

ISSN 2518-1629 (Online),
ISSN 2224-5308 (Print)

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ҰЛТТЫҚ ҒЫЛЫМ АКАДЕМИЯСЫНЫҢ
С. Ж. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті

Х А Б А Р Л А Р Ы

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Казакский национальный медицинский
университет им. С. Д. Асфендиярова

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

Asfendiyarov
Kazakh National Medical University

**SERIES
OF BIOLOGICAL AND MEDICAL**

3 (339)

MAY-JUNE 2020

PUBLISHED SINCE JANUARY 1963

PUBLISHED 6 TIMES A YEAR

ALMATY, NAS RK

Б а с р е д а к т о р

ҚР ҰҒА академигі, м. ғ. д., проф.

Ж. А. Арзықұлов

Абжанов Архат, проф. (Бостон, АҚШ),
Абелев С.К., проф. (Мәскеу, Ресей),
Айтқожина Н.А., проф., академик (Қазақстан)
Акшулаков С.К., проф., академик (Қазақстан)
Алшынбаев М.К., проф., академик (Қазақстан)
Бәтпенев Н.Д., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Березин В.Э., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Берсімбаев Р.И., проф., академик (Қазақстан)
Беркінбаев С.Ф., проф., (Қазақстан)
Бисенбаев А.К., проф., академик (Қазақстан)
Бишимбаева Н.Қ., проф., академик (Қазақстан)
Ботабекова Т.К., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Bosch Ernesto, prof. (Spain)
Давлетов Қ.К., ассоц.проф., жауапты хатшы
Жансүгірова Л.Б., б.ғ.к., проф. (Қазақстан)
Ellenbogen Adrian, prof. (Tel-Aviv, Israel),
Жамбакин Қ.Ж., проф., академик (Қазақстан), бас ред. орынбасары
Заядан Б.К., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Ishchenko Alexander, prof. (Villejuif, France)
Исаева Р.Б., проф., (Қазақстан)
Қайдарова Д.Р., проф., академик (Қазақстан)
Қохметова А.М., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Күзденбаева Р.С., проф., академик (Қазақстан)
Локшин В.Н., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Лось Д.А., prof. (Мәскеу, Ресей)
Lunenfeld Bruno, prof. (Израиль)
Макашев Е.К., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Миталипов Ш.М., (Америка)
Муминов Т.А., проф., академик (Қазақстан)
Огарь Н.П., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Омаров Р.Т., б.ғ.к., проф., (Қазақстан)
Продеус А.П., проф. (Ресей)
Purton Saul, prof. (London, UK)
Рахыпбеков Т.К., проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Сапарбаев Мұрат, проф. (Париж, Франция)
Сарбасов Дос, проф. (Хьюстон, АҚШ)
Тұрысбеков Е.К., б.ғ.к., асс.проф. (Қазақстан)
Шарманов А.Т., проф. (АҚШ)

«ҚР ҰҒА Хабарлары. Биология және медициналық сериясы».

ISSN 2518-1629 (Online), ISSN 2224-5308 (Print)

Меншіктенуші: «Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы» РҚБ (Алматы қ.).

Қазақстан республикасының Мәдениет пен ақпарат министрлігінің Ақпарат және мұрағат комитетінде
01.06.2006 ж. берілген №5546-Ж мерзімдік басылым тіркеуіне қойылу туралы куәлік.

Мерзімділігі: жылына 6 рет.

Тиражы: 300 дана.

Редакцияның мекенжайы: 050010, Алматы қ., Шевченко көш., 28; 219, 220 бөл.; тел.: 272-13-19, 272-13-18;
<http://biological-medical.kz/index.php/en/>

© Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы, 2020

Типографияның мекенжайы: «NurNaz GRACE», Алматы қ., Рысқұлов көш., 103.

Г л а в н ы й р е д а к т о р

академик НАН РК, д.м.н., проф.

Ж. А. Арзыкулов

Абжанов Архат, проф. (Бостон, США),
Абелев С.К., проф. (Москва, Россия),
Айтхожина Н.А., проф., академик (Казахстан)
Акшулаков С.К., проф., академик (Казахстан)
Алчинбаев М.К., проф., академик (Казахстан)
Батпенев Н.Д., проф., чл.-корр. (Казахстан)
Березин В.Э., проф., чл.-корр. (Казахстан)
Берсимбаев Р.И., проф., академик (Казахстан)
Беркинбаев С.Ф., проф. (Казахстан)
Бисенбаев А.К., проф., академик (Казахстан)
Бишимбаева Н.К., проф., академик (Казахстан)
Ботабекова Т.К., проф., чл.-корр. (Казахстан)
Bosch Ernesto, prof. (Spain)
Давлетов К.К., ассоц. проф., ответственный секретарь
Джансугурова Л. Б., к.б.н., проф. (Казахстан)
Ellenbogen Adrian, prof. (Tel-Aviv, Israel),
Жамбакин К.Ж., проф., академик (Казахстан), зам. гл. ред.
Заядан Б.К., проф., чл.-корр. (Казахстан)
Ishchenko Alexander, prof. (Villejuif, France)
Исаева Р.Б., проф. (Казахстан)
Кайдарова Д.Р., проф., академик (Казахстан)
Кохметова А.М., проф., чл.-корр. (Казахстан)
Кузденбаева Р.С., проф., академик (Казахстан)
Локшин В.Н., проф., чл.-корр. (Казахстан)
Лось Д.А., prof. (Москва, Россия)
Lunenfeld Bruno, prof. (Израиль)
Макашев Е.К., проф., чл.-корр. (Казахстан)
Миталипов Ш.М., (Америка)
Муминов Т.А., проф., академик (Казахстан)
Огарь Н.П., проф., чл.-корр. (Казахстан)
Омаров Р.Т., к.б.н., проф. (Казахстан)
Продеус А.П., проф. (Россия)
Purton Saul, prof. (London, UK)
Рахыпбеков Т.К., проф., чл.-корр. (Казахстан)
Сапарбаев Мурат, проф. (Париж, Франция)
Сарбасов Дос, проф. (Хьюстон, США)
Турсыбеков Е. К., к.б.н., асс. проф. (Казахстан)
Шарманов А.Т., проф. (США)

«Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская».

ISSN 2518-1629 (Online), ISSN 2224-5308 (Print)

Собственник: РОО «Национальная академия наук Республики Казахстан» (г. Алматы).

Свидетельство о постановке на учет периодического печатного издания в Комитете информации и архивов Министерства культуры и информации Республики Казахстан №5546-Ж, выданное 01.06.2006 г.

Периодичность: 6 раз в год.

Тираж: 300 экземпляров.

Адрес редакции: 050010, г. Алматы, ул. Шевченко, 28; ком. 219, 220; тел. 272-13-19, 272-13-18;

<http://biological-medical.kz/index.php/en/>

© Национальная академия наук Республики Казахстан, 2020

Адрес типографии: «NurNazGRACE», г. Алматы, ул. Рыскулова, 103.

Editor in chief

Zh. A. Arzykulov,
academician of NAS RK, Dr. med., prof.

Abzhanov Arkhat, prof. (Boston, USA),
Abelev S.K., prof. (Moscow, Russia),
Aitkhozhina N.A., prof., academician (Kazakhstan)
Akshulakov S.K., prof., academician (Kazakhstan)
Alchinbayev M.K., prof., academician (Kazakhstan)
Batpenov N.D., prof., corr. member (Kazakhstan)
Berezin V.Ye., prof., corr. member (Kazakhstan)
Bersimbayev R.I., prof., academician (Kazakhstan)
Berkinbaev S.F., prof. (Kazakhstan)
Bisenbayev A.K., prof., academician (Kazakhstan)
Bishimbayeva N.K., prof., academician (Kazakhstan)
Botabekova T.K., prof., corr. member (Kazakhstan)
Bosch Ernesto, prof. (Spain)
Davletov Kairat, PhD, associate professor, executive Secretary
Dzhansugurova L.B., Cand. biol., prof. (Kazakhstan)
Ellenbogen Adrian, prof. (Tel-Aviv, Israel),
Zhambakin K.Zh., prof., academician (Kazakhstan), deputy editor-in-chief
Ishchenko Alexander, prof. (Villejuif, France)
Isayeva R.B., prof. (Kazakhstan)
Kaydarova D.R., prof., academician (Kazakhstan)
Kokhmetova A., prof., corr. member (Kazakhstan)
Kuzdenbayeva R.S., prof., academician (Kazakhstan)
Lokshin V.N., prof., corr. member (Kazakhstan)
Los D.A., prof. (Moscow, Russia)
Lunenfeld Bruno, prof. (Israel)
Makashev E.K., prof., corr. member (Kazakhstan)
Mitalipov Sh.M. (America)
Muminov T.A., prof., academician (Kazakhstan)
Ogar N.P., prof., corr. member (Kazakhstan)
Omarov R.T., cand. biol., prof. (Kazakhstan)
Prodeus A.P., prof. (Russia)
Purton Saul, prof. (London, UK)
Rakhypbekov T.K., prof., corr. member (Kazakhstan)
Saparbayev Murat, prof. (Paris, France)
Sarbassov Dos, prof. (Houston, USA)
Turyzbekov E.K., cand. biol., assoc. prof. (Kazakhstan)
Sharmanov A.T., prof. (USA)

News of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan. Series of biology and medicine.
ISSN 2518-1629 (Online), ISSN 2224-5308 (Print)

Owner: RPA "National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan" (Almaty).

The certificate of registration of a periodic printed publication in the Committee of information and archives of the Ministry of culture and information of the Republic of Kazakhstan N 5546-Ж, issued 01.06.2006.

Periodicity: 6 times a year.

Circulation: 300 copies.

Editorial address: 28, Shevchenko str. of. 219, 220, Almaty, 050010; tel. 272-13-19, 272-13-18;

<http://biological-medical.kz/index.php/en/>

© National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, 2020

Address of printing house: «NurNaz GRACE», 103, Ryskulov str, Almaty.

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 3, Number 339 (2020), 29 – 34

<https://doi.org/10.32014/2020.2519-1629.20>

UDC 579:864.1:57.008.6:577.115

²N.N. Gavrilova, ¹Zh.E. Sagidoldina, ²A.K. Sadanov, ²I.A. Ratnikova

¹Kazakh National Agrarian University, Almaty, Kazakhstan;

²“Scientific-Production Center of Microbiology and Virology” LLP, Almaty, Kazakhstan.

