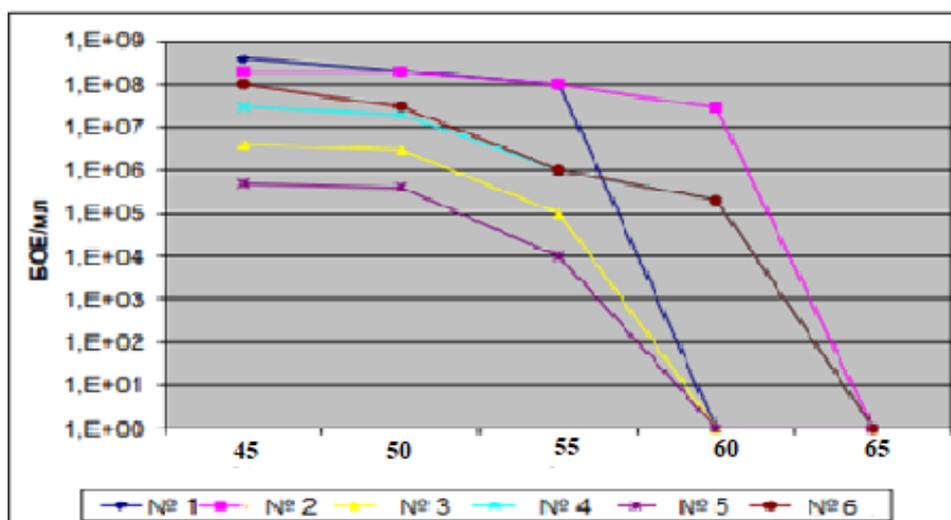
Рисунок 1 – Показатели водородных ионов бактериофагов ESKAPE

При изучении влияния изменений значений рН на активность бактериофагов ESKAPE установлено, что бактериофаги проявили высокую активность при значении рН в пределах от 6.0 до 8.0. При этом следует отметить, что щелочная среда буферного раствора незначительно повлияла на снижение лизирующей активности изучаемых бактериофагов.

Установлено, что все бактериофаги бактерий ESKAPE, дали лизис при значении рН 6.0 – 8.0. Решено в дальнейшей работе для культивирования бактериофагов и бактерий ESKAPE использовать значение рН 6.0 – 8.0.

Были проведены исследования по изучению температурной устойчивости выделенных бактериофагов против бактерий ESKAPE в диапазоне измеряемой температуры 50 – 85 °С с интервалом 5 °С в течение 30 мин.

Результаты по изучению температурной устойчивости отражены на рисунке 2 и таблице 2.



Примечания: № 1 – *Enterococcus faecium*, № 2 – *Staphylococcus aureus*, № 3 – *Klebsiella pneumoniae*, № 4 – *Acinetobacter baumannii*, № 5 – *Pseudomonas aeruginosa*, № 6 – *Enterobacter cloacae* Рисунок 2 – Температурная устойчивость бактериофагов

Количество негативных колоний после воздействия температуры 65 °С определяли в 1 мл методом агаровых слоев по методу Грациа (таблица 2).

Таблица 2 – Титр исследуемых бактериофагов при пороговой температуре культивирования

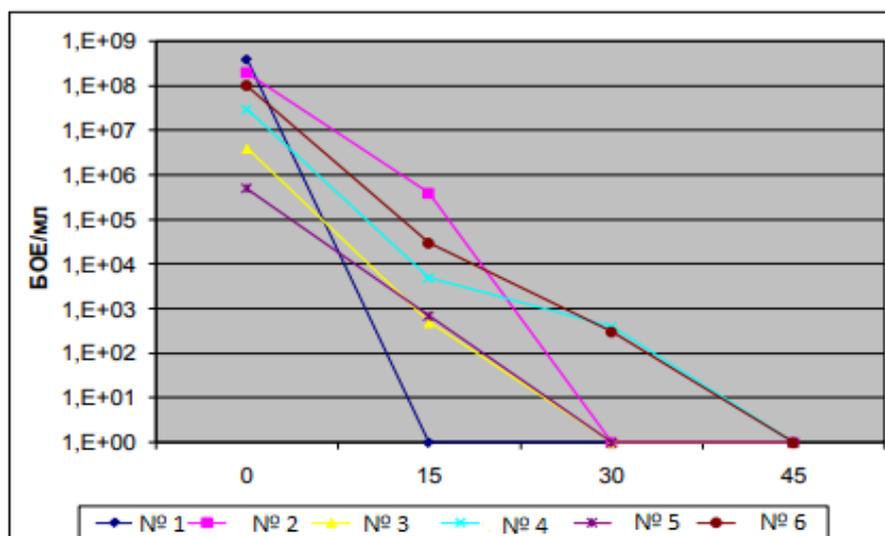
Название бактериофага	Температура °С	Титр исследуемых бактериофагов БОЕ/мл
№ 1 – <i>Enterococcus faecium</i>	60-65	5×10^8
№ 2 – <i>Staphylococcus aureus</i>	60-65	4×10^9
№ 3 – <i>Klebsiella pneumoniae</i>	60-65	5×10^9
№ 4 – <i>Acinetobacter baumannii</i>	60-65	3×10^8
№ 5 – <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	60-65	4×10^9
№ 6 – <i>Enterobacter cloacae</i>	60-65	4×10^8
Контроль активности фагов	-	4×10^8

Как видно из таблицы 2, прогревание фагов при 60-65 °С не оказало значительного влияния на содержание активных корпускул фага в 1 мл.

В результате исследований температурной устойчивости бактериофагов нами было установлено, что бактериофаги сохраняли свои исходные показатели титра при 65 °С. Затем, при каждом повышении температурного режима, наблюдалось снижение титра, на газоне индикаторной культуры формировался разреженный рост негативных колоний. Дальнейшее повышение температуры до 65-75 °С приводило к потере активности фагов, температура в пределах 75-95 °С вызывал полную инактивацию фагов. В чашках Петри на ГРМ агаре не было отмечено негативных колоний, вместо лизиса или отсутствовали негативные колонии фага.

Устойчивость бактериофагов к воздействию хлороформа. Из данных литературы известно, что большинство бактериофагов устойчивы к хлороформу. Поэтому данный химический агент является хорошим средством для освобождения фаголизата от жизнеспособных микроорганизмов.

В этой связи изучали влияние хлороформа на активность бактериофагов против бактерий ESKAPE. Результаты отражены на рисунке 3.



Примечания: № 1 – *Enterococcus faecium*, № 2 - *Staphylococcus aureus*, № 3 - *Klebsiella pneumoniae*, № 4 - *Acinetobacter baumannii*, № 5 - *Pseudomonas aeruginosa*, № 6 - представители семейства *Enterobacteriaceae*

Рисунок 3 – Устойчивость бактериофагов к воздействию хлороформа

Активность фагов проверяли методом агаровых слоев через каждые 15 мин (таблица 3).

Таблица 3 – Устойчивость бактериофагов к воздействию хлороформа

Бактериофаги	Обработка 15 мин	Обработка 30 мин	Обработка 45 мин	Обработка 60 мин
	выживаемость фагов %	выживаемость фагов %	выживаемость фагов %	выживаемость фагов %
	100	100	100	80

Таблица 4 - Устойчивость бактериофагов к воздействию хлороформа

Определение количество негативных колоний после воздействия хлороформом через 60 мин в 1 мл методом агаровых слоев по Грациа (таблица 2).

Бактериофаги	Экспозиция выдержки хлороформом, мин				Контроль активности БОЕ/мл
	15	30	45	60	
№ 1 – <i>Enterococcus faecium</i>	+	+	+	–	4×10^9
№ 2 – <i>Staphylococcus aureus</i>	+	+	+	–	4×10^7
№ 3 – <i>Klebsiella pneumoniae</i>	+	+	+	–	3×10^6
№ 4 – <i>Acinetobacter baumannii</i>	+	+	+	–	2×10^4
№ 5 – <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	+	+	+	–	3×10^8
№ 6 – <i>Enterobacter cloacae</i>	+	+	+	–	5×10^7

Примечание: «-» - отсутствие лизиса, «+» - лизис.

В результате все фаги были устойчивыми к хлороформу в течение 45 мин.

Обсуждение

Антибиотикотерапия, когда-то считавшаяся решенной проблемой здравоохранения при лечении инфекционных заболеваний, вновь стала глобальной проблемой, требующей неотложных действий. Важным является то, что многие ученые вновь увидели в фагах альтернативу антибиотикам.

Растущая потребность в противобактериальных препаратах требует неустанных и непрерывных исследований по поиску и открытию новых биологических агентов, адаптированных для борьбы с супербактериями. Проведенные нами испытания по созданию и изучению биологических свойств выделенных бактериофагов против бактерий ESKAPE позволяют раскрыть реальный потенциал их терапевтических эффектов при использовании в клинической практике. Это расширит наши знания о биологических событиях, лежащих в основе инфекционных заболеваний, и, можно надеяться, приведет к созданию более эффективных терапевтических средств.

Возможность получения активных фагов с высокой концентрацией частичек зависит от ряда условий: свойств среды, особенностей культуры и биологии самого фага. Классическим методом повышения активности фага является периодическое пассирование его на определенной культуре, в результате чего имеет место адаптация фага к хозяину, что выражается в повышении его урожайности на клетках, т. е. в увеличении его титра.

В этой связи нами были охарактеризованы некоторые биологические свойства (действие высокой температуры, устойчивость к воздействию хлороформа и изучение влияния изменений значений pH на активность бактериофагов), выделенных бактериофагов против бактерий ESKAPE.

Степень устойчивости бактериофагов и клеток хозяев к инактивирующим факторам физического воздействия, именно действие высокой температуры имеет теоретическое и практическое значение, поэтому при изучении биологических свойств фагов определение их чувствительности к таким агентам является обязательным.

Исследуемые бактериофаги обладают высокой температурной устойчивостью до 65 °С. При изучении влияния изменений значений pH на активность бактериофагов ESKAPE установлено, что бактериофаги проявили высокую активность в пределах от 6.0 до 8.0. При этом следует отметить, что щелочная среда незначительно влияла на снижение активности изучаемого бактериофагов. При этом нахождение бактериофага в кислой среде в большей степени отражалось на снижении его инфекционной способности.

Бактериофаги обычно устойчивы к хлороформу, чем клетки микроорганизмов, поэтому данный химический агент является хорошим средством для освобождения фаголизата от жизнеспособных бактерий.

Заключение

В качестве физического фактора мы изучали действие высокой температуры на бактериофаги, а в качестве химического - действие хлороформа.

В результате исследований температурной устойчивости нами было установлено, что прогревание фагов в течение 30 мин при 65 °С не оказывало влияния на их активность. Дальнейшее повышение температуры до 65-75° С приводит к потере активности фагов, температура в пределах 92-95 °С вызывает полную инактивацию фагов.

Изучаемые бактериофаги обладают высокой температурной устойчивостью до 60 °С, сохраняет активность при значении рН в пределах от 6.0 до 8.0, устойчивость к воздействию хлороформом в течение 45 мин.

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке Комитета науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (грант № BR218004/0223).

Литература

1. Laxminarayan R. Antibiotic resistance – the need for global solutionsv [Текст] / R. Laxminarayan A. Duse, C. Wattal, A.K. Zaidi, H.F Wertheim, N. Sumpradit [et al.] // The Lancet Infectious Diseases. - 2013.-V. 13(12). - P. 1057–1098. [URL: [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70318-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70318-9)].
2. Ayukekbong J A. The threat of antimicrobial resistance in developing countries: causes and control strategies [Текст] / J.A Ayukekbong, M. Ntemgwa, A.N. Atabe // Antimicrob Resist Infection Control. – 2017. V.15(6):47. [URL: <https://doi.org/10.1186/s13756-017-0208-x>].
3. Bloom DE, Cadarette D. Infectious Disease Threats in the Twenty-First Century: Strengthening the Global Response [Текст] / D.E Bloom, D. Cadarette // Frontiers in Immunology. – 2019. - V. 10:549. [<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00549>].
4. Collignon PJ. World Health Organization Ranking of Antimicrobials According to Their Importance in Human Medicine: A Critical Step for Developing Risk Management Strategies to Control Antimicrobial Resistance from Food Animal Production [Текст] / P. J, Collignon, J.M., Conly, A Andremont, S.A. McEwen, A. Aidara-Kane [et al.] // Clinical Infection Diseases. – 2016. - V. 63(8): - P.1087–1093. [URL: <https://doi.org/10.1093/cid/ciw475>].
5. Adeniji F. Global analysis of strategies to tackle antimicrobial resistance [Текст] / F. Adeniji International Journal Pharmacy Practice. – 2018. - V. 26(1). - P.85–89. [URL: <https://doi.org/10.1111/ijpp.12365>].
6. Veeraraghavan B. Antimicrobial susceptibility profile & resistance mechanisms of Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) priority pathogens from India [Текст] / B. Veeraraghavan, K. Walia // Indian Journal of Medical Research. – 2019. - V. 149(2). - P.87–96. [URL: https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_214_18].
7. Arepyeva MA. A mathematical model for predicting the development of bacterial resistance based on the relationship between the level of antimicrobial resistance and the volume of antibiotic consumption [Текст] / M. A. Arepyeva, A. S Kolbin, S. V. Sidorenko, R. Lawson, AA. Kurylev, Y. E. Balykina [et al.] // Journal of Global Antimicrobial Resistance. – 2017. - V. 8. - P.148–156. [URL: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.11.010>]
8. Mulani MS. Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review [Текст] / M.S. Mulani, E.E Kamble, S.N Kumkar, M.S Tawre, K.R Pardesi // Frontiers in Microbiology. – 2019. - V. 10:539. [URL: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00539>]
9. Santajit S. Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens [Текст] / S. Santajit, N. Indrawattana // BioMed Research International. – 2016. - V. (2). - P. 1–8. [URL: <https://doi.org/10.1155/2016/2475067>]
10. M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing An informational supplement for global application developed through the Clinical and Laboratory Standards Institute consensus process // 29 th Edition. - 2019.

11. Джиоев, Ю.П. Анализ проблемы «супербактерий» и современные подходы к ее решению [Текст] / Ю.П. Джиоев, В.И. Злобин, В.П. Саловарова, Л.А. Степаненко, О.Н. Рева, А.Ю. Борисенко, Н.П. Перетолчина, Ю.С. Букин // Известия Вузов. Прикладная химия и биотехнология. - 2019. - Том 9. - N 4.

12. Adeniji F. Global analysis of strategies to tackle antimicrobial resistance [Текст] / F. Adeniji // International Journal Pharmacy Practice. – 2018. - V. 26 (1). - P. 85–89. [URL: <https://doi.org/10.1111/ijpp.12365>].

13. Mulani MS. Emerging Strategies to Combat ESKAPE Pathogens in the Era of Antimicrobial Resistance: A Review [Текст] / MS. Mulani, EE. Kamble, SN. Kumkar, MS. Tawre, KR. Pardesi // Frontiers in Microbiology. – 2019. - V. 10:539. [<https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00539>].

14. Aslam, S. Lessons learned from the first 10 consecutive cases of intravenous bacteriophage therapy to treat multidrug-resistant bacterial infections at a single center in the United States [Текст] / S. Aslam, E. Lampley, D. Wooten, M. Karris, C. Benson, S. Strathdee [et al.] // Open Forum Infect. Dis. - 2020. V. 7: ofaa 389. [URL: [doi: 10.1093/ofid/ofaa389](https://doi.org/10.1093/ofid/ofaa389)].

References

1. Laxminarayan, R., Duse, A., Watal, C., Zaidi, A. K., Wertheim, H. F., Sumpradit, N., ... & others. (2013). Antibiotic resistance – the need for global solutions. *The Lancet Infectious Diseases*, 13(12), 1057–1098. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70318-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70318-9).

2. Ayukekbong, J. A., Ntemgwa, M., & Atabe, A. N. (2017). The threat of antimicrobial resistance in developing countries: Causes and control strategies. *Antimicrob Resist Infection Control*, 15(6), 47. <https://doi.org/10.1186/s13756-017-0208-x>.

3. Bloom, D. E., & Cadarette, D. (2019). Infectious disease threats in the twenty-first century: Strengthening the global response. *Frontiers in Immunology*, 10, 549. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00549>.

4. Collignon, P. J., Conly, J. M., Andremon, A., McEwen, S. A., Aidara-Kane, A., ... & others. (2016). World Health Organization ranking of antimicrobials according to their importance in human medicine: A critical step for developing risk management strategies to control antimicrobial resistance from food animal production. *Clinical Infectious Diseases*, 63(8), 1087–1093. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw475>.

5. Adeniji, F. (2018). Global analysis of strategies to tackle antimicrobial resistance. *International Journal of Pharmacy Practice*, 26(1), 85–89. <https://doi.org/10.1111/ijpp.12365>.

6. Veeraraghavan, B., & Walia, K. (2019). Antimicrobial susceptibility profile & resistance mechanisms of Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (GLASS) priority pathogens from India. *Indian Journal of Medical Research*, 149(2), 87–96. https://doi.org/10.4103/ijmr.IJMR_214_18.

7. Arepyeva, M. A., Kolbin, A. S., Sidorenko, S. V., Lawson, R., Kurylev, A. A., Balykina, Y. E., ... & others. (2017). A mathematical model for predicting the development of bacterial resistance based on the relationship between the level of antimicrobial resistance and the volume of antibiotic consumption. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 8, 148–156. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.11.010>.

8. Mulani, M. S., Kamble, E. E., Kumkar, S. N., Tawre, M. S., & Pardesi, K. R. (2019). Emerging strategies to combat ESKAPE pathogens in the era of antimicrobial resistance: A review. *Frontiers in Microbiology*, 10, 539. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00539>.

