

«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА
УНИВЕРСИТЕТІ» КеАҚ

ӘОЖ 615.451.13:579.873.13

Қолжазба құқығында

КОЙЛЫБАЕВА МОЛДИР КУДАЙБЕРГЕНОВНА

**Пробиотигі бар коллагенді мембрананы алу технологиясы,
биологиялық зерттеу және стандарттау**

6D110400 – «Фармация»

Философия докторы (PhD)
дәрежесін алу үшін дайындалған диссертациясы

Ғылыми кеңесшілері:
Устенова Г.О. - фарм.ғ.д., профессор
Мустафина К.К. - м.ғ.к., профессор
Шетелдік кеңесшілері:
Krzysztof Waleron - PhD, Assistant Professor
Malgorzata Sznitowska – PhD, Professor

Қазақстан Республикасы
Алматы 2023

МАЗМҰНЫ

	НОРМАТИВТІ СІЛТЕМЕЛЕР	4
	БЕЛГІЛЕУЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР	6
	КІРІСПЕ	8
1	ПРОБИОТИКТЕР ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ҚОЛДАНУДЫҢ ПЕРСПЕКТИВАЛАРЫ	13
1.1	Пробиотиктер сипаттамасы, жіктелуі, медицинада қолданылуы	13
1.2	<i>Bacillus</i> туысының бактериялары негізіндегі пробиотиктер	20
1.3	Коллаген, оның түрлері, медицинада қолданылуы және коллаген негізіндегі дәрілік қалыптар	23
1.4	Қазақстан Республикасының фармацевтикалық нарығындағы жараны жазатын дәрілік түрлердің ассортиментіне шолу	30
2	ЗЕРТТЕУ МАТЕРИАЛДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ	30
2.1	Зерттеу материалдары	31
2.2	Зерттеу әдістері	32
3	БӨЛІП АЛЫНҒАН ШТАММДАРДЫҢ ЖАЛПЫ СИПАТТАМАСЫ	40
3.1	<i>Bacillus spp.</i> штаммдарын бөліп алу, морфологиялық, культуралдық, биохимиялық және молекулалық генетикалық қасиеттерін анықтау	40
3.2	<i>Bacillus spp.</i> штаммдарының патогенді және шартты патогенді штаммдарға қарсы антагонистік белсенділігін анықтау	54
3.3	<i>Bacillus spp.</i> штаммдарының антибиотикке төзімділігін анықтау	59
3.4	Газды хромато-масс-спектрометрлік әдісімен <i>Bacillus spp.</i> штаммдарының құрамын зерттеу	61
3.5	<i>B. subtilis</i> штаммының өмірге қабілеттілігін тексеру	81
3.6	<i>B. subtilis</i> лиофилизатының сапа спецификациясын құрастыру	83
3.7	<i>B. subtilis</i> лиофилизатының сақтау уақытындағы тұрақтылығын зерттеу және жарамдылық мерзімін анықтау	85
4	ПРОБИОТИГІ БАР КОЛЛАГЕНДІ МЕМБРАНАЛАРДЫҢ ФАРМАЦЕВТИКАЛЫҚ НЕГІЗДЕМЕСІ	93
4.1	Пробиотигі бар коллагенді мембраналардың оңтайлы құрамы мен ұтымды технологиясын жасау	93
4.2	Алынған дәрілік қалыптың сапа спецификациясын құрастыру	100
4.3	Пробиотигі бар коллагенді мембраналардың сақтау уақытындағы	

	тұрақтылығын зерттеу және жарамдылық мерзімін анықтау	101
4.4	Мембраналардың химиялық құрылымы және олардың компоненттері арасындағы өзара байланысы	110
4.5	Коллагенді/BS мембраналардың бактерияға қарсы белсенділігін анықтау	111
4.6	<i>Bacillus subtilis</i> штаммының зиянсыздығын, вируленттілігін, улылығын, токсигенділігін анықтау	113
4.7	Пробиотигі бар коллагенді мембраналардың жараны жазатын фармакологиялық әсерін тексеру	116
4.8	Пробиотигі бар коллагенді мембраналарды өндірудің технико-экономикалық негіздемесі	118
	ҚОРЫТЫНДЫ	120
	ПАЙДАЛАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ	122
	ҚОСЫМШАЛАР	134

НОРМАТИВТІК СІЛТЕМЕЛЕР

Бұл диссертациялық жұмыста келесідей нормативтік құжаттарға сілтемелер қолданылған:

«Халық денсаулығы және денсаулық сақтау жүйесі туралы» Қазақстан Республикасының 2020 жылғы 7 шілдедегі № 360-VI ҚРЗ Кодексі

«Дәрілік заттарды өндіруші әзірлеген және дәрілік заттарға сараптама кезінде дәрілік заттардың сапасы жөніндегі нормативтік құжатты мемлекеттік сараптама ұйымымен келісу қағидаларын бекіту туралы» ҚР ДСМ 2021 жылғы 16 ақпандағы № ҚР ДСМ-20 бұйрығы

«Дәрілік затты өндіруші дәрілік заттардың тұрақтылығын зерттеулерді, оларды сақтау және қайта бақылау мерзімін белгілеуді жүргізу қағидаларын бекіту туралы» ҚР ДСМ 2020 жылғы 28 қазандағы № ҚР ДСМ-165/2020 бұйрығы

«Дәрілік заттарды таңбалау мен қадағалау және медициналық бұйымдарды таңбалау қағидаларын бекіту туралы» ҚР ДСМ 2021 жылғы 27 қаңтардағы № ҚР ДСМ-11 бұйрығы

«Дәрілік заттар мен медициналық бұйымдарды сақтау және тасымалдау қағидаларын бекіту туралы» ҚР ДСМ 2021 жылғы 16 ақпандағы № ҚР ДСМ-19 бұйрығы

Еуразиялық экономикалық одақтың тиісті өндірістік практикасы қағидаларын бекіту туралы Еуразиялық экономикалық комиссия кеңесінің 2016 жылғы 3 қарашадағы № 77 шешімі

Дәрілік препараттар мен фармацевтикалық субстанциялардың тұрақтылығын зерттеуге қойылатын талаптарды бекіту туралы Еуразиялық экономикалық комиссия Алқасының 2018 жылғы 10 мамырдағы № 69 шешімі

Дәрілік заттарды сынақтан өткізудің аналитикалық әдістемелерінің валидациясы жөніндегі нұсқаулықты бекіту туралы Еуразиялық экономикалық комиссия Алқасының 2018 жылғы 17 шілдедегі № 113 шешімі

"Дені сау ұлт" әрбір азамат үшін сапалы және қолжетімді денсаулық сақтау" ұлттық жобасын бекіту туралы Қазақстан Республикасы Үкіметінің 2021 жылғы 12 қазандағы № 725 қаулысы

Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің 2020 - 2024 жылдарға арналған стратегиялық жоспары, 10 қаңтар 2020 ж. № 5.

MEMST 7.1-2003 Ақпарат, кітапханалық және баспа ісі бойынша стандарттар жүйесі. Библиографиялық жазба. Библиографиялық сипаттама. Құрастырудың жалпы талаптары мен ережелері

MEMST 7.32-2017 Ақпарат, кітапхана баспа ісі бойынша стандарттар жүйесі. Ғылыми-зерттеу жұмысы туралы есеп. Рәсімдеу құрылымы мен ережелері

MEMСТ 8.417-2002	Өлшем бірлігін қамтамасыз етудің мемлекеттік жүйесі. Шама бірліктері
MEMСТ 1770-74 (ИСО 1042-83, ИСО 4788-80)	Зертханалық өлшегіш шыны ыдыстар. Цилиндрлер, стакандар, колбалар, түтіктер. Жалпы техникалық шарттар
MEMСТ 29251-91	Зертханалық шыны ыдыстар. Бюреткалар. 1 бөлім. Жалпы талаптар
MEMСТ 17768-90	Дәрілік заттар. Орамдау, таңбалау, тасымалдау және сақтау
MEMСТ 33772-2016	Қағаз және аралас материалдардан пакеттер