E-mail: sagidoldina79@mail.ru

SELECTION OF A NUTRIENT MEDIUM FOR GROWING BACTERIA WHICH ARE PART OF AN ENVIRONMENTALLY FRIENDLY VETERINARY PROBIOTIC PREPARATION

Abstract. Information is given on the importance of selecting a nutrient medium for cultivating bacteria that make up environmentally friendly veterinary probiotic preparation. When creating a probiotic, the antimicrobial activity of bacteria included in their composition against pathogens was taken into account, which depends on composition of nutrient medium for cultivating probiotic microorganisms.

It was determined that composition of nutrient medium affects antimicrobial activity of probiotic bacteria. During the experiment, antagonistic activity of probiotic bacteria was not detected for any of the test cultures on two media, namely: No. 4 - 5% milk serum + 3% molasses; No. 5 - 5% milk serum without additives.

According to the results of study, for cultivating probiotic lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum* 1, *Streptococcus salivarius* 20n, *Lactobacillus fermentum* 15 and propionic acid bacteria *Propionibacterium shermanii* 34, nutrient medium MRS can be recommended, in which sucrose or glucose is used as a carbon source, as well as five percent milk serum with addition of molasses (1.5%) and yeast extract (0.015-0.020%). The data presented indicate the need for selection of optimal nutrient media for creating probiotics for preventing and treating diseases of farm animals and birds.

Key words: probiotic bacteria, growth media, antimicrobial activity, viable cells' titer.

The environmental safety requirements for livestock products have forced the world to revise many methodological approaches for optimizing control over epizootic process of diseases caused by conditionally pathogenic microflora, and recognize the need to develop a new generation of environmentally friendly medicaments that can provide biological protection for farm animals and poultry. Most fully these requirements can be met by probiotic feed additives and preparations, which include live bacteria from among the main representatives of the normal intestinal microbiocenosis of animals and birds, such as lactobacilli, bifidobacteria, enterococci [1-6]. The use of probiotics in veterinary medicine involves a fairly wide range of problems, including correction of intestinal biocenosis, immune, hormonal and enzyme systems of young animals. In addition, probiotics are relevant not only for livestock, but also for health care in order to reduce the risk of human morbidity and improve the environmental safety of agricultural products [7-9].

The rationale for using probiotics in veterinary medicine are the positive effects they cause in animals. The main effects of probiotics include improved digestion, an immunostimulating effect, and increased animal productivity.

Improvement of digestion processes occurs due to colonization of the intestine with microorganisms of probiotics, which are antagonists of conditionally pathogenic enterobacteria, they produce biologically

active substances. At the same time, the synthesis of microbial protein and vitamins increases, and so does the absorption of nutrients increases [7–9]. Currently, a large number of probiotics for animal husbandry are known, consisting of lactic acid and bifidobacteria, which are the main protective group of intestinal microorganisms that are harmless to humans and animals [10-14].

One of the ways to repel infectious diseases can be the use of probiotics based on lactic acid bacteria for therapeutic and prophylactic purposes. These microorganisms are symbionts of the gastrointestinal tract, harmless to humans and animals. They have a therapeutic effect due to antimicrobial activity, activation of the immune system, mainly non-specific link of the immune system, and normalization of the intestinal microflora. The antimicrobial activity of probiotic microorganisms is influenced by composition of the nutrient medium on which they are cultivated [15-16].

The aim of our study was to select the optimal nutrient medium for growing bacteria that are part of the probiotic.

Materials and methods. The objects of research were lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum* 1, *Streptococcus salivarius* 20н, *Lactobacillus fermentum* 15 and propionic acid bacteria - *Propionibacterim shermanii* 34, selected as a probiotic.

For the cultivation of probiotic microorganisms, nutrient media were tested: MRS with various carbon sources (glucose, lactose, sucrose) and milk serum with molasses and yeast extract additives. Probiotic microorganisms were grown in an incubator for 24 hours. The growth temperature of lactic acid bacteria was 37⁰ C, for propionic acid bacteria - 28⁰ C. The number of microorganisms was calculated by a series of serial dilutions in sterile tap water and plating them in an agarized nutrient medium, followed by counting the grown colonies. The antimicrobial activity of microorganisms was determined by agar diffusion [17] in relation to test cultures: *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella gallinarum*, *Shigella flexneri* 11, *Shigella sonnei*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter sp.*, *Edwardsiella sp.*, *Yersinia sp.*, *Escherichia coli*.

Results of research and their discussion. When growing probiotic microorganisms on MRS medium with various carbon sources, their titer ranged from $nx10^7$ to $nx10^{11}$ CFU / ml. The data obtained are shown in table 1.

Table 1 – The dependence of bacterial growth on the carbon source in MRS medium

Microorganism strains	Bacteria titer, CFU / ml, depending on carbon source		
	Glucose	Lactose	Sucrose
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	1,88x10 ¹⁰	2,45x10 ⁷	2,35x10 ¹⁰
<i>Streptococcus salivary</i> 20н	2,18x10 ¹⁰	1,29x10 ⁷	2,35x10 ¹⁰
<i>Lactobacillus fermentum</i> 15	4,36x10 ¹¹	1,84x10 ⁷	2,35x10 ¹⁰
<i>Propionibacterim shermanii</i> 34	1,35x10 ¹⁰	1,20x10 ⁷	1,19x10 ¹⁰

The most optimal carbon sources for the growth of lactic acid and propionic acid bacteria on MRS medium are sucrose and glucose (1-4x10¹⁰ CFU / ml). The maximum number of cells was detected in *Lactobacillus fermentum* 15 with growth on MRS medium with glucose as a carbon source (4.36 × 10¹¹ CFU/ml). The smallest bacterium titer was observed with growth on medium MRS with lactose (1-2x10⁷ CFU / ml).