9. Santajit, S., & Indrawattana, N. (2016). Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *BioMed Research International*, (2), 1–8. <https://doi.org/10.1155/2016/2475067>.
10. M100 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. (2019). *An informational supplement for global application developed through the Clinical and Laboratory Standards Institute consensus process* (29th ed.).
11. Djioev, Y. P., Zlobin, V. I., Salovarova, V. P., Stepanenko, L. A., Reva, O. N., Borisenko, A. Y., Peretolchina, N. P., & Bukin, Y. S. (2019). Analysis of the problem of "superbugs" and modern approaches to solving it. *Izvestiya Vuzov. Applied Chemistry and Biotechnology*, 9(4).
12. Adeniji, F. (2018). Global analysis of strategies to tackle antimicrobial resistance. *International Journal of Pharmacy Practice*, 26(1), 85–89. <https://doi.org/10.1111/ijpp.12365>.
13. Mulani, M. S., Kamble, E. E., Kumkar, S. N., Tawre, M. S., & Pardesi, K. R. (2019). Emerging strategies to combat ESKAPE pathogens in the era of antimicrobial resistance: A review. *Frontiers in Microbiology*, 10, 539. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00539>.
14. Aslam, S., Lampley, E., Wooten, D., Karris, M., Benson, C., Strathdee, S., ... & others. (2020). Lessons learned from the first 10 consecutive cases of intravenous bacteriophage therapy to treat multidrug-resistant bacterial infections at a single center in the United States. *Open Forum Infectious Diseases*, 7, ofaa 389. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofaa389>.

ESKAPE ПАТОГЕНДЕРІНЕ ҚАРСЫ БАКТЕРИОФАГТАРДЫҢ БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІН ЗЕРТТЕУ

Н. Сырым*^{ORCID}, Б.А. Еспембетов^{ORCID}, А.М. Анарбекова^{ORCID}, Н.Н. Зинина^{ORCID},
С.Е. Алпысбаева^{ORCID}, М.К. Сармыкова^{ORCID}, Е.Б. Серікбай^{ORCID}, А.Р. Әбдімұхтар^{ORCID}, А.Т.
Толуехан^{ORCID}, М.М. Мауленбаева^{ORCID}, Б.Б. Ержігіт^{ORCID}, А.Ә. Абдықалық^{ORCID}, А.Д. Мауленбай^{ORCID}

«Биологиялық қаіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС,
Гвардейский қтк, Қазақстан
*n.syrum@biosafety.kz

Аннотация. Әлемдік денсаулық сақтау үшін ең үлкен қауіптер тізімінде МЛҮ штамдары тудыратын бактериялық инфекциялар. Ең көп төзімділік жағдайлары ESKAPE деп аталатын қоздырғыштардың арасында анықталады (бастапқы әріптерден *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* және *Enterobacter spp.*). Бұл топтағы бактериялар өмірге қауіп төндіретін ауруханаішілік инфекцияларды тудырады, әсіресе иммунитеті төмен және созылмалы аурулары бар адамдарда. Мақалада фаг терапиясының негіздемелері, клиникалық проблемалар қарастырылып, фаготерапия ESKAPE патогендеріне қарсы тиімді құрал ретінде ұсынылған, олардың кейбір биологиялық қасиеттері сипатталған (жоғары температураның әсері, хлороформның әсеріне төзімділік және рН мәндерінің өзгеруінің бактериофагтардың белсенділігіне әсерін зерттеу). Физикалық фактор ретінде жоғары температураның әсері, ал химиялық ретінде хлороформның әсері зерттелді. Фагтардың температураға төзімділігін зерттеу нәтижесінде 60 °C температурада 30 минут қыздыру олардың белсенділігіне әсер етпейтінін, рН мәні 7.0-ден 7.5-ке дейін белсенді болатынын, 40 минут ішінде хлороформға

төзімді екенін анықтадық. Буферлік ерітіндінің сілтілі ортасында зерттелетін бактерияфактардың белсенділігі шамалы төмендеуін атап өткен жөн. Ал қышқыл ортада бактерияфактардың инфекциялық қабілетінің төмендеуіне көбірек әсер ететіні көрсетілді.

Түйін сөздер: микробиология; бактериялар; бактериофагтар; ESKAPE-патогендер.

STUDYING THE BIOLOGICAL PROPERTIES OF BACTERIOPHAGES AGAINST ESKAPE PATHOGENS

N. Syrym^{ID}*, B.A. Espembetov^{ID}, A.M. Anarbekova^{ID}, N.N. Zinina^{ID}, S.E. Alpysbayeva^{ID}, M.K. Sarmykova^{ID}, E.B. Serikbay^{ID}, A.R. Abdimukhtar^{ID}, A.T. Toleukhan^{ID}, M.M. Maulenbaeva^{ID}, B.B. Erzhigit^{ID}, A.A. Abdykalyk^{ID}, A.D. Maulenbay^{ID}

«Research Institute for Biological Safety Problems» LLP, Gvardeysky, Kazakhstan

*n.syrym@biosafety.kz

Abstract. Bacterial infections caused by multidrug-resistant (MDR) strains are among the most dangerous threats to global public health. The highest number of resistance cases is detected among the so-called ESKAPE pathogens (from the initials of *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Enterobacter* spp.). These bacteria cause life-threatening nosocomial infections, especially in individuals with weakened immune systems and chronic diseases. The article discusses the rationale for phage therapy, clinical problems, and proposes phage therapy as an effective means against ESKAPE pathogens. It characterizes some of their biological properties (effect of high temperature, resistance to chloroform exposure, and the impact of pH changes on bacteriophage activity). High temperature was studied as a physical factor, and chloroform exposure as a chemical factor affecting bacteriophages. The study found that heating phages for 30 minutes at 60°C did not affect their activity. They maintained activity within a pH range of 7.0 to 7.5 and were resistant to chloroform exposure for 40 minutes. It should be noted that the alkaline environment of the buffer solution slightly affected the activity of the studied bacteriophages, while the acidic environment had a more significant impact on reducing their infectivity.

Keywords: microbiology; bacteria; bacteriophages; ESKAPE pathogens.

ENSURING BIOLOGICAL SAFETY AND BIOSECURITY IN HANDLING PATHOGENIC MICROORGANISMS AT THE RESEARCH INSTITUTE OF BIOSAFETY AND BIOSECURITY

K.K. Jekebekov^{ID*}, K.A. Shorayeva^{ID}, B.K. Burabayev, S.U. Moldagulova^{ID},
D.R. Taboldiev^{ID}

LLP «Research Institute for Biological Safety Problems», Gvardeysky, Kazakhstan
*zhekebekov_87@mail.ru

Abstract. This article summarizes the experience of the Research Institute for Biological Safety Problems (RIBSP) in ensuring biological safety and biosecurity when handling pathogens of especially dangerous and exotic animal diseases, including zoonotic diseases. All aspects of the facility's safe operation are critically analyzed, including engineering, technical, and technological support, personnel training requirements, protocols for handling highly dangerous pathogens, specific preventive measures, and the regulatory framework. The article highlights the RIBSP's compliance with modern BS and biosecurity standards, which ensures the facility's sustainability in these areas.

Keywords: biological safety; biosecurity; pathogenic microorganisms; personnel; biological risk.

Introduction

The study of pathogenic biological agents (PBA) is inherently associated with the risk of laboratory accidents, which can lead to infection of personnel and the potential release of pathogens outside the laboratory [1-5]. Throughout the history of microbiological and virological research, cases of laboratory-acquired infections have been recorded, highlighting the occupational hazards and professional risks associated with such work [4, 5]. From 2000 to 2021, there were 16 documented instances of pathogenic microorganism leaks from laboratories, 37.5% involving bacteria and 62.5% involving viruses. One of the largest incidents occurred in 2019 when an outbreak of brucellosis affected 10 528 individuals due to a leak at a pharmaceutical plant in Lanzhou, China [6]. Such incidents are generally attributed to breaches in biosafety protocols or insufficient oversight by biosafety services in laboratories and related institutions [6].

According to the World Health Organization (WHO), more than 200 zoonotic diseases are known, and it is estimated that 60% of all human infectious diseases are zoonotic in origin. Moreover, 75% of emerging infectious diseases in humans are of animal origin, and 80% of pathogens with potential bioterrorism applications are zoonotic [7]. The cultivation of microorganisms for research, vaccine development, and diagnostic purposes carries inherent risks of environmental contamination. Activities such as handling pathological materials, preparing virus-containing suspensions, and analyzing biological samples also present significant biosafety challenges [1, 4, 6].

The issues of biosafety and biosecurity for laboratory personnel and the environment have become increasingly urgent with advancements in microbiology, genetic engineering, and the expansion of the microbiological industry. This urgency is further heightened by the potential for

the use of biological agents in acts of terrorism [1, 4, 8]. In this context, the potential consequences of both accidental and intentional releases of microorganisms into the environment must be carefully considered, along with preparedness for managing such events [5, 9]. Therefore, the primary principle for ensuring the safe operation of laboratories handling pathogenic microorganisms is the establishment of biosafety and biosecurity measures that are proportional to the biological risks. It is essential to fully understand the risks involved in working with microorganisms, recognize the mechanisms that can lead to hazardous situations, employ safe work practices, and remain vigilant against potential errors [3, 4, 5, 9, 10].

The purpose of this study is to assess the biological risks associated with working with pathogenic microorganisms, evaluate the compliance of existing engineering and technical systems with biosafety and biosecurity requirements, and analyze the current training programs for personnel handling especially dangerous pathogens. The study also aims to review the regulatory framework that governs the safe operation of research institutes.

Materials and Methods

This study utilized comparative analysis to evaluate existing engineering and technical systems for compliance with biosafety and biosecurity requirements. We also assessed the protocols followed by personnel working with especially dangerous pathogens. The organizational measures examined included the coordination of safety systems, the regulation of procedures, and the rules for handling pathogenic microorganisms.

We monitored the functionality and effectiveness of biosecurity systems and observed personnel adherence to safety protocols. In evaluating the functioning of the facility, we placed particular emphasis on the timely implementation of measures to maintain sanitary conditions (e.g., disposal of biological waste, disinfection, deratization, and sanitation of premises) in accordance with the applicable norms and regulations of the Republic of Kazakhstan. The handling, accounting, storage, and transportation of pathogenic microorganisms in the laboratories of the Research Institute for Biological safety problems (RIBSP) were compared with the requirements of the relevant sanitary and veterinary guidelines approved in Kazakhstan. We also assessed the medical care and periodic health examinations provided to employees involved in these experiments.

Research Results and Discussion

The handling, registration, storage, and transportation of microorganisms at the RIBSP are regulated by the following legal documents:

- Order of the Minister of Healthcare of the Republic of Kazakhstan No. ҚР ДСМ-125 dated November 2, 2022, “On the Approval of Rules for Ensuring Biological Protection”;
- Law of the Republic of Kazakhstan No. 122-VII ЗРК dated May 21, 2022, “On Biological Safety of the Republic of Kazakhstan”.

The establishment of the institute was driven by the necessity to develop methods for protecting the southern borders of the USSR, the republics of Central Asia, and Kazakhstan from highly dangerous, especially exotic, infectious diseases affecting agricultural animals and plants that could be brought from neighboring countries.

Following Kazakhstan's independence, the RIBSP was one of the first in the country to tackle the challenges of biological safety [11]. In line with its research agenda and international programs, the institute conducts virological, microbiological, molecular genetic, biochemical, and immunological studies on microorganisms from pathogenicity groups II-IV, including pathogens of

particularly dangerous infectious diseases affecting animals and birds. The institute also investigates museum, natural, and vaccine strains, determining their virulence and immunogenicity through experiments on model laboratory animals and naturally susceptible species [12].

In compliance with sanitary regulations, the institute's laboratories are divided into three zones according to the level of danger to personnel: "infectious", "conditionally infectious" and "clean". For handling pathogenic biological agents, the institute is equipped with BSL-2 and BSL-3 laboratories. To ensure personnel safety and prevent the release of dangerous pathogens into the environment, engineering provisions for biological safety were implemented from the initial design phase of the laboratory buildings. This includes a robust filtration and ventilation system, zoning of containment areas, a wastewater disinfection system, and local sanitary checkpoints for employees.

Modern methods for studying dangerous and highly dangerous pathogens are supported by a comprehensive biosafety and biosecurity system. These systems aim to mitigate the risk of infection and prevent the release of microorganisms beyond laboratory or institute boundaries. Biosecurity is enhanced by an integrated access control system, and laboratories are equipped with containment boxes, antechambers, workrooms, and auxiliary rooms for preparing glassware and solutions. The institute also has an exhaust and supply ventilation system with HEPA filters, as well as a sewage system with local reservoirs that prevent uncontrolled releases of pathogens. Wastewater and liquid waste undergo a three-stage chemical disinfection process. All work with experimental animals is conducted in specialized vivariums (isolators).

The safety of operations involving microorganisms at the RIBSP is ensured through a variety of measures, including:

- Territorial restrictions;
- Categorization of laboratory work areas;
- Sealing of laboratory enclosures;
- Maintenance of appropriate air exchange rates and airflow direction in laboratories;
- Use of biological safety cabinets, laminar flow hoods, and containment rooms;
- Disinfection of liquid and solid biowaste;
- Ensuring the proper functioning of life-support systems [1, 5, 9, 12].

According to the "Law on Biological Safety of the Republic of Kazakhstan", working safely with pathogenic microorganisms requires specialized training and extensive experience for personnel. This is a critical condition for ensuring both biosafety and biosecurity when handling especially dangerous infections. One of the primary goals is to develop practical skills for safe handling of pathogens and ensure compliance with biosecurity protocols at facilities where highly dangerous biological agents are managed. Furthermore, preventing the unauthorized movement and removal of pathogens from these facilities is a key objective [5, 9].

In the RIBSP, training programs, seminars, professional education, re-training, and advanced training in biological safety are conducted by certified specialists and organizations accredited according to the legislation of the Republic of Kazakhstan. Within the framework of international projects, the Defense Threat Reduction Agency (DTRA) organizes training sessions on biosafety and biosecurity, emergency response during research in BSL-3 conditions, and laboratory skills required for working in BSL-3 laboratories. Additionally, mentoring is highly valued at the RIBSP, where senior scientists—who have safely worked with pathogenic materials—enthusiastically share their invaluable experience and knowledge with the younger generation of specialists. This mentoring significantly contributes to compliance with biosafety and biosecurity requirements when working with pathogens.

An analysis of the scientific work conducted at the RIBSP shows that adhering to biosafety protocols and conducting biological risk assessments simplifies the identification of root causes of incidents, thus preventing their recurrence. Training programs provided to staff have helped assess their competence in handling dangerous pathogens. The institute's medical and sanitary control system also plays a key role in assessing risks for personnel engaged in different types of scientific and industrial activities, identifying suitable personal protective equipment (PPE), and planning the procurement of immunoprophylactic drugs [13].

Three key aspects contribute to ensuring work safety: organizational and control measures, engineering and technical solutions, and medical-biological measures. These aspects are interrelated and interdependent. A comprehensive approach to the development and implementation of clearly regulated procedures is crucial for addressing these safety challenges effectively [14].

To enhance the importance of biosafety and biosecurity in research on pathogenic biological agents, new regulatory documents and standard operating procedures (SOPs) are continuously updated and developed across laboratories and departments. Regular audits of laboratories are conducted to ensure compliance with biosafety and biosecurity standards.

The RIBSP is equipped with a modern laboratory and technical infrastructure, including BSL-2 and BSL-3 facilities that fully comply with WHO requirements for working with dangerous human and animal pathogens. Engineering, technical, and medical-biological measures, when adequately funded, ensure the safety of both personnel and the environment by maintaining engineering systems in optimal working condition, as well as carrying out timely routine and preventive repairs. These measures also include biosafety protocols for working with laboratory and farm animals, conducting bioassays, and studying particularly dangerous infections circulating in Kazakhstan. Moreover, they are critical in responding to the emergence of new exotic viral diseases, which is especially relevant today. The standard protocol for assessing biological risks in laboratories and isolation wards for experimental animals is currently being refined. This protocol helps assess the risk of personnel infection, taking into account the laboratory's equipment, engineering, and technical characteristics, as well as the qualifications of staff. It also factors in the characteristics of the pathogen and the risks of uncontrolled spread. The protocol is designed to identify biological risks and outline measures to reduce or eliminate them effectively.

Conclusion

The measures implemented at the institute ensure a high level of biosafety and biosecurity, protecting laboratory personnel and preventing the release of pathogenic biological agents from the RIBSP. Today, the institute stands as a leading scientific institution in Kazakhstan in the fields of veterinary and medical virology, genetic engineering, and biotechnology. The team of scientists at the institute generates innovative scientific ideas, develops new biotechnologies, and manages the production of vaccines and other biopreparations. As a small biotechnological cluster, the institute is capable of independently addressing biosafety challenges posed by dangerous pathogens [15].

Reference

1. A practical guide to laboratory biosafety (fourth edition). World Health Organization. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/365602/9789240059283-rus.pdf>
2. Sarankina Yu.A. Biological terrorism: concept, essence and main directions of counteraction // Crimean scientific bulletin No. 4 (10). - 2016. - P. 3 - 12.