БЕЛГІЛЕУЛЕР МЕН ҚЫСҚАРТУЛАР

айн/мин	айналым/минутына			
АҚШ	Америка Құрама Штаттары			
АТСС	Американдық типтік культуралар жинағы			
БАӘ	Біріккен Араб Әмірліктері			
ББЗ	Биологиялық белсенді заттар			
БҰҰ	Біріккен Ұлттар Ұйымы			
ӘБ	Әсер бірлігі			
ГХ/МС	Масс-спектрометриялық	детекторы	бар	газ
	хроматографиясы			
ҒЗИ	Ғылыми зерттеу институты			
ҒӨБ	Ғылыми өндірістік базасы			
г	грамм			
ДЗ	Дәрілік заттар			
ДДҰ	Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымы			
ДМСО	Диметилсульфоксид			
ЕПА	Ет пептонды агар			
ЕПБ	Ет пептонды бульон			
ЕАЭО	Еуразиялық Экономикалық Одақ			
ЖШС	Жауапкершілігі шектеулі серіктестік			
ЖФБ	Жалпы фармакопепялық бап			
ИҚ	Инфрақызыл			
КТБ	Колония түзуші бірліктер			
ҚР МФ	Қазақстан Республикасы Мемлекеттік фармакопепясы			
ҚР	Қазақстан Республикасы			
ҚЖ	Қосалқы жұмыстар			
ҚО	қоректік орта			
ЛЭК	Локальды этикалық комиссия			
мкг	микрограмм			
мкм	микрометр (μм)			
мл	миллиметр			
мм	миллиметр			
МССТ	Мемлекеттік сапалық стандарт			
мин	минут			
МХ	Мюллер-Хинтон			
MeOH	Метанол			
НА	Нутриент агар			
НҚ	Нормативтік құжат			
ПТР	Полимеразды тізбекті реакция			
СҰ	Стандарт ұйымы			

CY	Стандартты үлгі
T	температура
ТП	Технологиялық процесс
TЭН	Техника – экономикалық негіздеме
SEM	Сканирлеуші электрондық микроскоп
CLSI	Клиникалық және зертханалық стандарттар институты
СТАВ	Цетилтриметиламмоний бромиді
EUCAST	Микробқа қарсы сезімталдықты тексеру жөніндегі Еуропалық комитет
ISAPP	Пробиотиктер мен пребиотиктердің халықаралық ғылыми қауымдастығы (International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics)
FAO	Біріккен Ұлттар Ұйымының Азық-түлік және ауыл шаруашылығы ұйымы (Food and Agriculture organization of the United Nations)
FDA	Азық-түлік және дәрі-дәрмек басқармасы (Food and Drug Administration)
GRAS	Толығымен қауіпсіз деп танылған (Generally Regarded As Safe)
<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
LD ₅₀	Летальды доза (сыналатын топтағы особьтардың жартысын өлімге алып келетін заттың орташа дозасы)
m	масса
NaKMЦ	Натрий карбоксиметилцеллюлоза
NCBI	Ұлттық биотехнологиялық ақпарат орталығы
Ph.Eur.	Еуропалық фармакопея (The European Pharmacopoeia)
TSB	триптиказо-соя сорпасы

КІРІСПЕ

Жұмыстың жалпы сипаттамасы. Бұл диссертацияда *Bacillus* spp. штаммдарын бөліп алу, сәйкестендіру және олардың негізінде коллагенді мембрананың фармацевтикалық негіздемесін жасау қарастырылған.

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. Дүниежүзілік фармацевтика өнеркәсібінің маңызды бағыты құрылымы жағынан табиғатқа жақын, салыстырмалы түрде қауіпсіз, адам денсаулығына айтарлықтай пайдалы және бағасы қолжетімді дәрілік заттарды жасау болып табылады.

ҚР-ның стратегиялық саясат бағыты отандық өндіріс күштерін, еліміздің ғылыми-техникалық потенциалын және импортқа тәуелділікті төмендету мақсатында отандық шикізат ресурстарын толық пайдалана отырып, фармацевтикалық өндірістердің базасын ұлғайтуға бағытталған. Осы орайда, елімізде көптеген бағдарламалар жасалынып, жүзеге асырылуда, атап айтқанда «Қазақстан - 2050» стратегиясы», «Қазақстанның дамыған 30 ел қатарына қосылу концепциясы», «Қазақстан Республикасының 2025 жылға дейінгі дамуының стратегиялық жоспары, ҚР Президентінің 01.09.2021 жылғы Жолдауында денсаулық сақтау жүйесінің тиімділігін арттыру мақсатында 2025 жылға қарай отандық өнімдердің үлесін 50%-ға дейін арттыру және фармацевтика өнеркәсібіне ерекше көңіл бөлу, 2021-2025 жылдарға арналған "Дені сау ұлт" әрбір азамат үшін сапалы және қолжетімді денсаулық сақтау" ұлттық жобасын іске асыру, отандық фармацевтикалық және медициналық өнеркәсіптерін дамыту аясына негізделген [1-4].

ҚР үшін фармацевтика секторын дамытудың стратегиялық, әлеуметтік және экономикалық маңызы жоғары. ҚР Мемлекеттік реестрінде 7555 дәрілік препараттар тіркелген, отандық препараттардың үлесі – 14%, тиісінше, фармацевтикалық тауарлардың 86%-ы импорттық дәрі дәрмектерге сұраныс есебінен қанағаттандырылады.

Отандық фармацевтикалық өнеркәсібін дамытуда, халықты сапалы, тиімді және қауіпсіз дәрі-дәрмекпен қамтамасыз ету және импортты алмастыру өзекті мәселе болып қала береді.

Қазіргі таңда өзекті мәселелердің бірі жергілікті қабыну және ірінді аурулармен күрес болып отыр. Жараларды жергілікті емдеуге арналған дәрілік түрлердің дамуы және жетілуі барысында – биологиялық белсенді қосылыстарды эпидермиялық енгізу үшін аппликациялық таңғыштар кеңінен қолданылуда. Бактерияға қарсы таңғыштар жаралардың қайта эпителизацияның ерте кезеңінде микробтық инфекциядан қорғау үшін қажет, осылайша тіндердің терең және ауыр инфекциясының алдын алады. Қазіргі уақытта бактерияға қарсы агенттерді қосу арқылы жараны жазатын табиғи полимерлер негізіндегі таңғыштар сәтті қолданылуда. Дегенмен, жақсы биоүйлесімділігі бар бактерияға қарсы табиғи полимерлік материалдар салыстырмалы түрде аз, және бактерияға қарсы агенттердің тез шайылуы таңғыштардың бактерияға қарсы

белсенділігін әлсіретіп қана қоймайды, сонымен қатар қауіпті жағдайларды тудыруы мүмкін. Көптеген микробқа қарсы препараттардың, әсіресе антибиотиктердің тері зақымдануларының инфекциялық генезін емдеуде терапевтикалық әсерлерінің төмендеуіне байланысты, пробиотикалық бактериялар негізіндегі препараттарды қолдану қызығушылық тудыруда.

Қазіргі заманауи биотехнологияның бір бағыты – пробиотикалық бактериялар, соның ішінде *Bacillus* туысының өкілдері өндіретін биологиялық белсенді заттар негізінде препараттарды жасау болып табылады [8]. Олар аз мөлшерде антибиотиктердің кең ауқымын шығарады, жергілікті және жүйелік иммунитетті ынталандырады. Бұл бактериялар синтездейтін протеолитикалық ферменттер тіндердің регенерациясына ықпал етеді, тромболитикалық әсер етеді, тыртықтардың пайда болуын болдырмайды [9]. *Bacillus* spp. көмегімен акне, дерматит, тері регенерациясын қалпына келтіру, жараларды емдеу терапиясы туралы ғылыми деректер берілген. Бұл оларды жараларды жергілікті емдеу және іріңді асқынулардың алдын алу үшін қолдануға мүмкіндік береді. Осылайша, *Bacillus* туысы бактерияларының кең ауқымды антибиотиктер мен протеолитикалық ферменттерді өндіруі, тіндердің регенерация процестерін ынталандыруы, осы бактерияларды қолдана отырып, коллаген негізіндегі ұзақ мерзімді әсер ететін дәрілік құралдардың фармацевтикалық негіздемесін жасау қажеттілігі туындайды.

Ғылыми зерттеу жұмысының мақсаты

Жоғары продуцентті қасиетке ие *Bacillus* spp. штамдарын бөліп алу және оның негізінде коллагенді мембраналардың фармацевтикалық негіздемесін жасау.