When growing probiotic microorganisms on milk serum without additives and with additives of molasses and yeast extract, the titer ranged from $nx10^7$ to $nx10^{10}$ CFU / ml. The data obtained are shown in table 2.

Table 2 - Bacterial growth on whey with molasses and yeast extract

Microorganism strains	Bacteria titer, CFU / ml on 5% serum with additives				
	3 % molasses	1,5 % molasses + 0,01 % yeast extract	1,5 % molasses + 0,015 % yeast extract	1,5 % molasses + 0,020 % yeast extract	Without additives
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	1,34x10 ⁹	2,48x10 ⁸	2,75x10 ⁹	1,94x10 ¹⁰	1,45x10 ⁷
<i>Streptococcus salivarius</i> 20н	7,19x10 ⁹	3,38x10 ⁸	2,64x10 ⁹	3,34x10 ¹⁰	7,38x10 ⁷
<i>Lactobacillus fermentum</i> 15	5,57x10 ⁹	5,84x10 ⁷	2,08x10 ¹⁰	4,28x10 ¹⁰	1,54x10 ⁷
<i>Propionibacterim shermanii</i> 34	3,29x10 ⁹	4,15x10 ⁸	2,21x10 ¹⁰	1,45x10 ¹⁰	3,28x10 ⁷

It was found that in case of growth on milk serum without additives, the content of bacterial cells in 1 ml of medium did not exceed $1-7 \times 10^7$ CFU / ml. When growing on whey with the addition of 3% molasses, the bacterium titer was $n \times 10^9$ CFU / ml. The maximum accumulation of bacterial cells in *Streptococcus salivarius* 20n, *Lactobacillus fermentum* 15, *Propionibacterium shermanii* 34 and *Lactobacillus plantarum* 1 was observed on whey supplemented with 1.5% molasses and 0.015-0.020% yeast extract. In this case, the titer of bacteria was equal to $(1-4 \times 10^{10})$ CFU / ml.

Data obtained by the antagonistic activity of bacteria depending on the carbon source (medium MRS) is shown in table 3.

Table 3 - Antagonistic activity of bacteria depending on the carbon source (MRS medium)

Microorganism strains	The diameter of zones of test cultures' growth inhibition, mm																					
	<i>Salmonella typhimurium</i>		<i>Salmonella enteritidis</i>		<i>Salmonella gallinarum</i>		<i>Shigella flexneri 11</i>		<i>Shigella sonnei</i>		<i>Proteus vulgaris</i>		<i>Citrobacter sp.</i>		<i>Edwardsiella sp.</i>		<i>Yersinia sp.</i>		<i>Escherichia coli</i>			
	g	s	g	s	g	s	g	s	g	s	g	s	g	s	g	s	g	s	g	s	g	s
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	18.2	19	19	20	18	18	9.4	11	8.5	9	10	13	17	18	16	18	16	16	20	23		
<i>Streptococcus salivarius</i> 20n	15	15	15	16	18.6	19	12.9	15	9.7	11	10	10	16.5	17	17.5	19	18.2	19	15.5	17		
<i>Lactobacillus fermentum</i> 15	16.5	17	17	21	19.9	21	11	12	13	15	10	11	18	21	14	15	19	22	18.9	21		
<i>Propionibacterium shermanii</i> 34	9.4	10	10	11	12	12	0	9	0	0	0	9	0	0	0	18	0	0	10	12		

Note: carbon sources g - glucose, s - sucrose

The antagonistic activity of bacteria during growth on MRS medium was detected when glucose and sucrose served as carbon sources. The diameter of zones of test cultures' growth inhibition in this case ranged from 9 to 23 mm. The greatest activity is manifested when sucrose is used as a carbon source. No antagonistic activity of probiotic bacteria was detected with growth on this medium with lactose.

Data obtained by the antagonistic activity of bacteria grown on milk serum with molasses and yeast extract is shown in table 4.

Five variants of whey-based media were investigated: No. 1 - 5% milk serum + 1.5% molasses + 0.01% yeast extract; No. 2 - 5% milk serum + 1.5% molasses + 0.015% yeast extract; No. 3 - 5% milk serum + 1.5% molasses + 0.020% yeast extract; No. 4 - 5% milk serum + 3% molasses; No. 5 - 5% milk serum without additives.

Antagonistic activity of probiotic bacteria were not detected for any of the test cultures on two media, namely: No. 4 - 5% milk serum + 3% molasses; No. 5 - 5% milk serum without additives.

Probiotic bacteria showed activity on media No. 1, No. 2 and No. 3. The highest activity is manifested when using medium No. 3, which includes 5% milk serum + 1.5% molasses + 0.020% yeast extract. Therefore, to obtain active cultures of the studied strains of lactic acid bacteria, 5% milk serum can be used as a nutrient medium, however, additives and especially nitrogen ones are necessary for this.