3. Akmatova E.K., Abdylidaeva R.T., Otorova A.A., Kamarli A.A., Atambekova Zh.A. Issues of biological safety and biological protection in the work of veterinary laboratories // Bulletin of KNAU named after K.I. Skryabin No. 1 (37). - 2016. - P.175-180.
4. Abugalieva Zh.G., Iskakova F.A., Begimbaeva E.Zh., Utesheva G.S. Issues of biological safety and biosecurity in modern conditions // Bulletin of KazNMU No. 2. - 2020. - P. 392-396.
5. Burabaev B.K., Dzhekebekov K.K., Ulankyzy A., Dzhaldybaeva A.E., Umuraliev B.K. Biological Risk Management at the Research Institute for Biological Safety Problems // Scientific Journal Biosafety and Biotechnology NIIPB No. 1. - 2020. - P. 10-11.
6. Pathogen leaks from laboratories. – 2024 [Electronic resource]. Access mode:<https://rtvi.com/news/laborant-sluchajno-ukololsya-shpriczem-uchenye-podschitali-utechki-p-atogenov-iz-laboratorij-mira>.
7. Zoonoses. – 2024 [Electronic resource]. Access mode: <https://rr-europe.woah.org/ru/>.
8. Huasong Peng, Muhammad Bilal, Hafiz M N Iqbal Improved Biosafety and Biosecurity Measures and/or Strategies to Tackle Laboratory-Acquired Infections and Related Risks // J. Environ. Res. Public Health 15(12). – 2018., <https://doi.org/10.3390/ijerph15122697>.
9. Law of the Republic of Kazakhstan dated May 21, 2022 No. 122-VII ZRK «On biological safety of the Republic of Kazakhstan».
10. Order of the Minister of Health of the Republic of Kazakhstan dated November 2, 2022 No. ҚР ДСМ-125 «On approval of the rules for ensuring biological protection».
11. Mamadaliev S.M., Matveeva V.M., Koshemetov Zh.K., Khairullin B.M., Orynbaev M.B., Sandybaev N.T., Kydyrbaev Zh.K., Zaitsev V.L., Zhilin E. S., Nurabaev S.Sh., Koryagina M.I. Monitoring of especially dangerous viral diseases of animals and birds on the territory of the Republics of Central Asia // Current issues of veterinary biology No. 2 (6). – 2010. – P. 3-10.
12. Research Institute for Biological Safety Problems [Electronic resource]. Access mode: <https://biosafety.kz>
13. International Standard for Laboratory Biorisk Management CWA15793:2008.
14. Abieva A.A., Seiduanova L.B. Biological safety when working with biomaterial in laboratories // West Kazakhstan Medical Journal 63 (4). - 2021. - P. 175-183.
15. Research Institute for Biological Safety Problems. History of creation and development / author's coll.: Zh.K. Koshemetov, M. Mambetaliev, V.L. Zaitsev [et al.]; ed. by Koshemetov Zh.K. 2nd edition, supplemented. – Almaty, 2023.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ И БИОЗАЩИТА ПРИ РАБОТЕ С ПАТОГЕННЫМИ МИКРООРГАНИЗМАМИ В НИИПББ

К.К. Джекебеков*, **К.А. Шораева**, **Б.К. Бурабаев**, **С.У. Молдагулова**,
Д.Р. Таболдиев

ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности»,
пгт Гвардейский, Казахстан
*zhekebekov_87@mail.ru

Аннотация. В статье представлены материалы, обобщающие опыт работы Научно – исследовательском институте проблем биологической безопасности (НИИПББ) по

обеспечению биологической безопасности (ББ) и биозащиты (БЗ) при работе с возбудителями особо опасных и экзотических болезней животных, включая антропоозоозы. Критически проанализированы все аспекты безопасного функционирования объекта - инженерно-техническое и технологическое обеспечение, требования к подготовке персонала и проведения работ с возбудителями особо опасных болезней, специфической профилактике и нормативно-правовой базе. Отмечено соответствие НИИПББ современным требованиям ББ и БЗ, что позволяет обеспечивать устойчивость объекта в данных областях.

Ключевые слова: биологическая безопасность; биозащита; патогенные микроорганизмы; персонал; биологический риск.

БҚПҒЗИ ПАТОГЕНДІ МИКРООРГАНИЗМДЕРМЕН ЖҰМЫС ІСТЕУ КЕЗІНДЕГІ БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАУІПСІЗДІК ЖӘНЕ БИОҚОРҒАНЫС

К.К. Джекебеков*^{id}, К.А. Шораева^{id}, Б.К. Бурабаев, С.У. Молдагулова^{id},
Д.Р. Таболдиев^{id}

«Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС,
Гвардейский қтк, Қазақстан
*zhekebekov_87@mail.ru

Аннотация. Мақалада жануарлардың аса қауіпті және экзотикалық ауруларының қоздырғыштарымен, сонымен қатар антропоозооздармен жұмыс істеу кезінде биологиялық қауіпсіздікті (БҚ) және биоқорғанысты (БК) қамтамасыз етудегі Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институтының (БҚПҒЗИ) тәжірибесін айқындайтын материалдар ұсынылған. Объектіні қауіпсіз пайдаланудың барлық аспектілері – инженерлік-техникалық және технологиялық қамтамасыз ету, персоналды оқытуға және аса қауіпті аурулардың қоздырғыштарымен жұмыс істеуге қойылатын талаптар, спецификалық алдын алу және нормативтік-құқықтық база салыстырмалы тұрғыдан талданды. БҚПҒЗИ биологиялық қауіпсіздік және биоқорғаныста заманауи талаптарға сәйкес келетіні атап өтілді, бұл осы тұрғыда объектінің тұрақтылығын қамтамасыз етуге мүмкіндік береді.

Түйін сөздер: биологиялық қауіпсіздік; биоқорғаныс; патогенді микроорганизмдер; персонал; биологиялық қауіп.

ОЦЕНКА МЕТОДОВ ДЕТЕКЦИИ МИКОПЛАЗМЕННОЙ КОНТАМИНАЦИИ КЛЕТОЧНЫХ КУЛЬТУР И ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТИВОМИКОПЛАЗМЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ

А.К. Наханов^{ID}, А.А. Терейбай*^{ID}, Л.Г. Мараховская^{ID}, С.К. Коканов^{ID},
Б.А. Сейдахметова^{ID}

ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности»
пгт. Гвардейский, Казахстан
*a.terebay@biosafety.kz

Аннотация. В данной статье представлены результаты исследования по обнаружению микоплазменной инфекции в различных клеточных линиях и оценке эффективности противомикоплазменных препаратов. Для обнаружения микоплазм в культурах клеток использовали методы окрашивания ДНК флюорохромами (DAPI, Apollo Scientific) наборы Plasmotest™ (Invivogen, France), MycoStrip (Invivogen, France) и EZ-PCR™ (Biological Industries, Israel) рекомендуемые при выявлении микоплазм в культуре клеток. На основании полученных результатов исследований, было установлено, что, противомикоплазменные препараты MycoZap (Lonza Bioscience), Plasmocin (Invivogen, France), MRA (BIO-RAD) и BM-Cyclin (Roche) эффективны в борьбе с микоплазменной контаминацией культур клеток. Метод детекции микоплазм ДНК-флюорохромами определение наличия микоплазмы может быть субъективным, так как его чувствительность к микоплазмам низкая. В свою очередь набор MycoStrip может давать ложноотрицательный результат ввиду наличия микоплазм не входящих в список обнаруживаемых видов этого набора. Положительные и отрицательные результаты Plasmotest™ точно коррелировали с результатами EZ-PCR™. При подозрении на наличие микоплазменной контаминации для предварительного анализа можно использовать метод окрашивания ДНК и набор MycoStrip, а для окончательного подтверждения Plasmotest™ и EZ-PCR.

Ключевые слова: клеточные культуры; MDCK; MDBK; BHK-21 C-13; Vero; микоплазмы; детекция микоплазм; элиминация.

Введение

Микоплазмы известны как случайные микробные контаминанты клеточных культур и представляют собой серьезную проблему в отношении риска заражения для исследовательских лабораторий и коммерческих предприятий, разрабатывающих и производящих биологические и биофармацевтические продукты клеточного происхождения. Чтобы свести к минимуму эти риски, во время производства биологических препаратов, производимых на субстратах клеточных культур, проводится мониторинг посторонних агентов, таких как вирусы и микоплазмы. «Золотым стандартом» обнаружения микоплазм является микробиологический анализ, рекомендованный в настоящее время USP, EP, JP и FDA США, включает культивирование жизнеспособных микоплазм в бульоне, агаре и индикаторных клетках. Хотя эта процедура обеспечивает высокоэффективное обнаружение микоплазм в клеточных субстратах и продуктах клеточного происхождения, общая стратегия

тестирования требует много времени (минимум 28 дней) и высококвалифицированной интерпретации результатов. Длительный период времени, необходимый для этих традиционных анализов, не позволяет использовать их для продуктов с коротким сроком хранения или для своевременного принятия решений во время рутинных внутрипроизводственных испытаний. Кроме того, некоторые микоплазмы в особенности гемотропные микоплазмы не растут на питательных средах.

Существенной проблемой, при выявлении контаминации микоплазмами, является их устойчивость к традиционным антибиотикам по причине отсутствия клеточной стенки. Контаминация микоплазмами культур клеток млекопитающих может достигать до 70% [1]. Загрязнение может привести к катастрофическим последствиям, поскольку имеет тенденцию изменять клетки на молекулярном уровне и ставит под угрозу ценность клеточных линий для получения точных данных при медико-биологических исследованиях. Микоплазменная контаминация может вызывать изменения в клеточных параметрах (хромосомные аберрации, изменения в метаболизме и росте клеток и т.д.), что приводит к ненадежным экспериментальным данным и потенциально опасным биологическим продуктам [2, 3]. В лабораториях заражение обычно происходит одними и теми же видами микоплазм и это доказывает, что микоплазменные инфекции часто передаются из одной культуры в другую [4, 5]. Несмотря на наличие множества современных диагностических методов, микоплазменные контаминации до сих пор являются серьезной проблемой для большинства лабораторий. Во многих исследованиях были обнародованы результаты проверки на наличие микоплазменной контаминации коллекций клеточных культур в лабораториях ряда стран. Оказалось, что в США более 15% культур инфицировано микоплазмами, в Японии – 80%, в Аргентине – 65%, в Израиле – 32%. Истинная распространенность микоплазменной инфекции клеточных культур может быть выше, чем публикуемые данные, так как чувствительность методов, используемых для тестирования, различна [6].

Оптимальным вариантом решения проблемы для культур клеток, инфицированных микоплазмами, является утилизация инфицированных культур и замена их свежими чистыми запасами [7]. Такой подход не всегда может быть осуществим, в связи с чем был разработан широкий спектр различных методов элиминации [8, 9]. Технически простой альтернативой и в целом наиболее практичным способом решения этой проблемы является обработка специализированными антибиотиками.

В данной статье представлен опыт успешной детекции и обработки клеток с микоплазменной инфекцией в различных клеточных линиях.

Материалы и методы

В данной работе были использованы культуры клеток MDCK, MDBK, ВНК-21 и Vero. Данные клеточные линии были получены в 1970-1998 гг. и хранятся отдельно в банке культур клеток. MDCK – культура клеток почки собаки, MDBK – культура клеток почки молодого бычка, ВНК-21 – культура клеток почки новорожденного сирийского хомячка, Vero – культура клеток почки африканской зеленой мартышки.

Культуры клеток MDCK, MDBK, ВНК-21 и VERO размораживали в культуральные матрасы площадью 75 см² в питательной среде DMEM (НИИПББ) с добавлением 10% фетальной сыворотки (Serpicorn). Культивировали в стандартных условиях при 37°C, с 5% CO₂ и при 90% влажности. После образования клеточного монослоя, отбирали пробы для выявления микоплазменной контаминации.

Детекция микоплазм

Для выявления микоплазм использовали: ПЦР-анализ, окрашивание ДНК-флуорохромом, наборы Plasmotest™ (Invivogen) и MycoStrip (Invivogen).

Для проведения ПЦР использовали коммерческий набор EZ-PCR™ Mycoplasma Detection Kit (Biological Industries) и определение состояло из 3 этапов:

- подготовка проб культур клеток к постановке ПЦР. Пробный образец готовили путем осаждения микоплазм при 15000-20000 g в течение 10 мин. Нагревали до 95°C в течение 3 мин;

- амплификация микоплазменного консервативного участка гена 16S с использованием готовых компонентов набора;

- обнаружение амплифицированного ПЦР продукта в агарозном геле с помощью электрофорезной детекции [10].

Для окрашивания ДНК-флуорохромами использовали красители Hoechst 33258, который окрашивает структуру ДНК. При этом клетки выращивали на покровных стеклах в течение 48 час. Препарат фиксировали в смеси этанола и ледяной уксусной кислоты (3:1), добавляя 3-4 капли фиксатора в культуральную среду на 2-3 мин. Затем среду удаляли и добавляли свежий фиксатор и фиксировали еще 5 мин. После удаления фиксатора препарат высушивали на воздухе и наносили на 10-15 мин раствор красителя Hoechst 33258. Затем дважды промывали дистиллированной водой и высушивали. Анализ препаратов проводили с помощью флуоресцентного микроскопа AxioScope A1 (ZEISS) с ПО Zen при 400-1000-кратном увеличении с масляной иммерсией [11].

Детекцию микоплазм в культуре клеток с использованием набора MycoStrip проводили согласно инструкции производителя. Вкратце, для подготовки проб в микропробирку объемом 2 см³ помещали 1000 мкл супернатанта клеточной культуры, центрифугировали при 16000 g в течение 5 мин для осаждения микоплазм, удаляли надосадочную жидкость и оставляли 50 мкл к которому добавляли 500 мкл стерильного PBS. Для проведения реакции в пробирку объемом 2 см³ добавляли 5 мкл Реакционного буфера и пробы или контроля. Инкубировали при 65⁰С в течение 40 мин и затем добавляли 200 мкл Миграционного буфера из набора. Смесь тщательно перемешивали и 100 мкл капали на лунку тест полоски. Оценку результатов теста проводили в течение последующих 5 мин. При этом на тестовой полоске, промаркированной буквами «С» и «Т» проявляется различная по интенсивности красная полоса.

Выявление микоплазм набором Plasmotest™ также проводили согласно инструкции производителя. При этом, отбирали 500 мкл супернатантов клеточных культур для проверки и переносили в микропробирку. Нагревали образцы при 100°C в течение 15 мин. Готовили НЕК-Blue™ Detection растворив порошок в 50 см³ НЕК-Blue™ воды. Добавляли по 50 мкл каждого нагретого образца в лунку 96-луночного планшета и добавляли 50 мкл каждого поставляемого контроля в лунку 96-луночного планшета. Готовили клеточную суспензию НЕК-Blue™-2, используя предварительно подогретую среду НЕК-Blue™ Detection. Добавляли 200 мкл (~50 000 клеток) клеточной суспензии в каждую лунку, содержащую образцы. Инкубировали планшет при 37°C в инкубаторе с CO₂ в течение 16-24 часов. Лунки содержащие образцы с микоплазмами окрашиваются в пурпурно синий цвет.

Элиминация микоплазм

Для элиминации культур клеток от микоплазм использовали препараты MycoZap, Plasmocin, Mycoplasma Removal Agent и BM Cyclin.

Реагент MycoZap™ представляет собой комбинацию антибиотиков и антиметаболических средств, предназначенных для устранения микоплазменной контаминации культур клеток. Обработка первым реагентом (MycoZap-1) проводилась в среде, содержащей не более 5% сыворотки. Последующая обработка проводилась вторым реагентом (MycoZap-2) в среде, содержащей нормальное количество сыворотки. Для наиболее эффективной элиминации использовали суспензию отдельных клеток. К 2 см³ среды добавляли 200 мкл MycoZap-1 и отдельно к 4 см³ среды добавляли 200 мкл MycoZap-2. Разливали по 0,3 см³ в лунки MycoZap-1 и инкубировали 6 сут. В дальнейшем добавляли в среду по 0,3 см³ в лунки MycoZap-2 и также инкубировали 6 сут. Снимали клетки с сосудов и в среду добавляли MycoZap-2 по 0,3 см³ в лунки. После окончания третьей обработки реагентом MycoZap-2 отбирали пробы для проведения анализов на наличие микоплазм.

Mycoplasma Removal Agent (MRA) представляет собой антибиотик широкого спектра действия, содержащий производное 4-оксохиолин-3-карбоновой кислоты. Готовили 20 см³ среды и добавляли 20 мкл MRA в дозе 1 мкг/см³. Разливали по 0,5 см³ в лунки и инкубировали 3 суток. После этого проводили смену среды и разливали по 0,5 см³ среды MRA в лунки и инкубировали 4 суток. Данный цикл повторяли дважды, затем отбирали пробы на наличие микоплазм.

BM-Cyclin представляет собой комбинацию двух антибиотиков тиамулин (BM-Cyclin-1) и миноциклин (BM-Cyclin-2), оба из которых предотвращают синтез белка. Оба реагента растворяли в 10 см³ стерильного PBS. Готовили 50 см³ среды и добавляли 400 мкл BM-Cyclin-1 и культивировали в течение 3 дней. Затем удаляли среду и добавляли BM-Cyclin-2, и культивировали в течение 4 дней. Данный цикл повторяли 2 раза. В общей сложности культивировали в течение 14 дней, затем отбирали пробы на анализ.

Plasmocin содержит смесь двух антибиотиков: первый блокирует синтез белка, а второй останавливает репликацию ДНК. Наименование антибиотиков производителем не указывается. Для обработки клеток препаратом Plasmocin производителем рекомендуется подбирать дозу в пределах 0,5-1,5 мкл/см³. В связи с этим обработку клеток проводили дозами 12.5, 25.0 и 37.5 мкг/см³. Обработку клеток указанными дозами проводили согласно инструкции к препарату.

Результаты и обсуждение

Анализ проб на выявления микоплазм проводили двукратно (до очистки и после) 4 методами: ПЦР-анализ, окрашивание ДНК-флуорохромом, Plasmotest™ (Invivogen) и MycoStrip (Invivogen). Результаты по выявлению микоплазм представлены на рисунках 1-3.

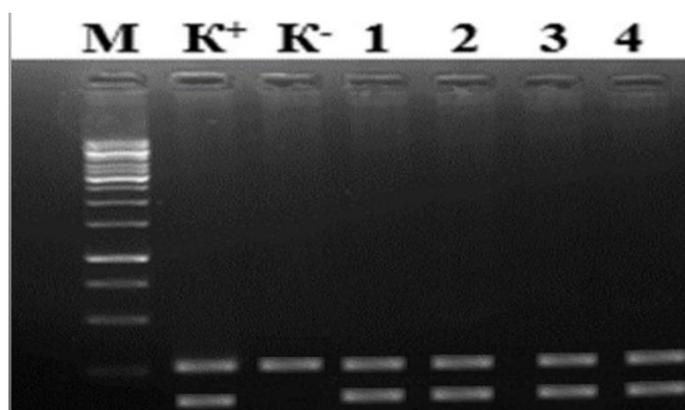
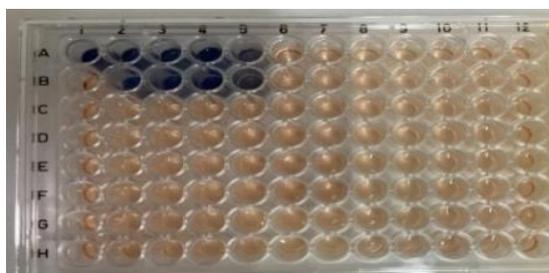


Рисунок 1 – Результаты ПЦР на наличие микоплазм

ПЦР анализ с помощью набора EZ-PCR показал наличие микоплазм во всех исследуемых пробах (1 полоса – Vero, 2 – MDBK, 3 – MDCK, 4 - ВНК-21). Это видно по размеру наработанного продукта в испытуемых образцах, около 270 п.о. Свечение на линии 357 п.о. показывает внутренний контроль набора.