Ғылыми зерттеу жұмысының міндеттері:

Bacillus spp. штамдарын бөліп алу және олардың морфологиялық, культуралдық, биохимиялық және молекулалық генетикалық қасиеттерін анықтау;

Bacillus spp. штамдарының антагонистік белсенділігін, антибиотикке төзімділігін және өмірге қабілеттілігін тексеру;

Пробиотигі бар коллагенді мембрананың оңтайлы құрамы мен ұтымды технологиясын жасау;

Пробиотигі бар коллагенді мембрананың сапасын бағалау және сақтау уақытындағы тұрақтылығына зерттеу жүргізу;

Пробиотигі бар коллагенді мембрананың қауіпсіздігін және арнайы фармакологиялық белсенділігін анықтау;

«Бациколл» шартты атаудағы коллагенді мембрананың техника-экономикалық негіздемесін жасау.

Зерттеу жұмысының әдістері: Ғылыми зерттеулер жүргізу үшін пайдаланылған әдістер Қазақстан Республикасының Мемлекеттік фармакопеясының (ҚР МФ), Еуразиялық экономикалық одақтың

Фармакопеясының, Еуропалық Фармакопея, Ресей Федерациясының Мемлекеттік фармакопеясының, ФМ және Қазақстан Республикасының аумағында қолданылатын басқа да нормативтік құжаттардың талаптарына сәйкес келеді. Физикалық және физика-химиялық, биологиялық, бактериологиялық, молекулалық генетикалық, статистикалық әдістер қолданылды.

Зерттеу нысандары: *Bacillus spp.* штаммдары және пробиотигі бар коллаген мембраналары.

Зерттеу пәні: *Bacillus spp.* штаммдарының морфологиялық, культуралдық, биохимиялық, молекулалық генетикалық қасиеттерін, сондай-ақ антагонистік белсенділігін, антибиотиктерге төзімділігін анықтау.

Қорғауға шығарылатын нәтижелер:

Bacillus spp. штамдарын бөліп алу, морфологиялық, культуралдық, биохимиялық, молекулалық генетикалық қасиеттерінің нәтижелері.

Пробиотигі бар коллагенді мембрананың фармацевтикалық негіздемесін жасаудың нәтижелері.

«Бациколл» шартты атаудағы коллагенді мембрананың қауіпсіздігін және арнайы фармакологиялық әсерін зерттеу нәтижелері.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы:

Алғаш рет:

Bacillus spp. штамдарының морфологиялық, культуралдық, биохимиялық және молекулалық генетикалық қасиеттері анықталынды.

Bacillus spp. штамдарының патогенді және шартты патогенді штаммдарға қарсы антагонисті белсенділігі, антибиотикке төзімділігі және өмірге қабілеттілігіне зерттеу жүргізілді.

"Бациколл" шартты атауындағы коллагенді мембрананың оңтайлы құрамы мен тиімді технологиясы құрастырылды және сапасын бағалау, сақтау уақытындағы тұрақтылығына зерттеулер жүргізілді.

«Бациколл» шартты атаудағы коллагенді мембрананың қауіпсіздігі және жараны жазатын фармакологиялық әсері анықталынды.

Алынған нәтижелердің практикалық мәні:

Bacillus subtilis пробиотикалық штаммының лиофилизатына НҚ жобасы әзірленді (Қосымша А);

«Бациколл» шартты атауындағы коллагенді мембрананың НҚ жобасы әзірленді (Қосымша Б);

«Бациколл» шартты атауындағы коллагенді мембрананың тәжірибелік өндірістік регламент жасалынды (Қосымша В);

Пробиотигі бар коллагенді мембраналардың алу тәсілін «Антиген» ЖШС ғылыми-өндірістік базасына енгізілді (Қосымша Г);

Автордың жеке үлесі: Диссертациялық зерттеудің барлық нәтижелерін автор өз бетінше алды және докторанттың фармация саласындағы ғылымға қосқан жеке үлесі болып табылады.

Диссертациялық жұмыста тұжырымдалған нәтижелердің, қорғауға шығарылатын негізгі ережелердің, тұжырымдар мен қорытындылардың дұрыстығы эксперименттік материалдың едәуір көлемімен негізделген, зертханалық жағдайда, заманауи жабдықтар мен дәл өлшеу әдістерін қолдана отырып, өз зерттеулерінің нәтижелерімен, сондай-ақ әдеби деректермен салыстырумен толық расталады.

Диссертация нәтижелерінің апробациясы:

Диссертация тақырыбы бойынша орындалған зерттеулердің негізгі нәтижелері:

- International Scientific and Practical Conference “WORLD SCIENCE”, «Modern Methodology of Science and Education» (БАӘ, Дубай, 26-27 мамыр 2016 ж.);
- Фармация және стоматологияның басымдықтары: теориядан практикаға: халықаралық қатысумен VI ғылыми-практикалық конференция материалдарының жинағы (Қазақстан, Алматы қ., 2017 ж.);
- Proceedings of the II International Scientific and Practical Conference «Topical Problems of Modern Science» (Польша, Варшава қ., 18 қараша 2017 ж.);
- Proceedings of the International Scientific and Practical Conference «Topical Problems of Modern Science» (Польша, Варшава қ., 17 шілде 2017 ж.);
- «Ақанов оқулары: денсаулық сақтау және медицинаның өзекті мәселелері» IX Халықаралық ғылыми-практикалық конференция «Қоғамдық денсаулық сақтаудың өзекті мәселелері» «Ғылым және медицина: жастардың заманауи көзқарасы» атты студенттер және жас ғалымдардың V халықаралық ғылыми-практикалық конференциясы (Қазақстан, Алматы қ., 19-20 сәуір 2018 ж.);
- Nano, Bio, Green and Space – Technologies for a Sustainable Future: conference proceeding of 18th International Multidisciplinary Scientific Geo Conference (Болгария, София қ., 2-8 шілде 2018) (Қосымша Д);
- Фармация ғылыми мектебінің қалыптасуы және даму келешегі: ұрпақтар сабақтастығы. Профессор Р. Дильбархановты еске алуға арналған халықаралық ғылыми-практикалық конференцияның жинағы (Қазақстан, Алматы қ., 16 маусым 2018 ж.);
- Ташкент фармацевтика институтының 85 жылдығына арналған халықаралық ғылыми-практикалық конференция «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы» (Ташкент қ., Өзбекстан, 25-26 қараша 2022 ж.);
- Фармация ғылыми мектебінің қалыптасуы және даму келешегі: ұрпақтар сабақтастығы. Профессор Р. Дильбархановты еске алуға арналған V

халықаралық ғылыми-практикалық конференцияның жинағы (Қазақстан Алматы қ., 30 маусым 2023 ж.).

Жарияланым туралы ақпараттар

Зерттеу нәтижелері бойынша 15 ғылыми жұмыс жарияланды, оның ішінде: Scopus деректер базасына және Web of Science Core Collection жүйесіне енгізілген халықаралық рецензияланатын ғылыми журналдағы мақала – 2, (Қосымша Ж); Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігінің Білім және ғылым сапасын қамтамасыз ету комитеті ұсынған журналдардағы мақалалар – 4; халықаралық ғылыми-практикалық конференциялардағы тезистер мен мақалалар (БАӘ, Польша, Ташкент, Қазақстан) – 9.

Жұмыстың мемлекеттік және ғылыми бағдарламалар жоспарымен байланысы

Диссертациялық жұмыс ҚР-ның стратегиялық саясат бағыты отандық өндіріс күштерін, еліміздің ғылыми-техникалық потенциалын және импортқа тәуелділікті төмендету мақсатында отандық шикізат ресурстарын толық пайдалана отырып, фармацевтикалық өндірістердің базасын ұлғайтуға бағытталған «Қазақстан - 2050» стратегиясы», «Қазақстанның дамыған 30 ел қатарына қосылу концепциясы», «Қазақстан Республикасының 2025 жылға дейінгі дамуының стратегиялық жоспары, ҚР Президентінің 01.09.2021 жылғы Жолдауында денсаулық сақтау жүйесінің тиімділігін арттыру мақсатында 2025 жылға қарай отандық өнімдердің үлесін 50%-ға дейін арттыру және фармацевтика өнеркәсібіне ерекше көңіл бөлу, 2021-2025 жылдарға арналған "Дені сау ұлт" әрбір азамат үшін сапалы және қолжетімді денсаулық сақтау" ұлттық жобасы, сондай-ақ С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университетінің «Фармацевтические и фармакологические аспекты разработки и исследования биологических препаратов» университетшілік ғылыми-техникалық жобасы (12.2016ж. № 0118РКИО240) шеңберінде жасалынды (Қосымша Е, И).