Conclusion. Thus, according to the data obtained as a result of the study, it is possible to recommend cultivation of probiotic microorganisms, namely: lactic acid bacteria *Lactobacillus plantarum* 1, *Streptococcus salivarius* 20n, *Lactobacillus fermentum* 15 and propionic acid bacteria *Propionibacterium shermanii* 34, and suggest using MRS medium in which glucose or sucrose serves as a carbon source, and five percent milk serum with the addition of molasses (1.5%) and yeast extract (0.015-0.020%).

Н.Н. Гаврилова², Ж.Е. Сагидолдина¹, А.К. Саданов², И.А. Ратникова²

¹Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Алматы, Қазақстан;

²ЖШС «Микробиология және вирусология ғылыми-өндірістік орталығы», Алматы, Қазақстан

ЭКОЛОГИЯЛЫҚ ТАЗА ВЕТЕРИНАРЛЫҚ ПРОБИОТИКАЛЫҚ ПРЕПАРАТТЫҢ ҚҰРАМЫНА КІРЕТІН БАКТЕРИЯЛАРДЫ ӨСІРУ ҮШІН ҚОРЕКТІК ОРТАНЫ ТАҢДАУ

Аннотация. Экологиялық таза ветеринарлық пробиотикалық препараттың құрамына кіретін бактерияларды өсіру үшін қоректік ортаны таңдаудың маңыздылығы туралы ақпарат беріледі. Пробиотикті құру кезінде олардың құрамына енгізілген бактериялардың микробқа қарсы белсенділігі ескерілді, бұл пробиотикалық микроорганизмдерді өсіру үшін қоректік ортаның құрамына байланысты.

Пробиотик ретінде таңдалған *Lactobacillus plantarum* 1, *Streptococcus salivarius* 20n, *Lactobacillus fermentum* 15 және пропион қышқылы *Propionibacterium shermanii* 34 бактериялары болды. Пробиотикалық микроорганизмдерді өсіру үшін қоректік орта қолданылды: әр түрлі көміртек көздері бар ШПК (глюкоза, лактоза, сахароза) және меласса мен ашытқы сығындысының қоспалары бар сарысу. Пробиотикалық микроорганизмдер 24 сағат ішінде инкубаторда өсірілді. Сүт қышқылы бактерияларын өсіру температурасы 37⁰ С, пропион қышқылы бактериялары үшін – 28⁰ С құрады. Микроорганизмдер санын стерильденген ағынды сулардағы сериялық ерітінділер сериясымен және оларды ағарланған қоректік ортаға салып, өсірілген колонияларды санау арқылы есептеді. Микроорганизмдердің микробқа қарсы белсенділігі сынау дақылдарына қарсы ағарды таратумен анықталды: *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella gallinarum*, *Shigella flexneri* 11, *Shigella sonnei*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter* sp., *Edwardsiella* sp., *Yersinia* sp., *Escherichia coli*.

Пробиотикалық микроорганизмдерді әртүрлі көміртегі көздерімен МРС ортасында өсіру кезінде олардың титрі $n \times 10^7$ -ден $n \times 10^{11}$ КҚБ / мл дейін өзгерді. МРС ортасында сүт қышқылы мен пропион қышқылы бактерияларының көбеюінің ең оңтайлы көздері - сахароза мен глюкоза ($1-4 \times 10^{10}$ КҚБ / мл). *Lactobacillus fermentum* 15 клеткалардың ең көп мөлшері көміртек көзі ретінде глюкозамен (4.36×10^{11} КҚБ / мл) МРС ортасында өсуімен анықталды. Бактериялардың ең кіші титрі лактоза мөлшері орташа ШПК-де ($1-2 \times 10^7$ КҚБ / мл) өсуімен байқалды.

Сарысуда пробиотикалық микроорганизмдерді қоспасыз және меласса мен ашытқы сығындысын қосқанда, титр $n \times 10^7$ -ден $n \times 10^{10}$ КҚБ / мл дейін өзгерді. Қоспасыз сүт сарысуында өсу кезінде бактериялық жасушалардың 1 мл ортадағы мөлшері $1-7 \times 10^7$ КҚБ / мл аспайтындығы анықталды. Сүт сарысуында 3% меласса қосып өсірген кезде бактерия титрі $n \times 10^9$ CFU / мл болды. Бактерия жасушаларының максималды жинақталуы *Streptococcus salivarius* 20n, *Lactobacillus fermentum* 15, *Propionibacterium shermanii* 34 және *Lactobacillus plantarum* 1 сарысуда 1,5% шұңқыр мен 0,015-0,020% ашытқы сығындысы қосылған. Бұл жағдайда бактериялардың титрі ($1-4 \times 10^{10}$) КҚБ / мл тең болды.

МРС ортасында өсу кезіндегі бактериялардың антагонистік белсенділігі глюкоза мен сахароза көміртегі көзі ретінде қызмет еткен кезде анықталды. Бұл жағдайда сынақ дақылдарының өсуін тежейтін аймақтардың диаметрі 9-дан 23 мм-ге дейін болды. Ең үлкен белсенділік сахароза көміртегі көзі ретінде қолданылған кезде көрінеді. Осы ортада лактоза өскен кезде пробиотикалық бактериялардың антагонистік белсенділігі анықталған жоқ.