При использовании тест полоски MycoStrip и Plasmotest™ (рис. 2) также было выявлено, что культуры клеток контаминированы микоплазмами.



Plasmotest™

A1 – положительный контроль

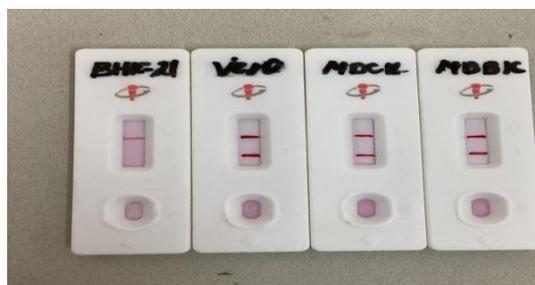
B1 – отрицательный контроль

A2 – B2 - ВНК-21

A3 - B3 - MDCK

A4 - B4 - MDBK

A5 - B5 - Vero



MycoStrip

- одна полоска на «С» отрицательный результат

= две полоски на «С» и «Т»
положительный результат

Рисунок 2 – Результаты выявления микоплазм с использованием наборов MycoStrip и Plasmotest™

Как видно из рисунка 2, в наборе Plasmotest™ при контаминации микоплазмами питательная среда окрашивалась в синий цвет в отличие от отрицательного контроля (лунка B2), которая не окрашивалась. Сомнительные результаты были получены при использовании набора MycoStrip. Так, результаты исследований с этим набором показали наличие двух полос в пробах Vero, MDBK и MDCK, что означало наличие в этих пробах контаминации микоплазмами, тогда как в пробе ВНК-21 показало отсутствие микоплазм. Эти результаты не согласовывались с данными полученными в анализе ПЦР и набором Plasmotest™.

Исследования с использованием ДНК-флюорохромирования показало наличие светящихся точек и нитей на препаратах культур клеток, отличающихся от округлого ядра клеток. Однако, как показано на рис. 3 четкое наличие инородного ДНК можно увидеть в пробах MDBK, MDCK и Vero, тогда как в пробах ВНК-21 не было выявлено явного наличия нитевидных и точечных структур, характеризующих наличие контаминации чужеродным ДНК.

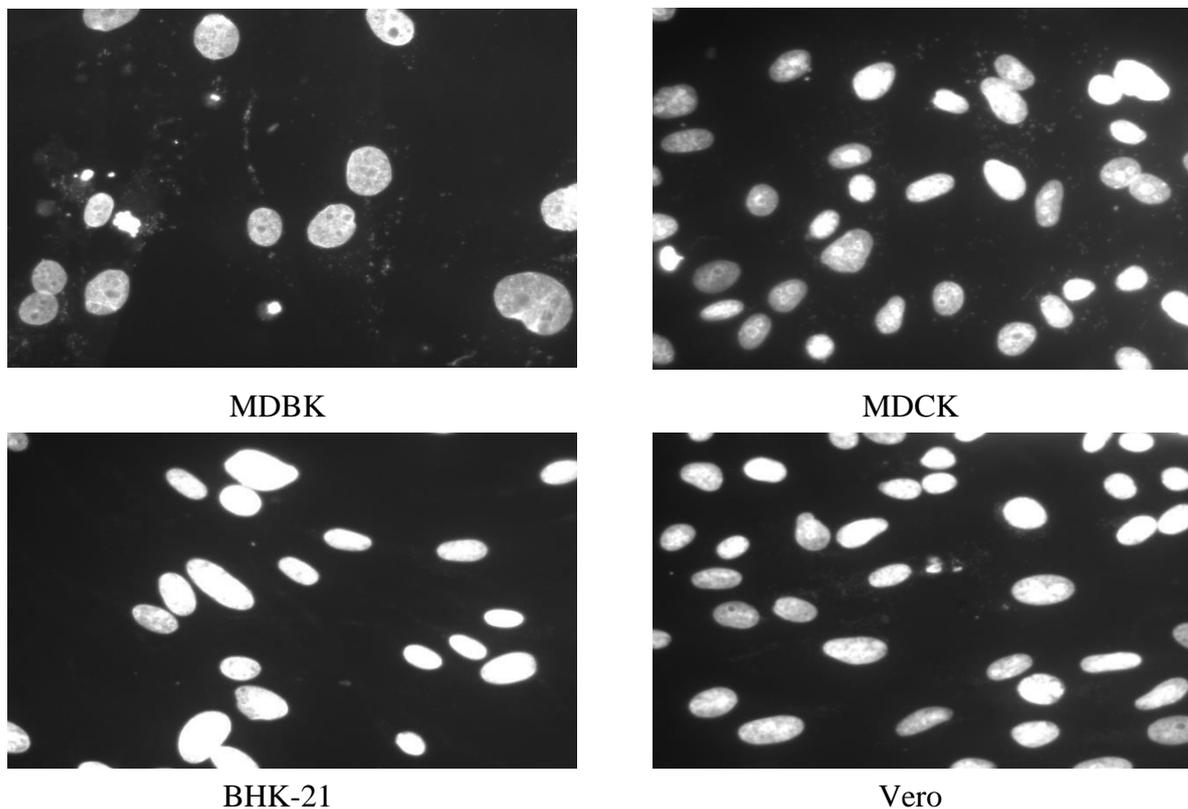


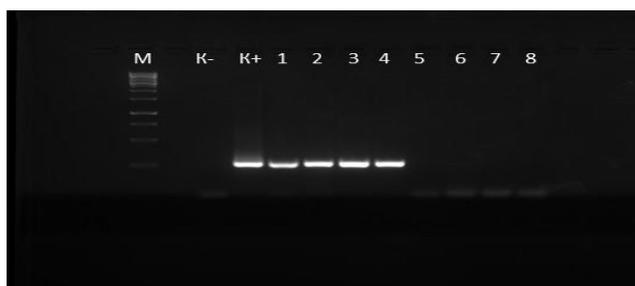
Рисунок 3 – Результаты окрашивания проб методом ДНК-флюорохромирования

Исходя, из вышеизложенного можно констатировать, что исследуемые культуры клеток контаминированы микоплазмами. Основанием для данного заключения является то, что всеми методами было выявлено наличие микоплазм в пробах MDBK, MDCK и Vero, тогда как методом окраски ДНК и набором MycoStrip получены сомнительные результаты отсутствия микоплазм в культуре клеток ВНК-21. Сомнительный результат окраски ДНК можно объяснить тем, что данный метод выявляет наличие только очень сильной контаминации культур клеток и результаты зависят от многих факторов: качества обработки стекол, реагентов и навыков окраски препаратов. Кроме того, интерпретация результатов данного метода может быть очень сложной и легко привести к неправильным выводам, особенно если культура находится в плохом состоянии [12,13]. Что касается метода выявления микоплазм набором MycoStrip возможной причиной может быть ограниченный перечень обнаруживаемых видов микоплазм [14].

Следующим этапом после выявления наличия контаминации микоплазмами было проведение очистки культур клеток с использованием препаратами, предназначенными удаление микоплазм. В наших исследованиях мы использовали препараты MycoZap, Plasmocin^R, Mycoplasma Removal Agent (MRA) и BM-Cyclin. Зараженные культуры клеток культивировали добавляя препараты по методике, указанной в разделе «Методы исследований». При обработке препаратами на первом пассаже наблюдались многочисленные частицы разрушенных клеток, и снижение роста клеток, на втором пассаже изменений не отмечено. На 3-4 пассажах клетки восстанавливали свои ростовые свойства в соответствии с паспортными данными.

После полного цикла обработки препаратами, клетки культивировали 3-кратным пассированием без добавления препаратов чтобы удостовериться в элиминации микоплазм.

С этой целью выявления микоплазм проводили теми же методами, что и до обработки. Результаты детекции микоплазм методом ПЦР приведены на рисунках 4-6.



№1 ВНК-21 С-13

№2 MDCK

№3MDBK

№4Vero

№5 ВНК-21 С-13

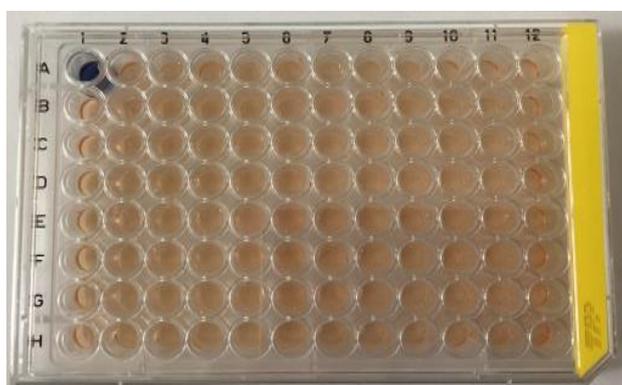
№6 MDCK

№7 MDBK

№8 Vero

Рисунок 4 – Результаты ПЦР на наличие микоплазм

При проведении ПЦР в качестве положительных образцов использовали первоначальные контаминированные пробы. Из данных электрофореграммы (рис. 4) видно, что пробы №1, №2, №3 и №4 положительны на наличие микоплазм, а пробы №5, №6, №7, №8, которые были обработаны противомикоплазменными препаратами показали отрицательный результат. Аналогичные результаты были получены и при использовании набора Plasmotest™, где в обработанных препаратами культурах клеток отсутствовали микоплазмы (рис. 5).



A1 – положительный контроль

B1 – отрицательный контроль.

A2-B2 – ВНК-21.

A3-B3 – MDCK.

A4-B4 – MDBK

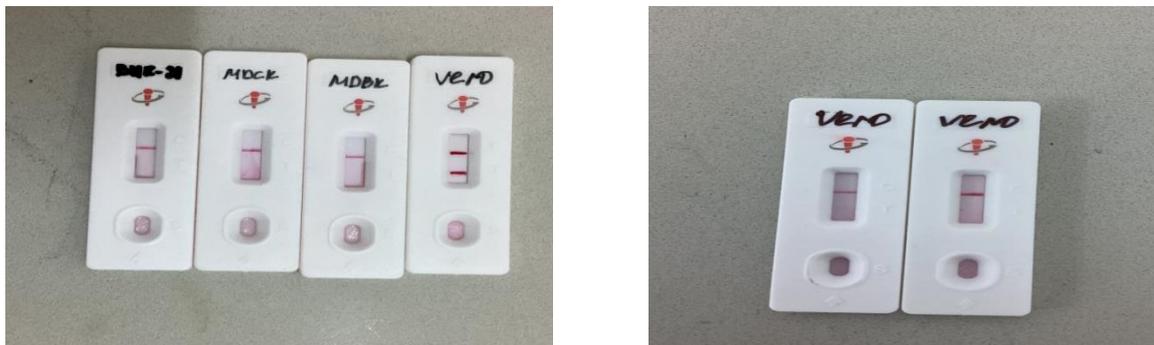
A5-B5 – Vero.

Рисунок 5 – Результаты выявления микоплазм набором Plasmotest™

При детекции микоплазм с использованием набора MycoStrip был получен неоднозначный результат, где культура клеток Vero показало ложноположительный результат после обработки препаратами (рис. 6). Однако для уточнения этого, не

согласующего с другими методами результата, было повторно проведено детекция данным набором. При этом 2-кратная проверка данной культуры показала отрицательный результат наличия микоплазм.

MycoStrip



- одна полоска отрицательный результат
= две полоски положительный результат

Рисунок 6 – Результаты применения наборов MycoStrip и Plasmotest™

Окрашивание культур клеток красителем Hoechst 33258, окрашивающим структуры ДНК, не показало наличие в культуре клеток признаков поражения микоплазмами (рис. 7). Как видно из рисунка 7, препараты содержат округлые ядра клеток без наличия нитевидных или точечных свечений, характерных для чужеродной ДНК.

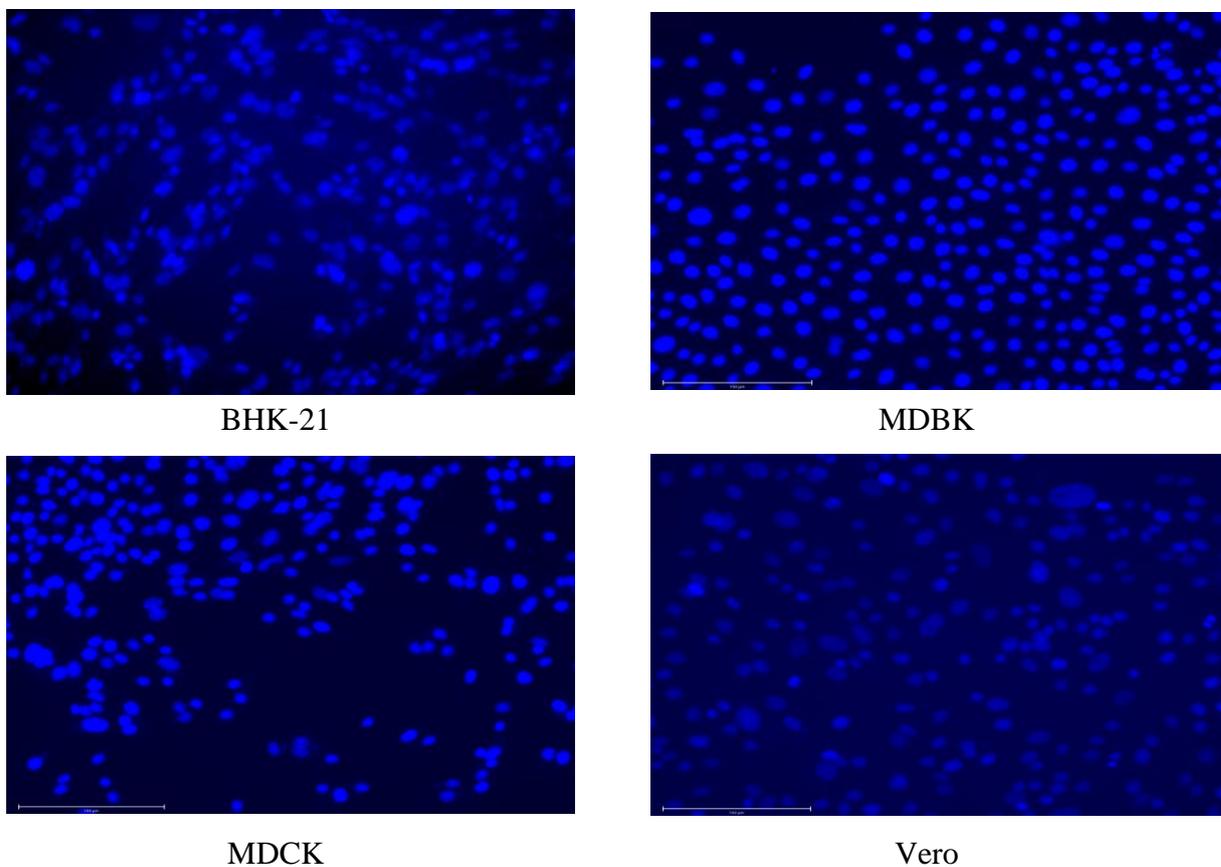


Рисунок 7 – Результаты теста на окрашивание ДНК-флуорохромами

Индикация микоплазм разными методами показало, что метод детекции микоплазм ДНК-флюорохромами прост в исполнении, быстр и недорог. Однако его чувствительность низкая, и определение наличия микоплазм может быть субъективным. Бактериальное загрязнение и деградированные фрагменты ДНК мертвых клеток в культуре клеток можно спутать с микоплазмой. Кроме того, низкие уровни загрязнения может быть трудно обнаружить с помощью флуоресцентного окрашивания ДНК, что ограничивает чувствительность этого анализа [12, 13]. В свою очередь набор MycoStrip может давать ложноотрицательный результат ввиду наличия микоплазм не входящих в список обнаруживаемых видов этого набора [14]. Положительные и отрицательные результаты Plasmotest™ точно коррелировали с результатами ПЦР. Таким образом, Plasmotest™ и EZ-PCR™ являются эффективными методами обнаружения микоплазм.

По результатам проведенных экспериментов все противомикоплазменные препараты оказались очень эффективны в борьбе с микоплазмами. Опираясь на литературные данные [4-9] и результаты экспериментов, для предварительного анализа проб на наличие микоплазменной контаминации можно использовать методы окрашивания клеток ДНК-флюорохромами и набор MycoStrip, а для окончательного подтверждения набор Plasmotest™ и EZ-PCR.

Контаминация культур клеток микоплазмами признана одной из наиболее серьезных и устойчивых проблем в клеточной биотехнологии, что приводит к большому количеству ложных и невоспроизводимых научных результатов. Различные клетки могут подавать различные морфологические и физиологические сигналы при заражении микоплазмами [15]. Поэтому необходимо проводить постоянный мониторинг культур клеток на наличие микоплазменной контаминации на системной основе.

Выводы

В результате проведенных работ было установлено, что обработка противомикоплазменными препаратами MycoZap, Plasmocin, Mycoplasma Removal Agent и VM-Cuclin является трудоемким, но, тем не менее, очень эффективным вариантом. При этом обработка вышеизложенными препаратами не влияет на жизнеспособность клеток и на их культуральные свойства.

При подозрении на наличие микоплазменной контаминации для предварительного анализа можно использовать метод окрашивания ДНК и набор MycoStrip, а для окончательного подтверждения Plasmotest™ и EZ-PCR ПЦР.

Конфликт интересов

Все авторы ознакомлены с содержанием статьи и не имеют конфликтов интересов.