Диссертацияның көлемі мен құрылымы

Диссертация 152 бетте машинада басылған мәтінмен ұсынылған, 37 кесте мен 30 суреттен, 170 дереккөзді қамтитын әдебиеттер тізімінен, сондай-ақ 13 қосымшадан тұрады. Жұмыс кіріспеден, әдебиеттерге шолудан, материалдар мен зерттеу әдістері туралы бөлімнен, өз зерттеулерінің төрт бөлімінен, қорытындылар мен қосымшалардан тұрады.

1 ПРОБИОТИКТЕР ЖӘНЕ ОЛАРДЫ ҚОЛДАНУДЫҢ ПЕРСПЕКТИВАЛАРЫ

1.1 Пробиотиктер сипаттамасы, жіктелуі, медицинада қолданылуы

«Пробиотик» термині, латын тілінен аударғанда pro bio – «өмірге арналған», 1965 жылы Lilly D. M. және Stilwell R. H., «өмірге қарсы» дегенді білдіретін «антибиотиктер» терминіне балама ретінде ұсынған [13]. Кейінірек, 1989 жылы Fuller пробиотиктерді «қоректенуде микроорганизмдердің тепе-теңдігін қалыпқа келтіру арқылы ағзаның денсаулығын жақсартатын тірі микробтық тағамдық қоспалар» деп анықтады [14]. 1998 жылы Guarner мен Schaafsma пробиотиктерге «адамдар жеткілікті мөлшерде тұтынған кезде денсаулыққа пайдалы әсер ететін тірі микроорганизмдер» деп анықтама берді [15]. Осы соңғы анықтамаларда кейбір айырмашылықтар болғанымен, олар пробиотиктердің тірі микроорганизмдер екенін көрсетеді және олардың жоғары емдік әсеріне қол жеткізу үшін пробиотиктерді ағзаға жеткілікті дозада енгізу керек [16]. Біріккен Ұлттар Ұйымының Азық-түлік және ауылшаруашылық ұйымының (FAO) және Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымының (ДДҰ) мәліметтері бойынша пробиотиктер тірі микроорганизмдер ретінде анықталады, олар жеткілікті мөлшерде енгізілгенде ағзаның денсаулығына пайда әкеледі [11,12]. Пробиотиктердің бұл анықтамасын халықаралық пробиотиктер мен пребиотиктер ғылыми қауымдастығы (ISAPP) қабылдайды және көптеген ғылыми басылымдарда қолданылады.

Қазіргі таңда «пробиотиктер» термині негізінен адамның қалыпты микрофлорасының бір немесе бірнеше өкілдерінің штамдары бар және адамға оң әсер ететін фармакологиялық препараттарға немесе биологиялық белсенді қоспаларға қатысты қолданылады [19].

Walker мен Buckley пікірінше, пробиотиктерді қолдану ағзаға келесідей әсер етуі мүмкін: инфекцияға қарсы қорғаныс механизмдеріне әсер ету; иммуномодуляторлық; тосқауыл қызметтерін жақсарту; метаболикалық әсерлер; ішек қозғалғыштығы мен қызметінің өзгеруі [20].

Пробиотик ретінде жиі қолданылатындар: *Lactobacillus* және *Bifidobacterium*, *Saccharomyces boulardii* ашытқысы және *E. coli*, *Bacillus* кейбір түрлері [21,22]. Пробиотиктердің клиникалық зерттеулері олардың адам денсаулығына бірқатар пайдалы әсерлері бар екенін көрсетеді. Алайда, белгілі бір профилактикалық немесе емдік әсерді тек бақыланатын клиникалық зерттеулерде тиімділігі расталған белгілі бір штаммға жатқызуға болады, сонымен қатар бұл әсерді сол түрдің басқа штамдарына ауыстыруға болмайды [22, б.51; 23].

БҰҰ жанындағы Азық – түлік және ауылшаруашылық ұйымының (Food and Agriculture organization of the United Nations – FAO) және ДДҰ (2002)

талаптарына сәйкес пробиотиктің құрамына кіретін микроорганизмдердің келесі қасиеттері болуы керек:

- патогенді емес, улылығы жоқ және мутагенді қасиетке ие емес;
- сақтау мерзімі аралығында құрамы мен тіршілік әрекетінің тұрақтылығын сақтау қабілеті;
- патогенді және шартты патогенді микроорганизмдерге жоғары адгезиялық және антагонистік қабілеті бар тірі жасушалардан тұруы;
- ішектің қалыпты микрофлорасын тежемеуі;
- технологиялылығы, яғни өндірістік жағдайда алыну жолдары оңай, қолжетімді, арзан, биологиялық белсенділігі жоғары болуы тиіс;
- плазмидаларының болмауы;
- қоршаған орта әсеріне тұрақты болуы;
- антибиотиктерге сезімтал немесе табиғи төзімділігі болуы керек [17, 24].

Пробиотиктерді таңдау олардың тиімділігі мен қауіпсіздігі туралы мәліметтерге негізделуі керек. Пробиотиктер үш топқа бөлінеді: препараттар, биологиялық белсенді қоспалар (парафармацевтикалық немесе нутрицевтикалық өнімдер) және құрамында тірі пробиотикалық бактериялар бар функционалды тағамдар [25]. Пробиотиктер препараттың толықтығы бойынша ғана емес, сонымен қатар оларға кіретін бактериялардың жалпы құрамы бойынша да бөлінуі мүмкін [26].

Пробиотиктер балалар мен ересектердегі өткір ішек инфекциялары мен дисбиоздар кезінде патогенді, шартты патогенді және қалыпты ішек микрофлорасын қалпына келтіру үшін қолданылады. Бірақ, соңғы жылдардағы зерттеулер көрсеткендей, пробиотиктердің әсері микрофлораны түзетумен шектелмейді, олардың клиникалық тиімділігі иммуномодуляциялық функцияларға және метаболизмге қатысуға негізделген [27]. Пробиотиктерді қолданудың анықталған нүктелері олардың тағайындалу көрсеткіштерін кеңейтуге және берілген қасиеттері бар препараттарды жасауға мүмкіндік береді.

Қазіргі уақытта белгілі микроорганизмдердің пробиотикалық штамдарының көпшілігі қалыпты микрофлораның өкілі болып табылады және бүкіл әлем бойынша тұтынатын тағамдарда кездеседі. Осыған байланысты ДДҰ, Азық-түлік және дәрі-дәрмек басқармасы (FDA, АҚШ) және Біріккен Ұлттар Ұйымының Азық-түлік және ауылшаруашылық ұйымының (FAO) сарапшылары пробиотиктердің GRAS (Generally Regarded As Safe) деп аталатынын статусы болуына байланысты әдетте қауіпсіз болып саналатынын атап өтеді. Соңғысының болуы пробиотиктерді тамақ және фармацевтика өнеркәсібінде шектеусіз қолдануға болатынын білдіреді [28].

Пробиотиктердің қатарына негізінен *Lactobacillus* және *Bifidobacterium* туыстарының өкілдері, сондай-ақ кейбір *Streptococcus*, *Lactococcus*,

Enterococcus, *Bacillus* және *Saccharomyces* түрлерінің жеке штаммдары жатады [29]. Кеңінен қолданысқа ие биологиялық белсенділігі жоғары, пробиотиктердің құрамында кездесетін пробиотикалық микроорганизмдердің тізімі 1- кестеде көрсетілген.

Кесте 1 - Пробиотиктердің құрамында кездесетін микроорганизмдер

Атауы	Түрлері
Лактобактериялар	<i>Lactobacillus acidophilus</i> <i>Lactobacillus bulgaricus</i> <i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus fermentum</i> <i>Lactobacillus rhamnosus</i> <i>Lactobacillus gasseri</i> <i>Lactobacillus delbrueckii</i>
Бифидобактериялар	<i>Bifidobacterium bifidum</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Bifidobacterium lactis</i> <i>Bifidobacterium infantis</i> <i>Bifidobacterium breve</i> <i>Bifidobacterium adolescentis</i>
Бациллалар	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus cereus</i> <i>Bacillus licheniformis</i>
Колибактериялар	<i>Escherichia coli</i>
Басқа да микроорганизмдер	<i>Enterococcus faecium</i> <i>Streptococcus faecalis</i> <i>Aerococcus viridans</i> <i>Saccharomyces boulardii</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus viridans</i>

1- кестеде берілген пробиотикалық қасиетке ие микроорганизмдер емдік және алдын алу мақсатында қолданылатын пробиотиктердің, синбиотиктердің және эубиотиктердің құрамына кіреді, сонымен қатар ағзаның қалыпты микрофлорасының өкілдері болып табылады.