Сарысуға негізделген ортаның бес нұсқасы зерттелді: №1 - 5% сарысулық + 1,5% меласса + 0,01% ашытқы сығындысы; №2 - 5% сарысу + 1,5% меласса + 0,015% ашытқы сығындысы; №3 - 5% сарысу + 1,5% меласса + 0,020% ашытқы сығындысы; №4 - 5% сарысу + 3% меласса; №5 - қоспасыз 5% сарысу. Антагонистік белсенді пробиотикалық бактериялар екі ортада сынақ дақылдарының ешқайсысында анықталмады, атап айтқанда: №4 - 5% сарысулық + 3% меласса; №5 - қоспасыз 5% сарысу. Пробиотикалық бактериялар №1, №2 және №3 ортада белсенділік көрсетті, ең үлкен белсенділік 5% сарысу + 1,5% меласса + 0,020% ашытқы сығындысынан тұратын №3 ортада қолданылады. Сондықтан зерттелген сүт қышқылы бактерияларының штамдарының белсенді культураларын алу үшін 5% сарысуды қоректік орта ретінде қолдануға болады, алайда бұл үшін қоспалар, әсіресе азот қажет.

Қоректік ортаның құрамы пробиотикалық бактериялардың микробқа қарсы белсенділігіне әсер ететіні анықталды. Эксперимент барысында пробиотикалық бактериялардың антагонистік белсенділігі екі ортада сынақ дақылдарының ешқайсысында анықталмады, атап айтқанда: №4 - 5% сүтті сарысу, + 3% меласса; №5 - қоспасыз 5% сарысу.

Зерттеу нәтижелері бойынша пробиотикалық сүт қышқылы бактерияларын өсіру үшін *Lactobacillus plantarum* 1, *Streptococcus salivarius* 20n, *Lactobacillus fermentum* 15 және пропион қышқылы бактериялары *Propionibacterium shermanii* 34, МРС қоректік ортаны ұсынуға болады, оның құрамында көміртегі көзі ретінде сахароза немесе

глюкозаны, сонымен қатар 5 % меласса қосылған сүт сарысуын және ашытқы сығындысы (0.015-0.020%) қолдануға болады. Ұсынылған деректер ауылшаруашылық жануарлары мен құстардың ауруларының алдын-алу және емдеу үшін пробиотиктер жасау үшін қолайлы қоректік органы таңдау қажеттілігін көрсетеді.

Түйін сөздер: пробиотикалық бактериялар, қоректік орта, микробқа қарсы белсенділік, өміршен жасушалардың титрі.

Н.Н. Гаврилова², Ж.Е. Сагидолдина¹, А.К. Саданов², И.А. Ратникова²

¹Казахский национальный аграрный университет, Алматы, Казахстан;

²ТОО «Научно-производственный центр микробиологии и вирусологии», Алматы, Казахстан

ПОДБОР ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ БАКТЕРИЙ, ВХОДЯЩИХ В СОСТАВ ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТОГО ВЕТЕРИНАРНОГО ПРОБИОТИЧЕСКОГО ПРЕПАРАТА

Аннотация. Приводятся сведения о важности подбора питательной среды для выращивания бактерий, входящих в состав экологически чистого ветеринарного пробиотического препарата. При создании пробиотика учитывалась антимикробная активность входящих в их состав бактерий к возбудителям заболеваний, которая зависит от состава питательной среды для культивирования пробиотических микроорганизмов.

Были молочнокислые бактерии *Lactobacillus plantarum 1*, *Streptococcus salivarius 20н*, *Lactobacillus fermentum 15* и пропионовокислые бактерии - *Propionibacterium shermanii 34*, отобранные в состав пробиотика. Для выращивания пробиотических микроорганизмов были испытаны питательные среды: МРС с различными источниками углерода (глюкоза, лактоза, сахароза) и молочная сыворотка с добавками мелассы и дрожжевого экстракта. Пробиотические микроорганизмы выращивали в термостате в течение 24 часов. Температура выращивания молочнокислых бактерий составляла 37⁰ С, для пропионовокислых бактерий - 28⁰ С. Подсчет численности микроорганизмов проводили путем ряда последовательных разведений в стерильной водопроводной воде и высева их в агаризованную питательную среду с последующим подсчетом выросших колоний. Антимикробную активность микроорганизмов определяли методом диффузии в агар в отношении тест-культур: *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella gallinarum*, *Shigella flexneri 11*, *Shigella sonnei*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter sp.*, *Edwardsiella sp.*, *Yersinia sp.*, *Escherichia coli*.

При выращивании пробиотических микроорганизмов на среде МРС с различными источниками углерода их титр составлял от 10^7 до 10^{11} КОЕ/мл. Наиболее оптимальными источниками углерода для роста молочнокислых и пропионовокислых бактерий на среде МРС является сахароза и глюкоза ($1-4 \times 10^{10}$ КОЕ/мл). Максимальное количество клеток выявлено у *Lactobacillus fermentum 15* при росте на среде МРС с глюкозой в качестве источника углерода ($4,36 \times 10^{11}$ КОЕ/мл). Наименьший титр бактерий отмечен при росте на среде МРС с лактозой ($1-2 \times 10^7$ КОЕ/мл).