Литература

1. Degeling MH, Maguire CA, Bovenberg MS, Tannous BA. Sensitive assay for mycoplasma detection in mammalian cell culture. *Anal Chem.* 2012; 84(9):4227–4232. doi: 10.1021/ac2033112. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
2. Dvorakova H, Valicek L, Reichelova M. Detection of mycoplasma contamination in cell cultures and bovine sera. *J Vet Med.* 2005;50(6):262–268. doi: 10.17221/5622-VETMED. [CrossRef] [Google Scholar]

3. Dobrovolny PL, Bess D. Optimized PCR-based detection of mycoplasma. *J Vis Exp*. 2011(52). [PMC free article] [PubMed]
4. Uphoff CC, Drexler HG. Comparative PCR analysis for detection of mycoplasma infections in continuous cell lines. *In Vitro Cell Dev Biol*. 2002; 38(2):79–85. doi: 10.1290/1071-2690(2002)038<0079:CPAFDO>2.0.CO;2. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
5. Uphoff CC, Drexler HG. Detecting mycoplasma contamination in cell cultures by polymerase chain reaction. *Methods Mol Med*. 2004; 88:319–326. [PubMed] [Google Scholar]
6. Drexler HG, Uphoff CC. Contamination of cell cultures Mycoplasma. *The Encyclopedia of Cell Technology*. New York: Wiley; 2000. – P. 609-27
7. Freshney RI. *Culture of Animal Cells*. 6th edition. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons; 2010. [Google Scholar]
8. Uphoff CC, Drexler HG. Mycoplasma contamination of cell cultures. In: Flickinger MC, editor. *Encyclopedia of Industrial Biotechnology: Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology*. New York, NY, USA: John Wiley & Sons; 2010. pp. 3611–3630. [Google Scholar]
9. Drexler HG, Uphoff CC. Mycoplasma contamination of cell cultures: incidence, sources, effects, detection, elimination, prevention. *Cytotechnology*. 2002; 39(2):75–90. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
10. СОП-GMP-НИИПББ-ПР-265-2020. ПЦР анализ по входному контролю культуры клеток на наличие микоплазмы с помощью набора EZ-PCR™ Mycoplasma Detection Kit.
11. Исмагамбетова Д.Ж., Наханов А.К., Жаппарова Г.А. Оценка влияния фармазина на элиминацию микоплазм в культурах клеток // Инновационные развитие науки в обеспечении биологической безопасности. – Гвардейский, 2014. – 109 с.
12. Ligasová, A., Vyržalová, M., Buriánová, R., Brůčková, L., Večeřová, R., Janošťáková, A., & Koberna, K. (2019). A New Sensitive Method for the Detection of Mycoplasmas Using Fluorescence Microscopy. *Cells*, 8(12), 1510. <https://doi.org/10.3390/cells8121510>
13. Young, L., Sung, J., Stacey, G. et al. Detection of Mycoplasma in cell cultures. *Nat Protoc* 5, 929–934 (2010). <https://doi.org/10.1038/nprot.2010.43>
14. <https://www.invivogen.com/sites/default/files/pictures/japanese-cell%20bank-study-mycoplasma-detection-methods.pdf>
15. RMSTRONG, S.E., MARIANO, J.A. and LUNDIN, D.J., 2010. The scope of mycoplasma contamination within the biopharmaceutical industry. *Biologicals*, vol. 38, no. 2, pp. 211-213. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biologicals.2010.03.002>.

References

1. Degeling, M. H., Maguire, C. A., Bovenberg, M. S., & Tannous, B. A. (2012). Sensitive assay for mycoplasma detection in mammalian cell culture. *Analytical Chemistry*, 84(9), 4227–4232. <https://doi.org/10.1021/ac2033112>.
2. Dvorakova, H., Valicek, L., & Reichelova, M. (2005). Detection of mycoplasma contamination in cell cultures and bovine sera. *Journal of Veterinary Medicine*, 50(6), 262–268. <https://doi.org/10.17221/5622-VETMED>.
3. Dobrovolny, P. L., & Bess, D. (2011). Optimized PCR-based detection of mycoplasma. *Journal of Visualized Experiments*, (52). <https://doi.org/10.3791/2772>.

4. Uphoff, C. C., & Drexler, H. G. (2002). Comparative PCR analysis for detection of mycoplasma infections in continuous cell lines. *In Vitro Cell Developmental Biology*, 38(2), 79–85. [https://doi.org/10.1290/1071-2690\(2002\)038<0079:CPAFDO>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1290/1071-2690(2002)038<0079:CPAFDO>2.0.CO;2).
5. Uphoff, C. C., & Drexler, H. G. (2004). Detecting mycoplasma contamination in cell cultures by polymerase chain reaction. *Methods in Molecular Medicine*, 88, 319–326.
6. Drexler, H. G., & Uphoff, C. C. (2000). Contamination of cell cultures Mycoplasma. In *The Encyclopedia of Cell Technology* (pp. 609–627). New York: Wiley.
7. Freshney, R. I. (2010). *Culture of Animal Cells* (6th ed.). Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons.
8. Uphoff, C. C., & Drexler, H. G. (2010). Mycoplasma contamination of cell cultures. In M. C. Flickinger (Ed.), *Encyclopedia of Industrial Biotechnology: Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology* (pp. 3611–3630). New York, NY, USA: John Wiley & Sons.
9. Drexler, H. G., & Uphoff, C. C. (2002). Mycoplasma contamination of cell cultures: Incidence, sources, effects, detection, elimination, prevention. *Cytotechnology*, 39(2), 75–90.
10. СОП-GMP-НИИПББ-ПР-265-2020. ПЦР анализ по входному контролю культуры клеток на наличие микоплазмы с помощью набора EZ-PCR™ Mycoplasma Detection Kit.
11. Исмагамбетова, Д. Ж., Наханов, А. К., & Жаппарова, Г. А. (2014). Оценка влияния фармазина на элиминацию микоплазм в культурах клеток. В *Инновационное развитие науки в обеспечении биологической безопасности* (pp. 109). Гвардейский.
12. Ligasová, A., Vyržalová, M., Buriánová, R., Brůčková, L., Večeřová, R., Janošťáková, A., & Koberna, K. (2019). A new sensitive method for the detection of mycoplasmas using fluorescence microscopy. *Cells*, 8(12), 1510. <https://doi.org/10.3390/cells8121510>.
13. Young, L., Sung, J., Stacey, G., et al. (2010). Detection of mycoplasma in cell cultures. *Nature Protocols*, 5(7), 929–934. <https://doi.org/10.1038/nprot.2010.43>.
14. InvivoGen. (n.d.). *Japanese cell bank study: Mycoplasma detection methods*. Retrieved from <https://www.invivogen.com/sites/default/files/pictures/japanese-cell%20bank-study-mycoplasma-detection-methods.pdf>.
15. Armstrong, S. E., Mariano, J. A., & Lundin, D. J. (2010). The scope of mycoplasma contamination within the biopharmaceutical industry. *Biologicals*, 38(2), 211–213. <http://dx.doi.org/10.1016/j.biologicals.2010.03.002>.
- 16.

ЖАСУША ӨСІНДІЛЕРІНІҢ МИКОПЛАЗМАЛЫҚ ЛАСТАНУЫН АНЫҚТАУ ӘДІСТЕРІН ЖӘНЕ МИКОПЛАЗМАҒА ҚАРСЫ ПРЕПАРАТТАРДЫҢ ТИІМДІЛІГІН БАҒАЛАУ

А.К. Наханов , А.А. Терейбай* , Л.Г. Мараховская , С.К. Коканов ,
Б.А. Сейдахметова 

«Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС,
Гвардейский қтк, Қазақстан
*a.terebay@biosafety.kz

Аннотация. Бұл мақалада антимиоплазмалық препараттардың тиімділігін бағалау бойынша зерттеу нәтижелері келтірілген. Микоплазмаларды анықтау үшін жасуша өсімділерін ДНҚ флюорохроммен (DAPI, Apollo Scientific) бояу әдістері, Plasmotest™

(Invivogen, France), MycoStrip (Invivogen, France) және тәжірибеде кеңінен ұсынылған EZ-PCR™ (Biological Industries, Israel) әдістерін қолданылды. Нәтижелерге сүйене отырып, микоплазмаға қарсы препараттар MycoZap (Lonza Bioscience), Plasmocin (Invivogen, France), MRA (BIO-RAD) и BM-Cyclin (Roche) микоплазмалық ластанумен күресуде тиімді екендігі анықталды. ДНҚ флюорохромдарымен анықтау әдісі микоплазманың болуын анықтауы субъективті болуы мүмкін, өйткені оның микоплазмаға сезімталдығы төмен. Өз кезегінде, MycoStrip жиынтығы осы жиынтықтың анықталатын түрлерінің тізіміне кірмейтін микоплазмалардың болуына байланысты жалған теріс нәтиже бере алады. Plasmotest™ оң және теріс нәтижелері EZ-PCR™ нәтижелерімен дәл сәйкес келді. Егер микоплазмалық ластануға күдік болса, алдын-ала талдау үшін ДНҚ-ны бояу әдісі мен MycoStrip жиынтығын, ал Plasmotest™ және EZ-PCR түпкілікті растау үшін қолдануға болады.

Түйін сөздер: жасуша өсінділері; MDCK; MDBK; BHK-21; Vero; микоплазмалар; микоплазмаларды анықтау; жою.

EVALUATION OF METHODS FOR THE DETECTION OF MYCOPLASMA CONTAMINATION OF CELL CULTURES AND THE EFFECTIVENESS OF ANTIMYCOPLASMA PREPARATIONS

A.K. Nakhanov , A.A. Terebay* , L.G. Marakhovskaya , S.K. Kokanov ,
B.A. Seydakhmetova 

«Research Institute of Biological Safety Problems» LLP
Gvardeysky, Kazakhstan
*a.terebay@biosafety.kz

Annotation. This article presents the results of a study on the detection of mycoplasma infection in various cell lines and the evaluation of the effectiveness of antimycoplasma drugs. To detect mycoplasmas in cell cultures, DNA fluorochrome (DAPI, Apollo Scientific) staining methods, Plasmotest™ (Invivogen, France), MycoStrip (Invivogen, France) and EZ-PCR™ (Biological Industries, Israel) kits were used, which are widely recommended for detecting mycoplasmas in cell culture. Based on the obtained research results, it was found that the antimycoplasma drugs MycoZap (Lonza Bioscience), Plasmocin (Invivogen, France), MRA (BIO-RAD) and BM-Cyclin (Roche) are effective in combating mycoplasma contamination of cell cultures. The method of detecting mycoplasmas with DNA fluorochromes, determining the presence of mycoplasma may be subjective, since its sensitivity to mycoplasmas is low. In turn, the MycoStrip set can give a false negative result due to the presence of mycoplasmas not included in the list of detectable species of this set. The positive and negative results of Plasmotest were precisely correlated with the results of EZ-PCR. If mycoplasma contamination is suspected, DNA staining and the MycoStrip kit can be used for preliminary analysis, and Plasmotest™ and EZ-PCR final confirmation.

Keywords: cell cultures; MDCK; MDBK; BHK-21; Vero; mycoplasmas; mycoplasma detection; elimination.

**КӘДІМГІ БАҚ ХРИЗАНТЕМАСЫ (*CHRYSANTHEMUM MORIFOLIUM BOL.*)
ӨСІМДІК ШИКІЗАТЫНАН ПЕРКОЛЯЦИЯ ӘДІСІ АРҚЫЛЫ ЭКСТРАКТ АЛУ
ЖӘНЕ ФИТОХИМИЯЛЫҚ ҚҰРАМЫН АНЫҚТАУ**

А.А. Азембаев¹, Ж. Әуелбек^{2*}

¹ «Инфекцияға қарсы препараттар ғылыми орталығы» АҚ, Алматы, Қазақстан

² С. Ж. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті, Алматы, Қазақстан

* jamalova.zhaka.zhannar@gmail.com

Аннотация. Бұл мақалада кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) өсімдік шикізатынан экстракт алу әдісі және құрамын зерттеу тәсілдері қарастырылған. Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) өсімдік шикізатынан алынған сұйық экстракт перколяция әдісін қолдана отырып алынды. Бұл тәсілдің жүру процесі 3 кезеңнен тұрады. Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) өсімдік шикізатының перколяция әдісі арқылы сұйық экстракт алудың технологиялық сызбасы ұсынылды. Осы әдіс бойынша алынған экстракттың құрамындағы биологиялық белсенді заттар анықталды. Сұйық экстракттың құрамын анықтау масс-спектрометриялық детекторы бар газ хроматографиясы әдісімен (7890A/5975C) жүргізілді. Әдеби деректерге сүйене отырып, бөлінетін компоненттер қабынуға қарсы әсер көрсететіні анықталды. Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) өсімдік шикізатынан перколяция әдісімен алынған сұйық экстракттың құрамы масс-спектрометриялық детекторы бар газ хроматографиясы әдісі арқылы зерттелу нәтижесінде 29 органикалық қолылыс бөлінді. Бөлінген белсенді заттар ішінен пайыздық мөлшері ең жоғары қосылыстар: Pulegone, l-Menthone, Eucalyptol.

Түйін сөздер: *Chrysanthemum morifolium* Bol.; өсімдік шикізаты; масс-спектрометрия; экстракция; биологиялық белсенді заттар; фитохимиялық құрам.

Кіріспе

Өсімдік тектес дәрілік заттар медициналық практикада өз өзектілігін жоғалтпаған, себебі олар биологиялық әсердің кең спектріне ие. Бұл оларды көптеген аурулардың алдын алу және емдеу үшін пайдалануға мүмкіндік береді. Қазақстан өсімдіктер әлеміне өте бай, еліміздің бай флорасы дәрілік өсімдіктерді зерттеуге бағытталған ізденістерді ынталандырады. Құрамы биологиялық белсенді заттарға бай, қабынуға қарсы перспективті дәрілік өсімдік ретінде кәдімгі бақ хризантемасы гүлі практикалық қызығушылық туғызды. Осы топтағы өсімдіктердің Қазақстанда өсетін түрлері жүйелі түрде зерттелмеген. Осыған байланысты, астралылар туыстас өсімдік кәдімгі бақ хризантема дәрілік өсімдік шикізатының фитохимиялық құрамын зерттеп, биологиялық белсенді заттарды бөліп алудың оңтайлы әдістерін зерттеу және оңтайлы экстрактты алу және стандарттау өзекті мәселе болып табылады.

Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) - Asteraceae тұқымдасына жататын, негізгі өсу аймағы Қытай және 3000 жылдан астам ұзақ өсіру тарихы бар. Ақ түктері мен сопақ жапырақтары бар көпжылдық өсімдік биіктігі 60-100 см жетеді және жыл сайын

гүлдейді. Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Vol.) өсімдік шикізаты Қазақстан Республикасының барлық аймақтарында кең таралған.

Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Vol.) - стolon тәрізді жер асты өсімділерін беретін қалыңдатылған, азды-көпті тармақталған тамырсабақтары бар көпжылдық өсімдіктер. Сабақтары тік, биіктігі 25-120 см, кейде өте тармақталған, жіңішке бұтақтары бар, жапырақты. [1]

Зерттеу жұмысының мақсаты

Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Vol.) өсімдік шикізатынан экстракт алу және фитохимиялық құрамын зерттеу.

Зерттеу материалдары мен әдістемесі

Зерттеу материалдары ретінде кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Vol.) өсімдік шикізаты пайдаланылды. Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Vol.) өсімдік шикізатының жер үсті қабатындағы кептірілген бөлігі яғни гүлі пайдаланылды.

Экстрактивті заттарды коэффициентін есептеу формуласы [2]:

$$X = \frac{m \times 200 \times 100}{m_1 \times (100 - W)} \quad (1)$$

Мұндағы:

m - құрғақ заттың массасы, г;

m₁ - шикізат массасы, г;

W - шикізатты кептіру кезінде массаның жоғалуы, %;

m₁ = 1,0 г.

Спиртті сіңіру коэффициентін есептеу формуласы [3]:

$$X = V + m \times K_c$$

Мұндағы:

X – қажетті экстрагент көлемі, мл;

V – қажетті экстракт көлемі, мл;

m – шикізат массасы, г;

K_c – спиртті сіңіру коэффициенті.

Экстрагентті таңдау

Экстрагент ретінде этил спирті және тазартылған су алынды, себебі өсімдіктердегі флавоноидтар қосындысы этанолдың әртүрлі концентрациясында жақсы ериді. Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Vol.) өсімдік шикізатының әдебиеттерге сәйкес спиртті сіңіру коэффициенті – K_p 2,15 [6]. Экстрагент ретінде әртүрлі концентрациядағы этанол және су алынды (40, 70, 90, 96%). Экстрактивті заттарды анықтау келесі әдістеме бойынша жүргізілді.

Талдау шарттары

Саңылаулардың өлшемі 1 мм електен өтетін, шамамен 1 г майдаланған шикізатты (дәл өлшенді) конусты колбаға салады, оған 50 мл экстрагент қосады, колбаны тығынмен жабады, 0,01 г дейінгі дәлдікпен өлшейді және 1 сағатқа қалдырады. Одан соң колбаны кері суытқышқа қосады, 2 сағ бойы қыздырады. Колбаны суытады, тығынмен жабады, өлшейді және массаның шығынын экстрагентпен толықтырады. Колбаның ішіндегісін мұқият шайқайды және қағаз сүзгі арқылы құрғақ құрғақ колбаға сүзеді. 25 мл сүзіндіні құрғақ және дәл өлшенген фарфор табақшасында су моншасында буландырады. Құрғақ қалдықты тұрақты массаға дейін $102,5 \pm 2,5^\circ\text{C}$ температурада кептіргіш шкафта құрғатады, содан соң температурада кептіргіш шкафта құрғатады, содан соң 30 мин бойы эксикаторда суытады және өлшейді [4]. Құрғақ шикізаттың құрамындағы экстрактивті заттардың мөлшерін анықтау (X,%) 1-формула бойынша есептелінді. Экстрактивті заттардың шығуына әртүрлі концентрациядағы этил спиртінің әсері 1-кестеде көрсетілген. Кестеде көрсетілгендей экстрактивті заттардың көп мөлшері 70% этил спиртімен шықты. Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) өсімдік шикізатының экстрактивті заттардың максималды шығуын ескеріп, тиімді экстрагент ретінде 70% этил спирті таңдалды. Сұйық экстракт (1:1) қатынасында дайындалады. Шикізаттың ұсақталу дәрежесі 2 мм (ҚР МФ І 2.9.12). Экстрагент ретінде 70% этил спирті алынды. Зертханалық жағдайда Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) өсімдік шикізатынан сұйық экстракт алу үшін алдымен дәрілік өсімдік шикізатын қажетті мөлшерде ұсақталды. Ұсақталған шикізатты електен өткізіп, қажет массаны таразымен өлшеп аламыз. Сұйық экстракт дайындауға 50 г ұсақталған дәрілік өсімдік шикізаты алынды. Экстрагент ретінде қолданылатын 70% этил спиртінің қажетті көлемін есептеу қажет. Сұйық экстракт (1:1) : (50 : 475,5) қатынасында дайындалды. Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) өсімдік шикізатының спиртті сіңіру коэффициентін есепке ала отырып, қажет экстрагент көлемін 2-формула бойынша есептелінді. Енді сұйық экстракт алу үшін экстракциялау әдісін таңдау қажет.