Микробиологияда, биотехнологияда маңызды және перспективалы бағыттардың бірі-биологиялық препараттарды әзірлеу үшін пробиотикалық қасиетке ие жаңа штаммдарды іздеу болып табылады. Осы түрлердің ішінде *Lactobacillus* түрлері және *Bifidobacterium* түрлері көптеген жылдар бойы

аурулардың алдын алу және емдеу үшін кеңінен қолданылады, бұл пробиотиктердің адам денсаулығына айтарлықтай әсер ететінін, пайдалы бактериялардың көбеюін ықпал ете отырып, зиянды бактериялардың көбеюін тежейтінін, бактериялық қауымдастықтың әртүрлілігін жақсартатыны дәлелденген [30]. Пробиотиктердің патогенді микроорганизмдерге қарсы әсері келесі қасиеттерімен сипатталады:

- микробқа қарсы заттарды, атап айтқанда патогенді және шартты патогенді микроағзаларға қарсы антагонистік белсенділікті қалыптастыратын бактериоциндер мен органикалық қышқылдарды түзуіне;
- ішектегі қалыпты микрофлораның өсуін белсендіру арқылы колонизациялық резистенттілікті немесе бөгде, соның ішінде шартты-патогенді микроағзалардың көбеюіне жол бермеу;
- ішекте ас қорыту процесіне қатысу, улы метаболиттерді бейтараптау, сіңіру қабілеттілігі, холестеринді жою, протео- және липолитикалық белсенділікке ие болу;
- витаминдер, амин қышқылдар, минералды тұздар мен микроэлементтердің қосымша көздері болу;
- әр түрлі пробиотикалық қасиетке ие бактериялар түрлі цитокиндер бөліп шығаруын белсендіретіні белгілі. Мысалы, *S. thermophilus* және *Leuconostoc spp.* штаммдары организмде Th1, IL-12, IFN типті цитокиндер бөлінуін белсендіреді;
- ішектің кілегей қабатына жоғары адгезивті қасиеті болуына байланысты [31].

Пробиотиктерді өндіру үшін микроорганизм штаммдарының генотипті және фенотиптік қасиеттері мұқият зерттелініп, бақылануы керек. Микроорганизмдердің негізгі биологиялық қасиеттері, олар пробиотиктер құрамында ұзақ уақыт сақталуы керек. Сонымен қатар, өндіріс штаммдарын таңдағанда, бағалауға жататын технологиялық критерийлерді ескеру керек:

- пробиотикалық штаммның өсу қарқыны және көбейуі жоғары болуы керек;
- адамдарға, жануарларға және қоршаған ортаға зиянсыз болуы;
- өнімділігі жоғары болуы;
- штамм қолжетімді агарда өсуі;
- фагқа төзімді болуы;
- термофилді, ацидофилді немесе антибиотиктерге төзімді штаммдар, өндірістегі стерилділікті жеңілдетеді.

Осылайша, пробиотикалық композицияда микробтық культураларды таңдау үшін олардың биологиялық қауіпсіздігін және нақты белсенділігін бағалау үшін көп жақты теориялық және тәжірибиелік зерттеулер жүргізу керек. Жоғарыда көрсетілген критерийлер пробиотиктер алу үшін штаммдарды таңдау үшін негіз болып табылады.

Пробиотиктердің жіктелуі. Талданған әдебиеттерде пробиотиктер препараттарының бірнеше жіктемелері кездеседі. Көптеген жіктеулердің негізінде оларға кіретін микроорганизмдер түрлерінің саны, олардың түрлік немесе тектік тиестілілігі, микроағзалардың физиологиялық ерекшеліктері, қосымша компоненттердің болуы, сонымен қатар осы препараттар тобының даму хронологиясы жатыр. Осыған сәйкес, микроағзалар түрлерінің саны бойынша пробиотик препараттар монокомпонентті (монопобиотиктер), монокомпонентті сіңірілген пробиотиктер, поликомпонентті (пробиотиктер), аралас пробиотиктер (синбиотиктер) деп бөлінеді. Компоненттерінің түрлік тиестілілігі бойынша бифидоқұрамды, лактоқұрамды, қышқылқұрамды және споралы бактериялар мен сахаромицеттен тұратындар, яғни өздігінен жойылатын антогонисттер деп жіктеледі. Ішек микрофлорасын қалпына келтіретін препараттар олардың медициналық практикада пайда болу шамасына қарай төрт буынға бөлінетін жіктемеде танылған (2 - кесте):

Кесте 2 - Әр түрлі компонентті штаммдар негізіндегі пробиотиктер

<i>Бір компоненттен тұратын</i>	
Бифидоқұрамды	Бифидумбактерин
Лактоқұрамды	Лактобактерин, Биобактон, Лактобацил, Нутролин
Колиқұрамды	Колибактерин, Мутафлор
Споратүзетін	Энтерол, Бактисубтил, Споробактерин, Бактиспорин, Биоспорин
<i>Көп компоненттен тұратын</i>	
Бифилонг, Бификол, Оқарин, Ацилакт, Линекс, Бифидин, Бифинорм	
Біріктірілген құрамды (синбиотики)	
Бифидумбактерин форте, Бифилиз, Бифиформ, Бактистатин, Примадофилиус, Полибактерин, Пробифор, Кипацид, Аципол	
Рекомбинантты (генді- инженериялық)	
Субалин	

I буын – бактериялардың бір штаммын қамтитын дәстүрлі монокомпонентті препараттар: Бифидумбактерин, Лактобактерин, Колибактерин;
 II буын – өздігінен жойылатын антагонисттер: Бактисубтил, Биоспорин, Споробактерин және т.б.;

III буын – бактериялардың бірнеше штаммдарынан тұратын (поликомпонентті) немесе олардың әсерін күшейтетін қоспаларды қамтитын аралас препараттар: Аципол, Ацилакт, Линекс, Бифилиз, Бифиформ.

IV буын – сорбентте иммобилизацияланған тірі бактериялар – қалыпты нормофлора өкілдері. Қазіргі таңда оларға сіңірілген бифидокұрамды пробиотиктер жатады: Бифидумбактерин форте және Пробифор [32].

Осы уақытқа дейін пробиотиктердің асқазан-ішек жолдарының, ауыз қуысының, қынаптың, терінің және т.б. ауруларын емдеуге пайдалы екендігі белгілі [33-36]. Алайда, пробиотиктердің тиімді әсер етуіне, белсенділігі мен өміршеңдігіне тіндік/ағзалық ортадағы күрделі факторлар, соның ішінде қышқылдар, өттің әсері, белгілі бір иондардың концентрациясының жоғарылауы, қоректік заттарды қабылдау, осмостық қысым және асқазан-ішек жолдарының жағдайы әсер етеді [37-39]. Жоғарыда аталған мәселелерді шешудің биотехнологиялық құралы ретінде пробиотиктерді инкапсуляциялау және басқа иммобилизациялау әдістерін қолдану көптеген салаларда пробиотиктерді қолдануға мүмкіндік береді. Микроинкапсуляция пробиотиктерді матрицаға орналастыруға, оларды агрессивті ортадан бөлуге және олардың өміршеңдігі мен тұрақтылығын сақтай отырып, өмір сүруге қолайлы ортаны қамтамасыз етуге негізделеді [40-42]. Кең қолданысқа ие электр иіру әдісі пробиотиктерді талшықтарға қосу үшін қолданылған және бұл жүйе пробиотикалық жасушаларды тұрақтандырып, олардың белсенділігін сақтай алады. Сонымен қатар, талшықты электр иіру әдісі тек бетінің ауданы мен көлем бірлігіне қатынасы жоғары ғана емес, сонымен қатар пробиотиктердің тез еруін немесе босап шығуы бақылануын қамтамасыз етеді [43,44]. Пробиотиктерді инкапсуляциялау бірнеше мақсатта жүзеге асырылады (1) бактерияларды қоршаған ортадан оқшаулау, шағын молекулалардың инкапсуляциялық материал арқылы өтуіне мүмкіндік беру арқылы оларды зияннан қорғауға тосқауыл жасау, (2) пробиотиктердің тұрақтылығын сақтау, (3) жоғары пробиотикалық тасымалдаушыны қамтамасыз ету, (4) пробиотиктердің бақыланатын және үздіксіз бөлінуін қамтамасыз ету, (5) көбеюін ынталандыру [45].