При выращивании пробиотических микроорганизмов на молочной сыворотке без добавок и с добавками мелассы и дрожжевого экстракта титр составлял от 10^7 до 10^{10} КОЕ/мл. Установлено, что при росте на молочной сыворотке без добавок содержание бактериальных клеток в 1 мл среды не превышало $1-7 \times 10^7$ КОЕ/мл. При росте на молочной сыворотке с добавлением 3% мелассы титр бактерий составил 10^9 КОЕ/мл. Максимальное накопление бактериальных клеток у *Streptococcus salivarius 20н*, *Lactobacillus fermentum 15*, *Propionibacterium shermanii 34* и *Lactobacillus plantarum 1* было отмечено на молочной сыворотке с добавлением 1,5 % мелассы и 0,015-0,020 % дрожжевого экстракта. При этом титр бактерий равнялся ($1-4 \times 10^{10}$) КОЕ/мл.

Антагонистическая активность бактерий при росте на среде МРС была выявлена в том случае, когда источниками углерода служили глюкоза и сахароза. Диаметр зон подавления роста тест-культур при этом составлял от 9 до 23 мм. Наибольшая активность проявляется при использовании в качестве источника углерода сахарозы. Не выявлено антагонистической активности пробиотических бактерий при росте на данной среде с лактозой.

Исследовано пять вариантов сред на основе молочной сыворотки: №1 - 5% молочная сыворотка + 1,5 % мелассы + 0,01 % дрожжевого экстракта; №2 - 5% молочная сыворотка + 1,5 % мелассы + 0,015 % дрожжевого экстракта; №3 - 5% молочная сыворотка + 1,5 % мелассы + 0,020 % дрожжевого экстракта; №4 - 5% молочная сыворотка + 3% мелассы; №5 - 5% молочная сыворотка без добавок. Антагонистическая активность пробиотических бактерий не была выявлена ни к одной из тест-культур на двух средах, а именно: №4 - 5% молочная сыворотка + 3% мелассы; №5 - 5% молочная сыворотка без добавок. Пробиотические бактерии показали активность на средах №1, №2 и №3. Наибольшая активность проявляется при использовании среды №3, в состав которой входит 5% молочная сыворотка + 1,5 % меласса + 0,020 % дрожжевой экстракт. Следовательно, для получения активных культур исследованных штаммов молочнокислых бактерий можно использовать в качестве питательной среды 5% молочную сыворотку, однако для этого необходимы добавки и прежде всего азотистые.

Установлено, что состав питательной среды влияет на антимикробную активность пробиотических бактерий. В течение эксперимента антагонистическая активность пробиотических бактерий не была выявлена ни к одной из тест-культур на двух средах, а именно: №4 - 5% молочная сыворотка + 3% мелассы; №5 - 5% молочная сыворотка без добавок.

По результатам исследования для культивирования пробиотических молочнокислых бактерий *Lactobacillus plantarum* 1, *Streptococcus salivarius* 20н, *Lactobacillus fermentum* 15 и пропионовокислых бактерий *Propionibacterium shermanii* 34 можно рекомендовать питательную среду МРС, в которой источником углерода служит сахароза или глюкоза, а также пятипроцентную молочную сыворотку с добавлением мелассы (1,5%) и дрожжевого экстракта (0,015-0,020 %). Представленные данные свидетельствуют о необходимости подбора оптимальных питательных сред для создания пробиотиков для профилактики и лечения заболеваний сельскохозяйственных животных и птиц.

Ключевые слова: пробиотические бактерии, питательные среды, антимикробная активность, титр жизнеспособных клеток.

Information about the authors:

Nina N. Gavrilova, Doctor of biological sciences, professor, Chief researcher, LLP "SPC of Microbiology and Virology", Almaty, Kazakhstan; gavrilova_nina@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-9078-5272>;

Zhanara E. Sagidoldina, master of agriculture, doctoral candidate, LLP "SPC of Microbiology and Virology", Almaty, Kazakhstan; sagidoldina79@mail.ru; <https://orcid.org/0000-0002-3759-5912>;

Amankeldi K. Sadanov, Doctor of biological sciences, professor, academician, director general, LLP "SPC of Microbiology and Virology", Almaty, Kazakhstan; a.sadanov@inbox.ru; <https://orcid.org/0000-0002-2593-6302>;

Irina A. Ratnikova, Doctor of biological sciences, associate professor, Chief researcher, LLP "SPC of Microbiology and Virology", Almaty, Kazakhstan; iratnikova@list.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7045-1865>

REFERENCES

[1] Glushanova N.A., Blinov A.I., Bakhaev V.V. On the antagonism of probiotic lactobacilli // Epidemiology and Infectious Diseases, 2004, N. 6. P.37-39.

[2] Anadyn A., Martnez-Larranaga M.R., Aranzazu-Martinez M. Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulation and Safety Assessment. Regulatory Toxicology // Pharmacology. 2006. Vol. 12. P. 91-95.

[3] Gaiduk A.G., Khaziahmetov F.S. Probiotic Vitafort in the ducklings' diets // Poultry. 2011. No. 12. P. 27.

[4] Gavrilova N.N., Ratnikova I.A. Test of therapeutic and preventive effectiveness of probiotic // Abstr. of International Conference «Probiotics and Prebiotics». Koshica, Slavenia, 2011. P. 87.