Экстракциялау

Экстракциялау әдісі ретінде перколяция әдісі қолданылды. Бұл тәсілдің жүру процесі 3 кезеңнен тұрады: Жібіту (ісіндіру) перколятордан тыс жүреді. Дайындалған өсімдік шикізатын жабық сыйымдылыққа салып, қажетті мөлшердегі экстрагентпен суландырып, ісіндіруге 24 сағатқа қоямыз. Бұл уақытта экстрагент өсімдік материалының арасына және жасуша ішіне еніп, шикізат ісінеді, көлемі ұлғаяды [5]. Тұндыру-перколяция процесінің екінші сатысы. Ісінген немесе құрғақ материалды перколяторға тығыздап саламыз (шикізат арасында мейлінше ауа аз қалуы керек). Шикізат үстіне тот баспайтын металдан жасалған жүкпен басамыз. Тұндыруға 1 тәулікке қойып кетеміз [6]. Араластыруды 4 сағатқа қойып кетеміз. Перколяцияның өзі- перколятордағы сығындыны ыдысқа құйып аламыз. Алынған сығындыны тұндыруға қойып, фильтрлейміз. Одан кейін сарғыш шыныдан жасалған флаконға құйып, тығындап, сақтауға қоямыз.

Нәтиже

Экстрагент ретінде 90% этил спиртінін қолдандық. Экстрактыны құйынды әдісімен 1:5 қатынасында алдық. Перколятордың ішіне 1:5 қатынаста шикізат пен экстрагент 90% экстрагентті құйып 4 сағатқа жоғары 12000 айн./мин бойынша айналдырып қоямыз. Артынша

сұйық экстрактыны сүзіп аламыз. Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) өсімдік шикізатының экстрактысы перколяторда жүргізіледі.

Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) өсімдік шикізатының перколяция әдісі арқылы сұйық экстракт алудың технологиялық сызбасы 2-суретте көрсетілген.

Кесте 1 – Экстрактивті заттардың шығуына экстрагенттің әсері спирті

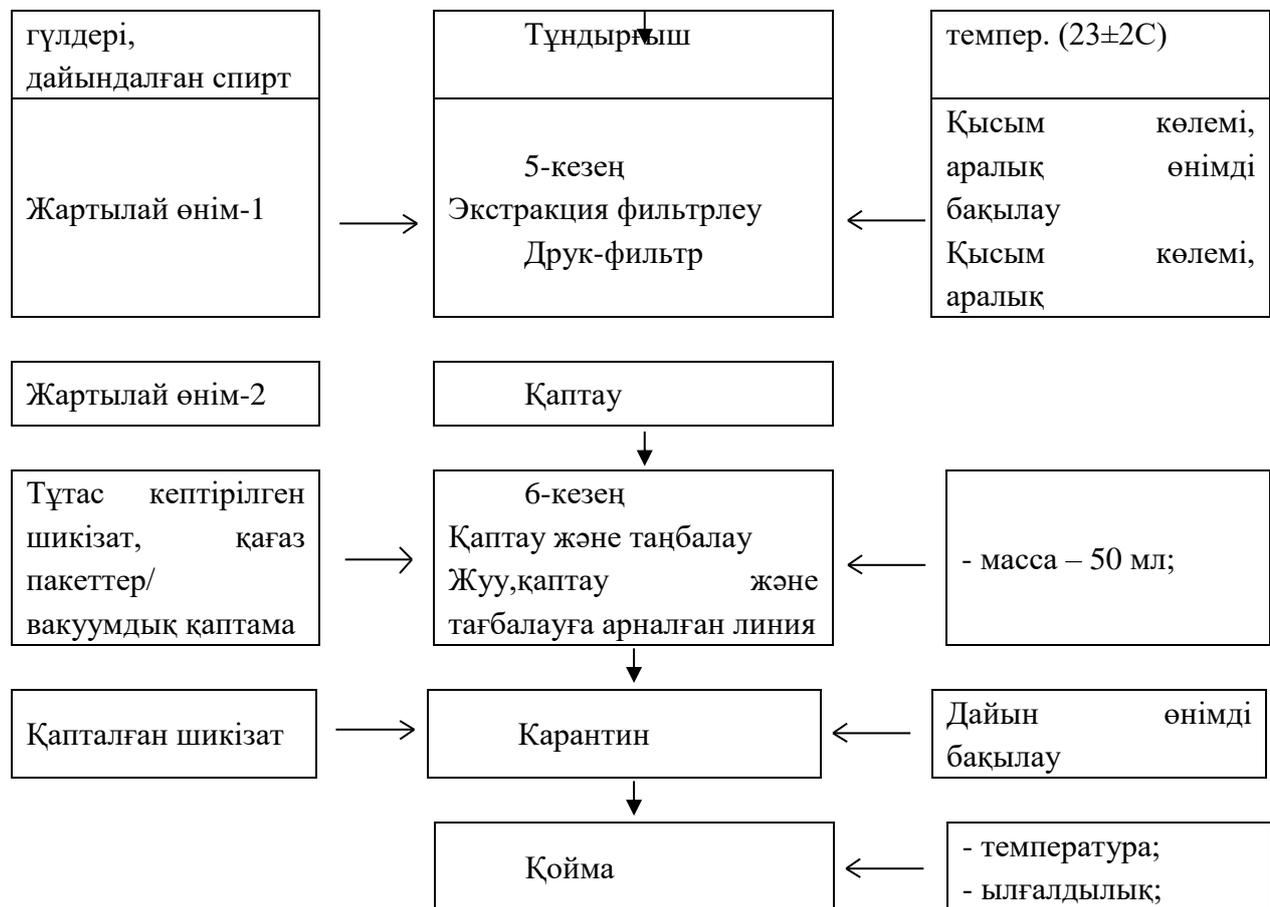
Еріткіштер	Концентрация	Нәтижесі %
Этил спирті	40 %	12,25
	70 %	15,13
	90 %	13,81
	96 %	12,98
H ₂ O	Тазартылған су	11,07



Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Bol) өсімдігінен 1:1 қатынаста перколяция әдісімен сұйық экстракт алдық.

Кесте 2 - Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) шикізатынан экстракт алу технологиялық сызбасы





Кесте 3 - Құйынды әдісі арқылы алынған экстракттың хроматографиялық талдау нәтижелері

	Ұстау уақыты, мин	Қосылыстар	Сәйкестендіру ықтималдығы, %	Пайыздық мазмұны %
	6,54	(1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3,1,1]hept-2-ene	93	0,68
	10,54	Eucalyptol	93	2,16
	13,16	Bicyclo[3,1,0]hexan-2-ol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-, (1 α ,2 β ,5 α)-	89	0,63
	14,72	Bicyclo[3,1,1]heptan-3-ol, 6,6-dimethyl-2-methylene-, [1S-(1 α ,3 α ,5 α)]-	94	0,94
	15,50	l-Menthone	94	4,58
	15,70	(+)-2-Bornanone	93	29,97
	15,86	Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-	94	1,56
	16,23	Pinocarvone	87	0,37
	16,46	L- α -Terpineol	88	0,59
0	17,52	2-Cyclohexen-1-ol, 2-methyl-5-(1-methylethenyl)-, cis-	92	0,77

1	17,74	Cyclohexanone, 2-isopropyl-2,5-dimethyl-	74	0,67
2	18,53	Pulegone	92	5,20
3	18,63	Acetic acid, 1,7,7-trimethyl-bicyclo[2,2,1]hept- 2-yl ester	94	2,70
4	19,14	7-Oxabicyclo[4,1,0]heptan-2-one, 6-methyl-3-(1-methylethyl)-	89	4,68
5	20,40	Naphthalene, 1-isocyano-	74	1,27
6	22,15	2-Cyclohexanone, 3-methyl-6-(1-methylethylidene)-	83	0,85
7	22,85	3-Cyclopenten-1-one, 2-hydroxy-3-(3-methyl-2-butenyl)-	76	4,42
8	26,90	Caryophyllene oxide	89	1,25
9	27,50	Cedrol	88	1,03
0	28,32	Tetracyclo[6,3,2,0(2,5),0(1,8)]tridecan-9-ol, 4,4-dimethyl-	84	0,75
1	28,83	1-Naphthalenol, decahydro-1,4a-dimethyl-7-(1-methylethylidene)-, [1R-(1 α ,4 α ,8 α)]-	85	1,74
2	28,93	2,6-Dimethyl-8-(tetrahydropyran-2-yl-oxy)-octa-2,6-dien-1-ol	70	1,83
3	31,08	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl-	88	0,71
4	31,79	Succinic acid, ethyl tridec-2-ynyl ester	70	0,74
5	34,18	Spiro[4,5]dec-6-en-8-one, 1,7-dimethyl-4-(1-methylethyl)-	71	4,31
6	35,70	Cyclopropanemethanol, α ,2-dimethyl-2-(4-methyl-3-pentenyl)-, [1 α (R*),2 α]-	73	9,94
7	37,86	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	68	2,78
8	49,78	8-Hydroxy-8a-methyl-3,5-dimethylene-2-oxododecahydronaphtho[2,3-b]furan-4-yl (2E)-2-methyl-2-butenolate	77	9,58
9	52,63	Pregn-4-ene-1,20-dione, 16,17-dimethyl-	69	3,28

Талқылау

Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) өсімдік шикізатынан алынған экстракттардың фитохимиялық құрамын зерттеу Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) өсімдік шикізатынан алынған сұйық экстракттың құрамы масс-спектрометриялық детекторы бар газ хроматографиясы әдісімен (7890A/5975C) Алматы қаласында «Табиғи өнімдер мен технологияларды ғылыми-зерттеу институты» ЖШС базасында зерттелінді. Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) өсімдік шикізатынан құйынды әдісімен алынған сұйық экстракттың құрамын масс-спектрометриялық детекторы бар газ хроматографиясы әдісі арқылы төмендегі талдау шарттарына сәйкес жүргізілді [8]. Талдау шарттары: үлгі көлемі 0,5 мкл, сынама енгізу температурасы 250°C, ағынның бөлуінсіз. Бөлу - ұзындығы 30 м, ішкі диаметрі 0,25 мм және пленканың қалыңдығы 0,25 мкм болатын DB-WAXetr хроматографиялық капиллярлық баған арқылы жүзеге асырылды, тасымалдаушы газдың тұрақты жылдамдығы (гелий) 1 мл/мин. Хроматографиялау температурасы 40 °C-тан (экспозиция 10 мин) 5 °C/мин-ден 270 °C-қа дейін қыздыру жылдамдығымен бағдарламаланады (экспозиция 5 мин). Анализ уақыты 53 минут. Анықтау SCANm/z 34-750 режимінде жүргізіледі. Газды хроматография жүйесін басқару, алынған нәтижелер мен деректерді тіркеу және өңдеу үшін Agilent MSD ChemStation бағдарламалық жасақтамасы (1701ea нұсқасы) қолданылды. Деректерді өңдеу сақтау уақытын, шыңдардың аудандарын анықтауды, сондай-ақ масс-спектрометриялық детектор көмегімен алынған спектрлік ақпаратты өңдеуді қамтыды. Алынған масс-спектрлерді ашу үшін Wiley 7th edition және NIST'02 кітапханалары пайдаланылды (кітапханалардағы спектрлердің жалпы саны – 550 мыңнан астам).

Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) өсімдік шикізатынан перколяция әдісімен алынған сұйық экстракттың құрамы масс-спектрометриялық детекторы бар газ хроматографиясы әдісі арқылы зерттелу нәтижесінде 29 органикалық қосылыс бөлінді, талдау нәтижелері 2-кестеде көрсетілген. Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) өсімдік шикізатынан ультра дыбыстық (УД) экстракция және құйынды әдістерімен алынған сұйық экстракттардың құрамы масс-сФАРМАЦИЯ пектрометриялық детекторы бар газ хроматографиясы әдісі арқылы зерттеу нәтижесінде әр түрлі биологиялық белсенді қосылыстар анықталды, олардың ішінде органикалық қышқылдар, флованоидтар, терпеноидтар, стероидтар, кумариндер және т.б. класстарға жататын органикалық қосылыстар анықталды. [9] Жоғарыда көрсетілген кестелерде келтірілген биологиялық белсенді заттар ішінен пайыздық мөлшері ең жоғары қосылыстар:

Eucalyptol (ішуге арналған эвкалиптол) — ментан оксиді-моноциклді терпен. Бұл атау құрылымы сәл өзгеше химиялық қосылыстар тобына жатады; табиғатта ең көп кездесетіні-1,8-цинеол, 1,8-эпоксидті параментан және 1,4-цинеол. Цинеол медицинада антисептикалық, қақырық түсіретін және тіс пасталарында, эвкалипт майы сияқты, сондай-ақ жасанды эфир майларының құрамдас бөлігі ретінде қолданылады.

l-Menthone - терпеноидтарға жататын екі изомерлі зат. Екі изомер түрінде болады: I-транс изомері (нақты ментон) II-цис-ментон (изоментон). Екі изомер де жалбыз иісі мен ащы дәмі бар түссіз тұтқыр сұйықтықтар. Органикалық еріткіштерде жақсы ериді, суда нашар ериді. Ментон тіс күтімі өнімдерін хош иістендіру үшін қолданылады; ментол алу үшін шикізат ретінде. Изоментон хош иісті заттарға жататын оксимді алу үшін қолданылады.

Pulegone - Пулегон - органикалық қосылыс, эфир майларының табиғи компоненті болуы мүмкін синтетикалық жолмен алынған. 2-изопропил-5-метил-3-циклогексанның туындысы ретінде пулегон құрамында 3-ментил-көміртекті қаңқасы бар. Пулегон-жалбыз

түрлерінің бірінің иісі бар түссіз, хош иісті сұйықтық. Этанолда, эфир майларында және органикалық еріткіштерде ериді. Пулегон хош иістендіргіштерде, парфюмерияда, ароматерапияда (эфир майларының құрамдас бөлігі ретінде), сондай-ақ ментол алу үшін қолданылады. [10]

Қорытынды

Кәдімгі бақ хризантемасы (*Chrysanthemum morifolium* Vol.) өсімдік шикізатынан экстракт алу технологиясы жасалды. Зерттеу барысында дәрілік өсімдік шикізатының құрамында әр түрлі биологиялық белсенді қосылыстар анықталды, олардың ішінде органикалық қышқылдар, флавоноидтар, терпеноидтар, стероидтар, кумариндер және т.б. класстарға жататын органикалық қосылыстар анықталды. Таңдалынған экстракция әдісі флавоноидтарды алудың жоғары дәрежесіне қол жеткізуге мүмкіндік беретіні айқындалды. Отандық фармацевтика өнеркәсібі үшін негізгі шикізат ретінде пайдалану, сондай-ақ болашақта дәрі-дәрмектерді жасауда кәдімгі бақ хризантемны (*Chrysanthemum morifolium* Vol.) пайдалану негіз бола алады .

Әдебиеттер

1. Молявкина, А. В. Изучение макро- и микродиагностических признаков листьев хризантемы различных видов / А. В. Молявкина, Н. В. Нестерова, Н. В. Бирюкова // Медицинское образование и ВУЗовская наука. – 2018. – № 3-4(13-14). – С. 138-141. – EDN FNEFFK.

2. Изучение некоторых физико-химических свойств пектина, выделенного из травы хризантемы / М. И. Кодониди, Л. П. Мыкоц, О. А. Андреева, Э. Т. Оганесян // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. – 2012. – № 11. – С. 24-26. – EDN TGESJN.

3. Справочник "Природное сырье китайской медицины" (в 3 томах), том I, Москва, 2004. Общая фармакопейная статья.1.5.3.0003.15 "Техника микроскопического и микрохимического исследования лекарственного растительного сырья и лекарственных растительных препаратов".

4. Автореферат диссертации по фармакологии М.И. Кодониди на тему: "Химическое исследование цветков хризантемы корейской (*Chrysanthemum x koreanum* Makai) с целью получения фармакологически активных суммарных фитокомплексов". - Пятигорск, 2009.

5. Блинова К. Ф. и др. Ботанико-фармакогностический словарь : Справ. пособие / Под ред. К. Ф. Блиновой, Г. П. Яковлева. — М.: Высш. шк., 1990. — С. 251.

6. Ботаника. Энциклопедия «Все растения мира» / Пер. с англ.; ред. Д. Григорьев и др. — Köpennann, 200

7. Заготовка, выращивание и переработка лекарственных растений. Полудённый Л.В., Журавлев Ю.П. *Viola tricolor* L. Фиалка трехцветная. – 2017. С.15-18.

8. Пятина И.С. Хризантема увенчанная: биологические особенности и химический состав / И.С. Пятина // Материалы II Международная научная конференция "Лекарственные растения: фундаментальные и прикладные проблемы". - Новосибирск, 2015. - С. 33-36.

9. Yeasmin D., Swarna J., Nasrin S., Parvez S., Alman M. Phytochemical analysis and antioxidant activity of three flower colors *Chrysanthemum morifolium* Ramant // International Journal of Bio-sciences. - 2016. Vol. 9, № 2. - P. 69-77.

10. Выделение и анализ природных биологически активных веществ / Е.А. Краснов и др. - Томск: Изд-во Том. ун-та, 1987. - 184 с.