Биоматериалдар пробиотиктер үшін улы емес және тірі жасуша белсенділігіне әсер етпеуі қажет, қол жетімді және оңай өңделуі керек, сонымен қатар технологиясы тірі пробиотиктердің зақымдануын азайту үшін қарапайым болуы керек. Пробиотиктерді табиғи немесе синтетикалық материалдарға инкапсуляциялауға болады. Сонымен қатар, асқазан-ішек жолдары, ауыз қуысы, қынап және теріні қоса алғанда, әртүрлі биомедициналық мақсатта қолдану үшін биоматериалдарға негізделген инкапсуляцияланған пробиотиктерге көптеген зерттеулер жүргізілген [46-49].

Пробиотиктерді инкапсуляциялау үшін мұздату арқылы кептіру, бүріккішпен кептіру, экструзия, эмульсия немесе көп қабатты жүйелер сияқты көптеген әдістер қолданылады [40-42].

Кептіру технологиясы биоактивті заттарды, соның ішінде пробиотиктерді сақтау үшін кеңінен қолданылады. *Бүріккіш кептіру* бұл ерітінді саптамаға басылып, содан кейін ерітінді кептіру камерасында "тұман" пайда болу үшін шашыратылатын процесс. Камерадағы ыстық газ еріткішті буландыруға, содан кейін құрғақ бөлшектерді алуға мүмкіндік береді. Бүріккіш кептіру тиімді және кең таралған әдіс болып табылады, дегенмен, пробиотиктер бүріккіш кептіру кезінде әртүрлі стресстерге ұшырайды, соның ішінде термиялық стресс, дегидратация, осмостық қысым және тотығу стрессі, оның ішінде термиялық стресс пен дегидратация пробиотиктердің инактивациясына әкелетін екі негізгі себеп болып табылады [48]. Тиімді инкапсуляцияны және пробиотикалық микроорганизмдердің жоғары өміршеңдігін қамтамасыз ету үшін соңғы жылдары бірнеше жетілдірілген тәсілдер қолданылуда, мысалы, тиісті криопротекторларды қосу, кіріс және шығыс температурасын оңтайландыру. Кептірудің алдында трегалоза, крахмал, еритін талшықтар, желатин, жылқы сарысуы сияқты қорғаныс құралдарын қосу пробиотиктердің сақтау қабілетін жақсартады [49].

Пробиотиктерді микрокапсуляциялаудың тағы бір дәстүрлі құрғақ технологиясы *мұздату арқылы кептіру*. Пробиотиктерді сақтаудың тұрақтылығын арттыру үшін суды кетіру үшін төмен температураны қолдану арқылы, оның негізгі принципі сублимация болып табылады. Мұздату арқылы кептіру әдетте сақтау кезінде пробиотиктердің тұрақтылығын арттыру мақсатында суды кетіру үшін қолданылады және үш процедураны қамтиды, атап айтқанда мұздату, бастапқы кептіру және қайталама кептіру. Бірінші кезеңде кептіру керек материалдарды мұздату керек, содан кейін мұздатылған суды вакуумда бастапқы кептіру арқылы мұздату керек және қайталама кептіру арқылы десорбция арқылы мұздатылмаған суды кетіру керек [50].

Бүріккішпен кептіру және мұздатып кептіру процесі пробиотиктердің өміршеңдігін жоғалтуы мүмкін, сондықтан олардың өміршеңдігін арттыру үшін қорғаныс стратегиялары қабылдануы мүмкін, мысалы, биоматериалдарды қосу. Пробиотиктерді инкапсуляциялау үшін альгинат (Alg), хитозан (CS), камедь, мальтодекстрин, крахмал, сүт ақуыздары, целлюлоза туындылары, коллаген және желатин сияқты әртүрлі биоматериалдар пайдаланылды [51, 52].

1.2 *Bacillus* түрінің бактериялары және *Bacillus subtilis* бактериясының пробиотикалық әсері

Bacillus туысына пробиотикалық қасиеттері мәлімделген грамм оң, спора түзетін аэробты немесе факультативті аэробты өкілдері кіреді, соның ішінде: *B. subtilis*, *B. coagulans*, *B. cereus*.

Bacillus subtilis аэробты грамм оң спора түзетін топырақ бактерияларының өкілдерінің бірі. Осы микроорганизмнің жинақтаушы дақылдарын алу үшін сенна сығындысы қолданылатындығына байланысты *Bacillus subtilis* екінші атауы - сенна таяқшасы. Бұл бактерияның сипаттамасын алғаш рет әйгілі неміс натуралисті Христиан Готфрид Эренберг 1835 жылы енгізді, бірақ оның түсіндіруінде бұл микроорганизм *Vibrio subtilis* деп аталды. Ол өзінің қазіргі атауын *Bacillus subtilis* 1872 жылы алды. Бүгінгі күні бұл бацилл туысының ең танымал және терең зерттелген өкілдерінің бірі. Олар топырақта, суда, ауада және тамақ өнімдерінде (бидай, басқа да дәнді дақылдар, нан өнімдері, соя өнімдері, тұтас ет, шикі және пастерленген сүт) кездеседі.

Көптеген арнайы зерттеулерге сүйене отырып, *B. subtilis* штаммдары адамдар мен жануарларға мүлдем зиянсыз деп саналады [63]. *B. subtilis* штаммдарында және олармен тығыз байланысты барлық бактерияларда патогенділіктің болмауы оларға FDA-ға GRAS (Generally Regarded As Safe) - қауіпсіз организмдер мәртебесін беруге негіз болды [64].

Бұл бактерияларда биологиялық белсенді қосылыстардың түзілуін анықтайтын гендердің өте кең жиынтығы бар. Біріншіден, олар шығаратын бактериоциндер патогендік және шартты патогенді микроорганизмдердің өсуін тежейді. Бұл грамм-оң бактериялардың өсуін тежейтін полипептидті антибиотиктер (субтилді) болуы мүмкін. Бациллин антибиотигі антагонизмнің кең спектріне ие. Бұл бактериялар сонымен қатар субтенолин, эндосубтилизин, бацилизин, глобицин, обутин, неоцидин және т.б. өндіреді. Айта кету керек, қазіргі уақытта бациллалар шығаратын антибиотиктердің көпшілігі микроорганизмдердің барлық топтарына немесе негізінен грамм оң бактерияларға қарсы белсенді. Алайда, кейбіреулері, мысалы, полимиксин, циркулин тек грамм теріс бактерияларға қарсы тиімді [65, 66]. Айта кету керек, бұл қосылыстардың көпшілігінде биологиялық белсенділіктің кең спектрі бар, яғни, бактерияға қарсы ғана емес, сонымен қатар саңырауқұлаққа қарсы, вирусқа қарсы және тіпті ісікке қарсы белсенділікке ие [67]. Бұл бактерияның бірегейлігі оның геномының 4-5%-ы ішек инфекциясын тудыруы мүмкін барлық дерлік қоздырғыштарды қамтитын әртүрлі микробқа қарсы заттардың синтезін кодтайды. Бациллалардан жаңа антибиотикалық заттар қазіргі кезеңде белсенді түрде шығарылады.

Bacillus туысы бактериялардың басқа биологиялық ерекшеліктерінің арасында олардың полиферментативті қасиеттерімен сипатталатындығын атап өткен жөн. Бацилл жасушаларында әртүрлі кластағы ферменттер жиынтығы

бар, бұл олардың әртүрлі субстраттарда өмір сүруіне мүмкіндік береді. *Bacillus* туысының өкілдерінде кездесетін ферменттер: оксидоредуктазалар (L-лактатдегидрогеназа, нитрат редуктаза); трансферазалар (пируваткиназа, левансахараза, рибонуклеаза); гидролазалар (аминопептидаза, субтилопептидаза, плазмин, ксиланаза, фосфодиэстераза, α -амилаза, дезоксирибонуклеаза, аргиназа, β -ацетилглюкозаминидаза, фосфотаза, мальтаза (α -глюкозидаза), эстераза, ламинариназа; лиазалар (треониндегидратаза, пектатлиаза, аконитатгидратаза (аконитаза), кетозо-1 - фосфатаальдолаза (альдолаза) [68].