[5] Gavrilova N.N., Ratnikova I.A., Melnikov V.G. Probiotic Lactovit-K for fighting against coccidiosis infectious-invasive diseases of poultry and diseases of honey bees// Abstr. Of XXXIV of the Society for Microbial Ecology and Disease. Yokohama, Japan, 2011. P. 33.

[6] Bobrovskaya I.V., Neminuschaya L.A., Yeremets N.K., Provotorova O.V., Likhasterstova S.V., Eremets V.I., Samuilenko A.Ya. Biotechnologies of new probiotics and synbiotic complexes for farm animals and poultry // Biotechnology: reality and prospects in agriculture: mat. Int. s-r. conf. Saratov, 2013. P. 8-10.

[7] Bondarenko V.M., Rubakova E.I., Lavrova V.A. The immunostimulating effect of lactobacilli used as the basis for probiotic preparations // Microbiol. Journal. 1998. No. 4. P. 107-111.

[8] Sidorov M.A., Subbotin V.V. Normal microflora of animals and its correction with probiotics // Veterinary medicine. - 2000. - No. 11.-P. 17-22.

[9] Ushakova N.A., Nekrasov R.V., Pravdin V.G., Kravtsova L.Z., Bobrovskaya O.I., Pavlov D.S. A new generation of probiotic feed preparations // Basic research. 2012. No. 1. P. 184-192.

[10] Anadyn A., Martnez-Larranaga M.R., Aranzazu-Martinez M. Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulation and Safety Assessment. Regulatory Toxicology // Pharmacology. 2006. – Vol. 12. P. 91-95.

[11] Ovsyannikov Yu.S., Tikhonov G.I., Golunova O.V. Probiotics in veterinary medicine // Veterinary medicine. 2009. No. 1-2. P. 66-68.

[12] Gaiduk A.G., Khaziakhmetov F.S. Probiotic Vitafort in the ducklings's diet // Poultry. 2011. No. 12. P. 27.

[13] Bobrovskaya I.V., Neminuschaya L.A., Eremets N.K., Provotorova O.V., Likhasterstova S.V., Eremets V.I., Samuilenko A.Ya. Biotechnologies of new probiotics and synbiotic complexes for farm animals and poultry // Biotechnology: reality and prospects in agriculture: mat. Int. s - r. conf. Saratov, 2013. P. 8-10.

[14] Narbayeva D., Myrzabekov Zh., Ratnikova I., Gavrilova N., Barakhov B., Tanbayeva G. Comparative Assessment of the Feasibility of Some Probiotic Cultures as a Means for Sanitization of Cows' Udders // Biology and Medicine. 2016, 8:7 DOI 10.4172/0974-8369.1000345.

[15] Gavrilova N.N., Ratnikova I.A., Bayakysheva K., Ybysheva S.D., Turlybaeva Z.Zh. Increase of antagonistic activity of probiotic microorganisms by additives in the composition of the nutrient medium // Collection of scientific papers on the materials of the scientific-practical conference "Actual problems of the development of science and education." M., 2014. Part 1. P. 34-41.

[16] Gavrilova N.N., Ratnikova I.A., Sadanov A.K., Bayakysheva K. The influence of the composition of the nutrient medium on the antagonistic activity of lactic acid bacteria against pathogens of farm animals // Materials of the VI international scientific and practical conference "Biotechnology: a look into the future". Stavropol, 2020. P. 12.

[17] Egorov N.S. The basics of the doctrine of antibiotics. M.: Nauka, 1986. 273 p.

Publication Ethics and Publication Malpractice in the journals of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Submission of an article to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan implies that the described work has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. In particular, translations into English of papers already published in another language are not accepted.

No other forms of scientific misconduct are allowed, such as plagiarism, falsification, fraudulent data, incorrect interpretation of other works, incorrect citations, etc. The National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan follows the Code of Conduct of the Committee on Publication Ethics (COPE), and follows the COPE Flowcharts for Resolving Cases of Suspected Misconduct (http://publicationethics.org/files/u2/New_Code.pdf). To verify originality, your article may be checked by the Cross Check originality detection service <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

The authors are obliged to participate in peer review process and be ready to provide corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. All authors of a paper should have significantly contributed to the research.

The reviewers should provide objective judgments and should point out relevant published works which are not yet cited. Reviewed articles should be treated confidentially. The reviewers will be chosen in such a way that there is no conflict of interests with respect to the research, the authors and/or the research funders.

The editors have complete responsibility and authority to reject or accept a paper, and they will only accept a paper when reasonably certain. They will preserve anonymity of reviewers and promote publication of corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. The acceptance of a paper automatically implies the copyright transfer to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan.

The Editorial Board of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan will monitor and safeguard publishing ethics.

Правила оформления статьи для публикации в журнале смотреть на сайте:

www.nauka-nanrk.kz

ISSN 2518-1629 (Online), ISSN 2224-5308 (Print)

<http://biological-medical.kz/index.php/en/>

Редакторы: *М. С. Ахметова, Г. Б. Халидуллаева, Д. С. Аленов*
Верстка на компьютере *Д. А. Абдрахимовой*

Подписано в печать 05.06.2020.

Формат 60x881/8. Бумага офсетная. Печать – ризограф.
4,7 п.л. Тираж 300. Заказ 3.