References

1. Molyavkina, A. V., Nesterova, N. V., & Birukova, N. V. (2018). Study of macro- and microdiagnostic features of chrysanthemum leaves of various species. *Medical Education and University Science*, 3-4(13-14), 138-141. EDN FNEFFK.
2. Kodonidi, M. I., Mykots, L. P., Andreeva, O. A., & Oganesyanyan, E. T. (2012). Study of some physicochemical properties of pectin isolated from chrysanthemum herb. *Questions of Biological, Medical, and Pharmaceutical Chemistry*, 11, 24-26. EDN TGESJN.
3. *Handbook "Natural Raw Materials of Chinese Medicine" (in 3 volumes), Volume I* (2004). General pharmacopoeia article 1.5.3.0003.15 "Techniques of microscopic and microchemical investigation of medicinal plant raw materials and medicinal plant preparations." Moscow.
4. Kodonidi, M. I. (2009). *PhD thesis in pharmacology: "Chemical study of the flowers of Korean chrysanthemum (Chrysanthemum x koreanum Makai) for the purpose of obtaining pharmacologically active total phytocomplexes."* Pyatigorsk.
5. Blinova, K. F., & Yakovlev, G. P. (1990). *Botanical and pharmacognostic dictionary: Reference guide* (K. F. Blinova, Ed.). Moscow: Higher School.
6. Grigoriev, D. (Ed.). (2000). *Botany. Encyclopedia of "All Plants of the World"* (trans. from English). Kōnemann.
7. Poludenny, L. V., & Zhuravlev, Yu. P. (2017). Harvesting, cultivation, and processing of medicinal plants. *Viola tricolor L. Three-colored Violet*, 15-18.
8. Pyatina, I. S. (2015). Crowned chrysanthemum: Biological features and chemical composition. In *Proceedings of the 2nd International Scientific Conference "Medicinal Plants: Fundamental and Applied Issues"* (pp. 33-36). Novosibirsk.
9. Yeasmin, D., Swarna, J., Nasrin, S., Parvez, S., & Alman, M. (2016). Phytochemical analysis and antioxidant activity of three flower colors of *Chrysanthemum morifolium Ramant*. *International Journal of Biosciences*, 9(2), 69-77.
10. Krasnov, E. A., et al. (1987). *Isolation and analysis of natural biologically active substances*. Tomsk: Tomsk University Press.

ПОЛУЧЕНИЕ ЭКСТРАКТА МЕТОДОМ ПЕРКОЛЯЦИИ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ХРИЗАНТЕМЫ САДОВОЙ ОБЫКНОВЕННОЙ (CHRYSANTHEMUM MORIFOLIUM VOL.) И ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФИТОХИМИЧЕСКОГО СОСТАВА

А.А. Азембаев¹, Ж. Ауелбек^{2*}

¹ АО «Научный центр противомикробных препаратов», Алматы, Казахстан

² Казахский национальный медицинский университет им. С. Ж. Асфендиярова, Алматы, Казахстан

*jamalova.zhaka.zhannar@gmail.com

Аннотация. В статье рассмотрен способ получения экстракта из растительного сырья хризантемы садовой обыкновенной (*Chrysanthemum morifolium* Vol.) и способы изучения его

состава. Жидкий экстракт, полученный из растительного сырья хризантемы садовой (*Chrysanthemum morifolium* Bol.), получали методом перколяции. Процесс данного подхода состоит из 3 этапов. Представлена технологическая схема получения жидкого экстракта хризантемы садовой (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) методом перколяции. Определены биологически активные вещества в экстракте, полученном этим методом. Определение состава жидкого экстракта проводили методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (7890A/5975C). На основании данных литературы установлено, что высвобождаемые компоненты оказывают противовоспалительное действие. В результате изучения состава жидкого экстракта, полученного методом перколяции из растительного сырья хризантемы садовой (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором, было выделено 29 органических соединений. Среди выделенных активных веществ соединения с наибольшим процентом: Pulegone, l-Menthone, Eucalyptol.

Ключевые слова: *Chrysanthemum morifolium* Bol.; растительное сырье; масс-спектрометрия; экстракция; биологически активные вещества; фитохимический состав.

OBTAINING AN EXTRACT BY PERCOLATION FROM PLANT RAW MATERIALS OF THE COMMON CHRYSANTHEMUM (*CHRYSANTHEMUM MORIFOLIUM* BOL.) AND DETERMINING THE PHYTOCHEMICAL COMPOSITION

A.A. Azembaev¹, Zh. Auelbek^{2*}

¹ Scientific Center of Anti-Infective Drugs JSC, Almaty, Kazakhstan

² S. Zh. Asfendiyarov Kazakh National Medical University, Almaty, Kazakhstan

*jamalova.zhaka.zhannar@gmail.com

Annotation. The article discusses a method for obtaining an extract from plant materials of the common garden chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) and methods for studying its composition. A liquid extract obtained from plant materials of garden chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) was obtained by percolation. The process of this approach consists of 3 stages. A technological scheme for obtaining a liquid extract of garden chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) using the percolation method is presented. Biologically active substances in the extract obtained by this method were determined. The composition of the liquid extract was determined by gas chromatography with a mass spectrometric detector (7890A/5975C). Based on literature data, it has been established that the released components have an anti-inflammatory effect. As a result of studying the composition of a liquid extract obtained by percolation from plant materials of garden chrysanthemum (*Chrysanthemum morifolium* Bol.) using gas chromatography with a mass spectrometric detector, 29 organic compounds were isolated. Among the active substances isolated, the compounds with the highest percentage are: Pulegone, l-Menthone, Eucalyptol.

Keywords: *Chrysanthemum morifolium* Bol.; plant raw material; mass spectrometry; extraction; biologically active substances; phytochemical composition.

ДАНИЕ ОБ АВТОРАХ

1. Крутская Екатерина Дмитриевна, Кыргызский национальный аграрный университет им К.И.Скрябина, Россия, ORCID 0000-0002-3043-7452, krutskaya00@mail.ru

Нургазиев Рысбек Зарылдыкович, Кыргызский национальный аграрный университет им К.И.Скрябина, Кыргызстан, ORCID 0000-0003-3639-379

2. Ахметоллаев Илияс Амирханович, ТОО "Национальный центр биотехнологии", Казахстан, ORCID 0000-0002-6219-4002 akhmetollayev@biocenter.kz

Ауганов Алмас Нурланович, ТОО "Национальный центр биотехнологии", Казахстан, ORCID 0009-0009-7305-3510, auganov.almas@gmail.com

Тынысбеков Бекболат Казбекович, ТОО "Национальный центр биотехнологии", Казахстан, tynysbekovw1@gmail.com

3. Сырым Назым Сырымкызы, ТОО Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0002-4361-5676, n.syrym@biosafety.kz

Еспембетов Болат Аманбаевич, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0003-3312-4045, b.yespembetov@biosafety.kz

Анарбекова Актоты Мараткызы, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0002-3884-4458, a.anarbekova@biosafety.kz

Зинина Надежда Николаевна, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0003-3536-5483, n.zinina@biosafety.kz

Алпысбаева Сабира Егизбаевна Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0009-0002-9839-6199, sabira_31@mail.ru

Сармыкова Макпал Кенжеевна, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0002-0650-7457, m.sarmykova@biosafety.kz

Серикбай Елдос, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0002-9186-0529, y.serikbay@biosafety.kz

Абдимухтар Азамат Рустемулы, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0002-4585-7476, a.abdimukhtar@biosafety.kz

Толухан Алинур Тулегенулы, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0009-0002-1906-746X, a.toleukhan@biosafety.kz

Мауленбаева Меруерт, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0009-0001-3948-7966

Ержігіт Бекзат Бауыржанұлы, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, ORCID 0009-0008-0681-0035

Абдықалық Ақбөпе Әбдіғалымқызы, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, ORCID 0000-0002-1998-8798

Мауленбай Акерке Даулетқызы, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, ORCID 0000-0001-9535-2997, maulenbay.id@gmail.com

4. Джекебеков Куаныш Кайратович, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0002-7801-6198, zhekebekov_87@mail.ru

Бурабаев Бахыт Кобенович, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан

Шораева Камшат Абитханқызы, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0001-8777-8453, k.a.shorayeva@mail.ru

Молдагулова Сабина Улановна, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0002-8353-1629, sabina_moldagulova@mail.ru

Таболдиев Дуйсен Рыскулович, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0009-0006-8827-9609

5. Наханов Азиз Куралбаевич, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0002-6593-0271, aziz_nk@mail.ru

Теребай Айбол Айдосұлы, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0003-2077-7063, a.terebay@biosafety.kz

Мараховская Любовь Генадьевна, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0002-9515-0655, l.marahovskaya@biosafety.kz

Коканов Сабит Кабдышевич, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0002-9515-0655, kkanv@mail.ru

Сейдахметова Бакыткуль Айтжанована, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0002-9515-0655, b.seidakhmetova@biosafety.kz

6. Азембаев Амир Аканович, АО «Научный центр противинфекционных препаратов», Казахстан

Ауелбек Жанар, Казахский национальный медицинский университет им. С. Ж. Асфендиярова, Казахстан, jamalova.zhaka.zhannar@gmail.com

ТРЕБОВАНИЯ К НАУЧНЫМ СТАТЬЯМ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В ЖУРНАЛЕ

Правила для авторов

Научный журнал «Биобезопасность и Биотехнология» принимает к публикации оригинальные исследовательские статьи, краткие сообщения и обзоры по следующим направлениям науки:

- Биологическая безопасность и биозащита
- Микробиология
- Медицинская и ветеринарная биотехнология
- Фитопатология и биотехнология растений

КАК ПОДГОТОВИТЬ СТАТЬЮ В ЖУРНАЛ

1. Требования к рукописям, направляемым в журнал

Текст должен быть набран в редакторе Microsoft Word, шрифт Times New Roman, размер 12, интервал одинарный, все поля 2 см, абзацный отступ 1 см. Все страницы и строки должны быть пронумерованы и иметь сквозную нумерацию. Выравнивание – по ширине (с автоматической расстановкой переносов).

Объем статей должен составлять 10-15 печатных страниц для оригинальных статей, 15-25 печатных страниц для обзоров, до 5 печатных страниц для кратких сообщений.

Авторы также должны представить каждое изображение в отдельном файле в оригинальном размере (не менее 300 dpi).

2. Язык статьи

К публикации в журнале принимаются рукописи из любых стран на казахском, русском и/или английском языках. Метаданные статьи (название статьи, Ф.И.О. авторов, официальное название учреждений авторов, адреса, резюме статьи, ключевые слова, информация для контакта с ответственным автором) должны быть представлены на трех языках.

Метаданные статьи на другом языке (если статья написана на казахском, то на русском языке или же наоборот) и на английском языке приводят в конце статьи после списка использованной литературы.

Для статей на казахском и русском языках пристатейный список литературы (References) должен быть дополнительно представлен в транслитерированном виде – см. пункт 4).

В случае, если авторы не предоставили метаданные статьи на языках, отличающихся от языка написания статьи или перевод некачественный, то редакция прибегает к услугам переводчика самостоятельно (право выбора переводчика остается за редакцией).

3. Титульный лист (метаданные статьи).

Титульный лист должен включать следующую информацию:

- 1) код МРНТИ (Международный рубрикатор научно-технической информации; определяется по ссылке <http://grnti.ru/>)
- 2) название статьи (лаконично и информативно. Заголовки часто используются в информационно-поисковых системах. По возможности избегайте сокращений и формул)
- 3) инициалы и фамилии авторов (пожалуйста, четко фамилии (имена) каждого автора и проверьте правильность написания всех имен)

4) организация и ее местонахождение для каждого автора (все аффилиации нумеруются надстрочной арабскими цифрами сразу после имени автора и перед соответствующим адресом; укажите адрес каждой организации, включая название населенного пункта и страны), и, если возможно, адрес электронной почты каждого автора. Если все авторы статьи работают в одном учреждении, указывать место работы каждого автора отдельно не нужно, достаточно указать учреждение один раз. Если у автора несколько мест работы, каждое обозначается отдельным цифровым индексом.

5) контактная информация (адрес электронной почты) автора для корреспонденции: (поставьте знак «*» сразу после индекса аффилиации автора для корреспонденции и перед контактной информацией). Если авторов для корреспонденции несколько, укажите инициалы рядом с каждым адресом.

6) при наличии указать для авторов ID номера ORCID с использованием гиперссылки в значке 

7) аннотация (один абзац не более 300 слов, при этом не менее 150 слов). В аннотации должны быть кратко изложены цель исследования, основные результаты и основные выводы. Аннотация часто представляется отдельно от статьи. В связи с этим следует избегать ссылок, нестандартных или необычных сокращений, но, если они необходимы, они должны быть определены при их первом упоминании в самом реферате. Аннотация должна быть объективным изложением статьи, не должна содержать результатов, не представленных и не обоснованных в основном тексте, и не должна преувеличивать основные выводы.

8) ключевые слова (5-10 слов или словосочетаний, должны отражать основное содержание статьи; определить предметную область исследования. Каждое ключевое слово отделяется точкой с запятой).

4. План построения оригинальных статей

Структура оригинальных статей должна соответствовать формату IMRAD (Introduction, Methods, Results, Discussion, Conclusion) и содержать разделы ВВЕДЕНИЕ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ, РЕЗУЛЬТАТЫ, ОБСУЖДЕНИЕ, ЗАКЛЮЧЕНИЕ. В конце статьи размещают информацию о финансовой поддержке работы, гранты, благодарности; указание на конфликт интересов; список цитированной литературы. Оригинальная статья оформляется в соответствии ШАБЛОНА, предложенного редколлекцией журнала journal.biosafety.kz.

Во введении следует изложить текущее состояние области исследований и процитировать основные публикации, обосновать актуальность и значимость проводимых исследований. Необходимо кратко указать цель работы. Насколько это возможно, сделайте введение понятным для ученых, не занимающихся вашей конкретной областью исследований. Ссылки должны быть пронумерованы в порядке их появления и обозначены цифрой или цифрами в квадратных скобках, например, [1] или [2,3], или [4–6]. Дополнительные сведения о ссылках см. в конце документа.

Материалы и методы должны быть описаны достаточно подробно, чтобы другие могли воспроизвести и использовать опубликованные результаты. Новые методы и протоколы должны быть описаны подробно, в то время как хорошо зарекомендовавшие себя методы могут быть кратко описаны и надлежащим образом процитированы.

Исследования с участием животных или людей, а также другие исследования, требующие этического одобрения, должны указывать орган, предоставивший одобрение, и соответствующий кодекс этического одобрения.

Раздел «**Результаты**» должен содержать точное описание экспериментальных результатов, их интерпретацию, а также экспериментальные выводы, которые можно сделать. При необходимости этот раздел может быть разделен на подразделы.

В разделе «**Обсуждение**» авторы должны обсудить полученные результаты и то, как их можно интерпретировать с точки зрения предыдущих исследований и рабочих гипотез. В обсуждении можно привести возможные объяснения сходства и противоречий с другими аналогичными исследованиями. В максимально широком контексте следует обсудить выводы и их значение. Также в данном разделе могут быть выделены будущие направления исследований.

Раздел «**Заключение**» включает обобщение и подведение итогов работы на текущем этапе. Выводы должны быть точными и использоваться для обобщения результатов исследований в конкретных научных областях с описанием предложений или возможностей дальнейшей работы.

Финансирование: Укажите источник финансирования исследований (название финансирующей организации, номер гранта). Внимательно проверьте правильность приведенных данных и используйте стандартное написание названий финансирующих организаций.

Благодарности: В этом разделе вы можете отметить любую оказанную поддержку. Это может включать административную и техническую поддержку или предоставление материалов для экспериментов.

Конфликт интересов: Все авторы должны раскрывать информацию о любых финансовых и личных отношениях с другими людьми или организациями, которые могут ненадлежащим образом повлиять (предвзято) на их работу. Примеры потенциальных конфликтов интересов включают занятость, консультации, владение акциями, гонорары, платные экспертные заключения, патентные заявки/регистрации, а также гранты или другое финансирование. Если нет никаких конфликтов к опубликованию материалов в статье, указать, что авторы не имеют конфликта интересов.

В разделе «**Литература**» следует привести список цитированной литературы, оформленный согласно ГОСТ 7.1-2003 «Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления» (требование к изданиям, входящих в перечень КОКСОН). Список литературы должен быть пронумерован в порядке упоминания в тексте (включая цитаты в таблицах и легендах). Включите цифровой идентификатор объекта (DOI) для всех ссылок, где они доступны. В тексте ссылки должны быть заключены в квадратные скобки [...] и поставлены перед знаками препинания; например [1], [1–3] или [1,3].

Примеры оформления ссылок:

Статья в периодическом издании (журнале)

Aspden K., Passmore J.A., Tiedt F., Williamson A.L. Evaluation of lumpy skin disease virus, a capripoxvirus, as a replication-deficient vaccine vector // J. Gen. Virol. – 2003. – Vol. 84 (Pt 8). – P. 1985-1996. doi: ... (при наличии)

Гуненков В.В., Черняк В.П., Кузнецов Г.Д. Сухая живая вакцина против оспы овец из штамма С113/86 // Ветеринария. – 1993. – № 11/12. – С. 23-24.

Книги

Зайцев В.Л. Морфогенез вируса оспы овец в культуре клеток /В.Л.Зайцев, Н.Т.Сандыбаев, К.Т.Султанкулова, В.Ю.Белоусов, О.В.Червякова, В.М.Строчков // Вирус оспы овец: молекулярно-биологические свойства и структура генома. – Алматы, 2011. – С.73-84. ISBN 978-601-278-599-9

Материалы конференций

Султанкулова К.Т. Токсико-биологическая оценка гриба *Histoplasma farciminosum* – возбудителя эпизоотического лимфангоита лошадей // Ветеринарные и зоотехнические вопросы коневодства: первая науч.-практ. конф. - Алматы, 2003. – С. 26-29

Сансызбай А.Р. Эпизоотическая ситуация лимфангита лошадей, вызванного *Histoplasma farciminosum*, в коневодческих хозяйствах Республики Казахстан // Современное состояние и актуальные проблемы развития ветеринарной науки и практики: науч.-практ. конф. – Алматы, 2005. – С. 234-237.