Әзірленіп жатқан тақырып аясында адаптивті протеолитикалық ферменттер ретінде қарастырылатын жасушадан тыс литикалық ферменттер немесе лизиндер тобын бөліп көрсету керек. Олардың негізінде микробтық шыққан бірқатар ферменттік препараттарды алу технологиялары жасалды: лизосубтилин, стрептолитин, бактериялық лизоцим. Споробактерин препаратына кіретін бактериялар жергілікті қолданғанда некротикалық тіндердің зақымдану ошақтарын тазартуға ықпал ететін протеолитикалық ферменттердің кең спектрін шығарады [69]. Мұндай клиникалық әсер негізінен түсіндіріледі деп саналады, бірақ тек кең субстрат ерекшелігі бар протеиназалардың әсеріне дейін азаяды. Іріңді қабыну процесі жағдайында бұл ферменттер девитализацияланған тіндерді ыдыратып қана қоймайды, сонымен қатар иммундық реакцияны ынталандырады, лейкоциттердің фагоцитарлық белсенділігін арттырады [70]. Бұл антибиотикке төзімді инфекция қоздырғыштарына қарсы, бактерияға қарсы агенттер жасау үшін *Bacillus* туысы бактерияларын қолдану перспективалы деп санауға мүмкіндік береді. Соңғы зерттеулерге сәйкес, *Bacillus* және әсіресе *B. subtilis* түрлерін пробиотиктер ретінде пайдалану үлкен қызығушылық тудырды [71-73].

B. subtilis түрінің бактериялары респираторлық инфекциялар мен асқазан-ішек жолдарының бұзылуының алдын алуда, сондай-ақ тітіркенген ішек синдромымен байланысты белгілерді жеңуде тиімді екендігі хабарланды [74, 75].

B. subtilis болуы ішекте қолайлы теңдестірілген микробиотаны сақтауға ықпал етеді және сүт қышқылы бактерияларының пробиотикалық жасушаларының өсуі мен өміршеңдігін арттырады [76-79]. Бұл пробиотикалық қасиеттер оның микробқа қарсы заттарды өндіру қабілетімен ғана емес, сонымен қатар иммундық жүйені ынталандыру қабілетімен де байланысты деп саналады [80-83].

Bacillus туысының бактерияларының кейбір штаммдарының қасиеттері алуан түрлі болуына байланысты тек соңғы жылдары олардың негізінде оннан астам тиімді препараттар жасалды (3-кесте).

Кесте 3 - Бациллалар негізіндегі пробиотиктер

Дәрілік препараттар	Микроорганизмдер	Өндіруші елдер
Биоспорин	<i>(B.subtilis + B.licheniformis)</i>	Украина
Гинеспорин	<i>(B.subtilis)</i>	Украина
Споробактерин	<i>(B.subtilis)</i>	Ресей
Бактиспорин	<i>(B.subtilis)</i>	Ресей
Энтерогермин	<i>(B.subtilis)</i>	Италия
Флонивин	<i>(Bacillus sp.)</i>	Югославия
Бактисубтил	<i>(B. cereus)</i>	Франция
Цереобиоген	<i>(B. cereus)</i>	Қытай
Ветеринарияда қолданылатын препараттар		
Бактерин-СЛ	<i>(B.subtilis + B.licheniformis)</i>	Украина
Эндоспорин	<i>(B.subtilis)</i>	Украина
БПС-44	<i>(B.subtilis)</i>	Украина
Энтеробактерин	<i>(B.subtilis)</i>	Ресей
Глоген-8	<i>(B.natto)</i>	АҚШ
Прималас	<i>(Bacillus sp.)</i>	Нидерланды
Протексин	<i>(Bacillus sp.)</i>	Нидерланды

Асқазан-ішек жолына (асқазан-ішек жолына) енген кезде бұл бактериялар онда 30 күннен аспайды, содан кейін олар табиғи түрде жойылады. Сондықтан олардың негізіндегі препараттар өздігінен жойылатын антагонистерге жатады.

Дегенмен, ішектегі бациллалардың саны 10^7 КТБ/г жетуі мүмкін екендігі туралы дәлелдер бар, бұл *Lactobacillus*-тағы ұқсас көрсеткішпен салыстыруға болады. Осыған байланысты бірқатар зерттеушілер *Bacillus* туысы бактерияларын қалыпты ішек микрофлорасының басым компоненттерінің бірі ретінде қарастырады [84].

Споралы түрде бұл түрдің бактериялары асқазан сөлінің әсеріне өте төзімді, сондықтан олар асқазан-ішек жолында өлмейді. Ішектің жіңішке және қалың бөліктерінде *Bacillus* туысының бактериялары вегетативті түрге айналады, көбейеді және қоршаған ортаға биологиялық белсенді заттар шығарады, олардың әсерінен шірік, патогендік және шартты патогенді микрофлораның өсуі мен дамуы тежеледі, бифидо және лактобактериялар, *E. coli* және асқазан - ішек жолдарының нормофлорасын құрайтын және басқа микроорганизмдердің популяциясы қалпына келеді. Жоғарыда айтылғандай, бұл түрлердің бактериялары инфекциялық агенттерге тікелей антагонизм арқылы және адам мен жануарлар иммунитетінің жұмысын оңтайландыру арқылы асқазан-ішек микрофлорасының өсуі мен дамуын тежеу қабілетін жүзеге асырады.

B. subtilis қолдану жануарлардың [85, 86] және адамның [87] асқазан-ішек жолдарындағы қалыпты микрофлораның қолайлы тепе-теңдігін сақтауда тиімді болды. Бір қызығы, *B. subtilis*, белгілі бір жағдайларда анаэробты түрде өсуі мүмкін [88]. Бұл бактерияларға ағза эпителий жасушаларымен симбиотикалық қатынасты сақтауға мүмкіндік береді [89], бұл оларды тағамдық және пробиотикалық қоспаларға қосу үшін мүмкіндік береді.

1.3 Коллаген, оның құрамы, медицинада қолданылуы және коллаген негізіндегі дәрілік қалыптар

Коллаген, эластин, желатин, альгинат, декстрин, хитозан және целлюлоза сияқты биополимерлер, бірегей қасиеттеріне байланысты регенеративті медицина және жараларды емдеу саласындағы биомедициналық зерттеушілердің үлкен назарын аударды [90]. Олардың маңызды биополимерлік қасиеттеріне биологиялық ыдырауының жақсы болуы, биоүйлесімділігі, уытты әсерінің болмауы, иммуногенділігі және қолжетімділігі жатады [91-93].

Кейбір биополимерлер, соның ішінде хитозан, бактерияға қарсы белсенділікті көрсетеді, бұл бактериялық жұқтырған зақымдануды емдеуге арналған пленкаларды, матрицаларды жасау үшін пайдалы болуы мүмкін [94]. Биополимерлердің жалпы кемшілігі олардың нашар механикалық қасиеттері болып табылады, оларды поли-капролактон (PCL), полигликоль қышқылы (PGA) және полилактикалық қышқыл (PLA) сияқты синтетикалық полимерлермен біріктіру арқылы кемшіліктерін жоюға болады, нәтижесінде беріктігі, басқа да механикалық қасиеттері артады [95]. Биополимер негізіндегі материалдардың механикалық өнімділігін жақсарту үшін пайдаланылған тағы бір стратегия-айқаспалы байланыс агенттерін пайдалану [96].

Микробқа қарсы тиімділігі төмен аминқышқылдарына негізделген полимерлі материалдар (мысалы, желатин) олардың биологиялық белсенділігін жақсарту үшін әртүрлі препараттармен енгізілуі мүмкін [97, 98].

Коллаген жараларды күту және регенеративті медицина саласында қолданылатын ең маңызды полимерлердің бірі. Коллаген кейбір тіндердің жасушадан тыс матрицасының негізгі құрамдас бөлігі болып табылады. Тері деңгейінде ол барлық құрғақ тері заттарында 70-80 % мөлшерінде кездеседі. Коллаген мен жасушалардың өзара әрекеттесуі жараларды емдеу процесінде өте маңызды, өйткені коллаген жасушалық фенотиптердің сақталуына және дифференциациясына ықпал етеді [99].