Интернет-источники

Вспышка оспы овец на территории Российской Федерации в Ярославской области [Электрон.ресурс]. - URL: <http://www.fsvps.ru/fsvps/news/18142.html> (дата обращения 3 сентября 2016 г).

Далее приводится транслитерированный список использованных источников в разделе REFERENCES. При этом англоязычные источники дублируются из раздела ЛИТЕРАТУРА, казахскоязычные и русскоязычные ссылки должны быть приведены к латинскому алфавиту (латинице) и английскому переводу. Ссылка должна дополнительно содержать DOI (идентификатор цифрового объекта), если таковой имеется. Транслитерация осуществляется с использованием онлайн-платформы <http://translit-online.ru/>. Эта онлайн-платформа не транслитерирует отдельные буквы казахского алфавита. Авторы должны самостоятельно вносить исправления после транслитерации казахского текста.

Транслитерированный список литературы должен выглядеть в следующем виде для источников на кириллице: автор(-ы) (транслитерация) → (год в круглых скобках) → название статьи в транслитерированном варианте [перевод названия статьи на английский язык в квадратных скобках], название русскоязычного источника (транслитерация, либо английское название – если есть), выходные данные с обозначениями на английском языке.

Например: Gokhberg L., Kuznetsova T. (2011) *Strategiya-2020: novye kontury rossiiskoi innovatsionnoi politiki* [Strategy 2020: New Outlines of Innovation Policy]. *Foresight-Russia*, vol. 5, no 4, pp. 8–30.

5. Оформление обзоров и кратких сообщений

Обзорные статьи должны включать в себя введение, разделы обзора литературы и заключение. Файл шаблона также можно использовать для подготовки первой и заключительной частей обзорной рукописи. Основная часть может содержать разделы и подразделы. Обзоры публикуются по заказу редакции или по инициативе автора.

Краткое сообщение представляет краткий формат информации логически завершеного научного исследования в объёме до 5 страниц, включающее не более 2 рисунков/таблиц/графиков и до 10 ссылок.

6. Особенности оформления таблиц, рисунков

Таблицы должны быть созданы в формате таблицы Microsoft Word. Таблицы должны быть пронумерованы и в тексте должны быть ссылки на каждую таблицу. Заголовок таблицы расположен по центру над таблицей, пояснительные сноски (обозначенные строчными надстрочными буквами) расположены под таблицей. Таблицы не должны дублировать информацию, представленную в тексте.

Все рисунки (фотографии, диаграммы, графики и схемы) должны быть пронумерованы арабскими цифрами (1, 2, ...). Надписи и символы должны быть четко определены либо в подписи, либо в легенде, являющейся частью рисунка.

КАК ПОДАТЬ СТАТЬЮ НА РАССМОТРЕНИЕ

Рукопись статьи направляется в редакцию через форму на сайте журнала journal.biosafety.kz

Загружаемый в систему файл со статьей должен быть представлен в формате Microsoft Word (иметь расширение *.doc или *.docx). Сопроводительное письмо с оригинальными подписями должно быть представлено в формате PDF. Сопроводительное письмо должно быть кратким с указанием соответствия рукописи тематике журнала. Сопроводительное письмо должно содержать утверждения, что ни рукопись, ни какие-либо части ее содержания в настоящее время не находятся на рассмотрении или опубликованы в другом журнале. Все авторы должны одобрить рукопись и согласиться с ее подачей в журнал.

Перед отправкой рукописи убедитесь, что:

- Рукопись проверена на орфографию и грамматику
- Все ссылки, упомянутые в списке литературы, цитируются в тексте, и наоборот
- Получено разрешение на использование материалов, защищенных авторским правом, из других источников (включая Интернет)
- Правила журнала, подробно описанные в этом руководстве, были изучены
- Убедитесь, что все ссылки на рисунки и таблицы в тексте соответствуют предоставленным файлам

7. К сведению авторов

К статье прилагаются:

- сопроводительное письмо (для сторонних организаций).
- сведения об авторах: фамилия, имя и отчество (полностью), ученая степень, должность, место работы, контактные телефоны, адрес для переписки (e-mail).

Решение о публикации принимается редакционной коллегией журнала после рецензирования, учитывая научную значимость и актуальность представленных материалов.

Вид рецензирования – двойное «слепое» рецензирование, то есть и автор, и рецензент остаются анонимными. Рукопись направляется на отзыв члену редколлегии и рецензенту; в спорных случаях по усмотрению редколлегии привлекаются дополнительные рецензенты; на основании экспертных заключений редколлегия определяет дальнейшую судьбу рукописи: принятие к публикации в представленном виде, необходимость доработки или отклонение. В случае необходимости рукопись направляется авторам на доработку по замечаниям рецензентов и редакторов, после чего она повторно рецензируется, и редколлегия вновь решает вопрос о приемлемости рукописи для публикации. Переработанная рукопись должна быть возвращена в редакцию в течение месяца после получения авторами отзывов; в противном случае рукопись рассматривается как вновь поступившая. Рукопись, получившая недостаточно высокие оценки при рецензировании, отклоняется как не соответствующая уровню или профилю публикаций журнала.

Авторы несут ответственность за достоверность и значимость научных результатов, а также актуальность научного содержания работ.

Направление статьи в редакцию означает, что авторы не передали аналогичный материал (в оригинале или в переводе на другие языки или с других языков) в другой журнал (ы), что этот материал не был ранее опубликован и не будет направлен в печать в другое издание или не принят в печать в другом журнале. Если в ходе работы над рукописью выяснится, что аналогичный материал (возможно, под другим названием и с другим порядком авторов) направлен в другой журнал, статья немедленно возвращается авторам, о происшедшем сообщается в журнал, принявший к рассмотрению этот материал, с рекомендацией отклонить статью за нарушение авторских прав редакции и издательства.

Наш адрес:

080409, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, ул. Момышулы 15

ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности»

Учебный научно-образовательный центр (УНОЦ), тел. (726-36) 7-22-28.

E-mail: unots@biosafety.kz

Публикация в журнале для авторов **бесплатна**.

НАЗВАНИЕ

Имя Фамилия¹, Имя Фамилия², Имя Фамилия².*¹ Место работы² Место работы

*e-mail (если авторов-корреспондентов несколько, добавьте инициалы авторов)

Аннотация. Один абзац не более 300 слов, при этом не менее 150 слов. В аннотации должны быть кратко изложены цель исследования, основные результаты и основные выводы. Аннотация часто представляется отдельно от статьи. В связи с этим следует избегать ссылок, нестандартных или необычных сокращений, но, если они необходимы, они должны быть определены при их первом упоминании в самом реферате. Аннотация должна быть объективным изложением статьи, не должна содержать результатов, не представленных и не обоснованных в основном тексте, и не должна преувеличивать основные выводы.

Ключевые слова: ключевое слово 1; ключевое слово 2; ключевое слово 3 (5-10 слов или словосочетаний, должны отражать основное содержание статьи; определить предметную область исследования. Каждое ключевое слово отделяется точкой с запятой)

Как использовать данный шаблон

В шаблоне подробно описаны разделы, которые должны быть использованы рукописи. Обратите внимание, что у каждого раздела есть соответствующий стиль, который можно найти в меню «Стили» Word. Разделы, которые не являются обязательными, перечислены как таковые. Названия разделов даны для оригинальных статей. Обзорные статьи и другие типы статей имеют более гибкую структуру.

Удалите этот абзац и начните с раздела «Введение». По всем вопросам обращайтесь в редакцию журнала по адресу unots@biosafety.kz.

Введение

Во введении следует изложить текущее состояние области исследований и процитировать основные публикации, обосновать актуальность и значимость проводимых исследований. Необходимо кратко указать цель работы. Насколько это возможно, сделайте введение понятным для ученых, не занимающихся вашей конкретной областью исследований. Ссылки должны быть пронумерованы в порядке их появления и обозначены цифрой или цифрами в квадратных скобках, например, [1] или [2,3], или [4–6].

Материалы и методы

Данный раздел должен быть описан достаточно подробно, чтобы другие могли воспроизвести и использовать опубликованные результаты. Новые методы и протоколы должны быть описаны подробно, в то время как хорошо зарекомендовавшие себя методы могут быть кратко описаны и надлежащим образом процитированы, например, [1] или [2,3], или [4–6].

Исследования с участием животных или людей, а также другие исследования, требующие этического одобрения, должны указывать орган, предоставивший одобрение, и соответствующий кодекс этического одобрения.

При необходимости этот раздел может быть разделен на подразделы.

Подраздел

Результаты

Данный раздел должен содержать краткое и точное описание экспериментальных результатов, их интерпретацию, а также экспериментальные выводы, которые можно сделать. При необходимости этот раздел может быть разделен на подразделы.

Подраздел

Таблицы и рисунки

Таблицы и рисунки должны быть пронумерованы и в тексте на них должны быть ссылки. Например, Таблица 1, Рисунок 1 и т.п.

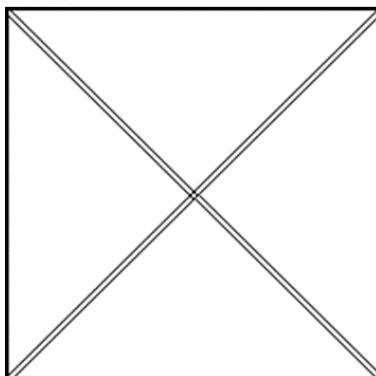


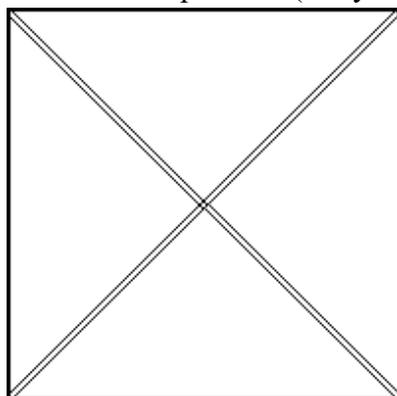
Рисунок 1 – Это рисунок. Схемы имеют такое же форматирование

Таблица 1 – Это таблица. Таблицы следует размещать в основном тексте рядом с местом первого упоминания

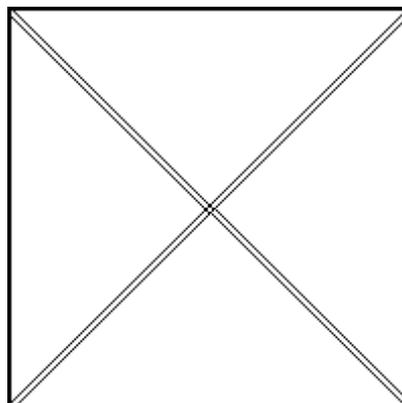
Заголовок 1	Заголовок 2	Заголовок 3
вводные 1	данные	данные
вводные 2	данные	данные ¹

¹ Примечания к данным таблицы разместить под таблицей.

Продолжить текст раздела (Рисунок 2).



(а)



(б)

Если имеется несколько панелей, они должны быть перечислены следующим образом: (а) описание того, что содержится в первой панели; (б) Описание того, что содержится во второй панели

Рисунок 2 – Это рисунок. Рисунки следует размещать в основном тексте рядом с местом первого упоминания

Обсуждение

Авторы должны обсудить полученные результаты и то, как их можно интерпретировать с точки зрения предыдущих исследований и рабочих гипотез. В обсуждении можно привести возможные объяснения сходства и противоречий с другими аналогичными исследованиями. В

максимально широком контексте следует обсудить выводы и их значение. Также в данном разделе могут быть выделены будущие направления исследований.

Заключение

Данный раздел включает обобщение и подведение итогов работы на текущем этапе. Выводы должны быть точными и использоваться для обобщения результатов исследований в конкретных научных областях с описанием предложений или возможностей дальнейшей работы.

Финансирование: Укажите источник финансирования исследований (название финансирующей организации, номер гранта). Внимательно проверьте правильность приведенных данных и используйте стандартное написание названий финансирующих организаций.

Благодарности: В этом разделе вы можете отметить любую оказанную поддержку. Это может включать административную и техническую поддержку или предоставление материалов для экспериментов.

Конфликт интересов: Все авторы должны раскрывать информацию о любых финансовых и личных отношениях с другими людьми или организациями, которые могут ненадлежащим образом повлиять (предвзято) на их работу. Примеры потенциальных конфликтов интересов включают занятость, консультации, владение акциями, гонорары, платные экспертные заключения, патентные заявки/регистрации, а также гранты или другое финансирование. Если нет никаких конфликтов к опубликованию материалов в статье, указать, что авторы не имеют конфликта интересов.

Литература

В данном разделе следует привести список цитированной литературы оформленный согласно ГОСТ 7.1-2003 «Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления» (требование к изданиям, входящих в перечень КОКСОН). Список литературы должен быть пронумерован в порядке упоминания в тексте (включая цитаты в таблицах и легендах). Включите цифровой идентификатор объекта (DOI) для всех ссылок, где они доступны. В тексте ссылки должны быть заключены в квадратные скобки [...] и поставлены перед знаками препинания; например [1], [1–3] или [1,3].

1. Aspden K., Passmore J.A., Tiedt F., Williamson A.L. Evaluation of lumpy skin disease virus, a capripoxvirus, as a replication-deficient vaccine vector // J. Gen. Virol. – 2003. – Vol. 84 (Pt 8). – P. 1985-1996. doi: ... (при наличии)

2. Гуненко В.В., Черняк В.П., Кузнецов Г.Д. Сухая живая вакцина против оспы овец из штамма С113/86 // Ветеринария. – 1993. – № 11/12. – С. 23-24.

3. Зайцев В.Л. Морфогенез вируса оспы овец в культуре клеток /В.Л.Зайцев, Н.Т.Сандыбаев, К.Т.Султанкулова, В.Ю.Белоусов, О.В.Червякова, В.М.Строчков // Вирус оспы овец: молекулярно-биологические свойства и структура генома. – Алматы, 2011. – С.73-84. ISBN 978-601-278-599-9

4. Султанкулова К.Т. Токсико-биологическая оценка гриба *Histoplasma farciminosum* – возбудителя эпизоотического лимфангоита лошадей // Ветеринарные и зоотехнические вопросы коневодства: первая науч.-практ. конф. - Алматы, 2003. – С. 26-29

5. Сансызбай А.Р. Эпизоотическая ситуация лимфангита лошадей, вызванного *Histoplasma farciminosum*, в коневодческих хозяйствах Республики Казахстан //Современное состояние и актуальные проблемы развития ветеринарной науки и практики: науч.-практ. конф. – Алматы, 2005. – С. 234-237.

6. Вспышка оспы овец на территории Российской Федерации в Ярославской области [Электрон.ресурс]. - URL: <http://www.fsvps.ru/fsvps/news/18142.html> (дата обращения 3 сентября 2016 г).

References

Далее приводится транслитерированный список использованных источников в разделе REFERENCES. При этом англоязычные источники дублируются из раздела ЛИТЕРАТУРА, казахскоязычные и русскоязычные ссылки должны быть приведены к латинскому алфавиту (латинице) и английскому переводу. Ссылка должна дополнительно содержать DOI (идентификатор цифрового объекта), если таковой имеется. Транслитерация осуществляется с использованием онлайн-платформы <http://translit-online.ru/>. Эта онлайн-платформа не транслитерирует отдельные буквы казахского алфавита. Авторы должны самостоятельно вносить исправления после транслитерации казахского текста.

Транслитерированный список литературы должен выглядеть в следующем виде для источников на кириллице: автор(-ы) (транслитерация) → (год в круглых скобках) → название статьи в транслитерированном варианте [перевод названия статьи на английский язык в квадратных скобках], название русскоязычного источника (транслитерация, либо английское название – если есть), выходные данные с обозначениями на английском языке.

Например:

1. Gokhberg L., Kuznetsova T. (2011) *Strategiya-2020: novye kontury rossiiskoi innovatsionnoi politiki* [Strategy 2020: New Outlines of Innovation Policy]. Foresight-Russia, vol. 5, no 4, pp. 8–30.

МАҚАЛА ТАҚЫРЫБЫ

Аты Тегі¹ , Аты Тегі² , Аты Тегі² .*

¹ Жұмыс орны

² Жұмыс орны

*e-mail (егер бірнеше автор-корреспондент болса, авторлардың инициалдарын қосыңыз)

Аннотация. Бір абзац 300 сөзден аспайды, 150 сөзден кем емес. Аннотацияда зерттеу мақсаты, негізгі нәтижелер мен негізгі қорытындылар қысқаша көрсетілуі керек. Аннотация көбінесе мақаладан бөлек беріледі. Осыған байланысты сілтемелерден, стандартты емес немесе әдеттен тыс аббревиатуралардан аулақ болу керек, бірақ қажет болған жағдайда олар рефераттың өзінде бірінші рет айтылған кезде анықталуы керек. Аннотация мақаланың объективті баяндалуы болуы керек, негізгі мәтінде көрсетілмеген немесе дәлелденбеген нәтижелерді қамтымауы керек және негізгі қорытындыларды асыра көрсетпеуі керек.

Түйін сөздер: түйінсөз 1; түйінсөз 2; түйінсөз 3 (5-10 сөз немесе сөз тіркестері мақаланың негізгі мазмұнын көрсетуі керек; зерттеудің пәндік саласын анықтау. Әрбір түйінді сөз нүктелі үтірмен бөлінеді)

TITLE

Firstname Lastname¹ , Firstname Lastname² , Firstname Lastname² ,*

¹ Affiliation

² Affiliation

* e-mail (if there are more than one correspondent authors, add the initials of the authors)

Abstract. One paragraph no more than 300 words, with no less than 150 words. The abstract should briefly describe the purpose of the study, the main results and main conclusions. The abstract is often presented separately from the article. In this regard, references, non-standard or unusual abbreviations should be avoided, but, if necessary, they should be identified at their first mention in the abstract itself. The abstract should be an objective presentation of the article, should not contain results that are not presented or substantiated in the main text, and should not exaggerate the main conclusions.

Keywords: keyword 1; keyword 2; keyword 3 (5-10 words or phrases should reflect the main content of the article; define the subject area of the study. Each keyword is separated by a semicolon)