Коллаген мен наноталшықтардың қасиеттерінің үйлесуі (мысалы, бетінің көлемге қатынасы, кеуектілігінің жоғары болуы, механикалық қасиеттері жақсы болуы, биологиялық белсенді заттарды жеткізу қабілетінің жоғары болуы) терінің қалпына келуіне ықпал етеді және жараларды емдеу процесін жақсартады [100].

Жараларды емдеу фазалары

Жараларды емдеу процесін түсіну теріні қалпына келтіру және жараларды емдеу саласындағы маңызды аспект болып табылады. Жараларды емдеу және терінің регенерациясы әдетте терінің зақымдануынан кейін тері тіндерінің текстурасы мен қызметін қалпына келтіруге әкелетін күрделі процесс ретінде түсіндіріледі [100-103].

Жараларды емдеу процесінің төрт дәйекті фазасы бар: гемостаз, қабыну, пролиферация және қайта құру/жетілу фазасы [104]. Гемостаз-бұл жараларды емдеудің бастапқы кезеңі және жарақаттан кейін қан тамырларының тарылуы деп аталатын процесс арқылы шамадан тыс қан кетуді тоқтату үшін пайда болады [105].

Біріншілік және екіншілік гемостаз екі механикалық және бір уақытта бір-бірімен байланысқан жолдармен жүзеге асырылады. Біріншілік гемостазда тромбоциттердің агрегациясы және тромбоциттер тығындарының түзілуі субэндотелий матрицасының ішіндегі коллагеннің әсерінен болады [106]. Екіншілік гемостазда қан ұю каскады белсендіріледі, онда еритін фибриноген ерімейтін жіптермен ауыстырылады, нәтижесінде фибрин торы пайда болады [107].

Тромбоциттер тығындары мен фибриндік тордың тіркесімі жарадан қан кетуді тоқтататын, өсу факторларын шығаратын және жараны емдеуге қажетті жасушалардың енуіне уақытша негіз болатын қан ұйығышын құрайды [108].

Жараларды емдеудің екінші кезеңі әдетте гемостаз фазасымен бір мезгілде болатын қабыну фазасы ретінде белгілі [109, 110]. Фагоцитозды жасушалар токсиндердің зақымдануын тазарту үшін өте маңызды оттегінің және протеазаның белсенді түрлерін шығарады [111].

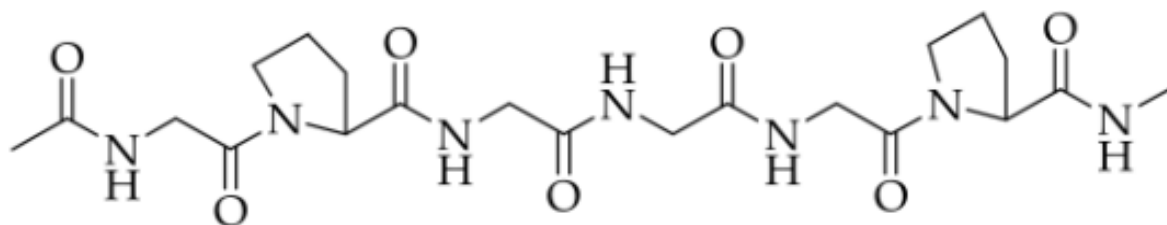
Қан моноциттері зақымдалған қан тамырларын қалпына келтіру үшін GFS, кератиноциттерді, фибробласттарды және эндотелий жасушаларын қамтитын цитокиндерді шығаратын жара аймағындағы тіндік макрофагтарға бөлінеді. Сонымен қатар, эпителий жасушалары өлі жасушаларды ауыстыру үшін зақымдану орнына қарай жылжиды [112]. Проллиферация фазасында жараларды емдеудің басқа процестерімен, соның ішінде реэпителизация, неоваскуляризация және иммуномодуляциямен бір мезгілде грануляциялық немесе дәнекер тіннің түзілуі (жара толығымен эпителиймен жабылған) жүреді [113]. Жараларды емдеу механизмінің соңғы кезеңі-жетілу деп те аталатын қайта құру кезеңі. Фибробласт жасушалары зақымдалған бетті терінің эпидермисінің жаңа қабаты ретінде қорғайды және біткен жараның орны пайда болады [114].

Коллагеннің қасиеттері

Теріні қалпына келтіруге және жараларды таңуға қолайлы материалды таңдағанда ескеру қажет негізгі қасиеттер бар. Бастапқыда биомедицинада қолданылған биоматериалдарға иммуногендік емес әсеріне байланысты әртүрлі

материалдар қолданылған, алайда полимерлердің биологиялық ыдырауының жоғары болуы, тамаша биоүйлесімділік, уыттылық, антигендік емес және иммуногенділік және қолжетімділіктеріне байланысты биоматериалдар биополимерлерге алмастырылды [115].

Биополимерлер жасушалармен әрекеттесіп, жаңа тіндердің пайда болуын ынталандырады және регенерацияға ықпал етеді [116-118]. Коллаген-бірнеше пайдалы қасиеттеріне байланысты теріні қалпына келтіру және жараларды емдеу үшін жиі қолданылатын биополимерлердің бірі. Коллагеннің молекулалық құрылымы 1-суретте көрсетілген. Коллаген негізінен шошқа мен ірі қара малдың қалдықтарынан алынады, бірақ жақында балық шаруашылығының жанама өнімдері де коллагенді ауыстырудың маңызды көзіне айналды [119].



Сурет 1 – Коллагеннің молекулалық құрылымы

Коллаген антигенінің төмендігіне, жақсы биоүйлесімділігіне, гемостатикалық қасиеттеріне, жасуша пролиферациясы мен адгезиясын ынталандыру қабілетіне және цитоуыттылығының төмендеуіне байланысты жараларды таңу материалдарында және тіндік инженерия өнімдерінде кеңінен қолданылады [120]. Нарықта жараларға арналған әртүрлі коллаген таңғыштары бар, олардың кейбіреулері 4 - кестеде келтірілген. Дегенмен, коммерциялық коллаген таңғыштарының көпшілігінде кейбір шектеулер бар. Кейбір зерттеулер гельдер, пленкалар немесе ұнтақтар түрінде жасалған коллаген материалдары қан кетуді бақылауды қамтамасыз ететінін көрсетті [121]. Коллаген негізіндегі кеуекті тіректер эксудаттың үлкен көлемін сіңіру, жарақат кезінде ылғалды сақтау қабілетіне ие, осылайша жараларды емдеу процесін жеделдетуге ықпал етеді [122].

Жасуша миграциясы үшін кеуекті тірек ретінде пайдаланылатын коллаген негізіндегі материалдар механикалық және құрылымдық қолдауды қамтамасыз етеді және жаңа тіндердің дамуына ықпал етеді [123]. Коллаген биоматрицасы жасушадан тыс матрицаның табиғи коллагенін имитациялайды және тіндердің қалпына келуіне құрылымдық қолдау көрсете отырып, созылмалы зақымдануларда тән теңгерімсіз матрицалық металлопротеиназалардың (ММП) деңгейін төмендету арқылы зақымданудың жасушалық және тамырлық компоненттерін тұрақтандырады. Коллагенді жараларды таңу жараларды емдеу

процесін жақсартатын әдістерге өсу факторларымен байланысу, жасуша функцияларын бақылау, жасушаішілік берілісті қамтамасыз ету және созылмалы және жедел жарақаттарда тіндердің қалпына келуіне көмектесетін физикалық құрылым ретінде әрекет ету қабілеті жатады. Жараларды емдеуде коллаген жарақатқа қабыну реакциясын бақылауда маңызды рөл атқарады, содан кейін қалпына келеді. Ол сондай-ақ жасушадан тыс матрицасының ақуыз синтезіне, өсу факторлары мен қабыну цитокиндерінің бөлінуіне және жасушадан тыс матрицасының қайта құрылуына әсер етеді [124, 125].

Кесте 4 – Коллаген негізіндегі препараттар

Таңғыштың түрі	Құрамы	Тауар аты	Ерекшелігі	Жаралар емдеу үшін қолданылады
Гель	Коллаген	CelleraRX	Жара аймағының ылғалдылығын сақтау	Травматикалық және хирургиялық жараларды қоса алғанда, ішінара және толық көлемдегі жаралар, диабеттік жаралар және күйіктер үшін қолданылады
Гель	Коллаген полипептидтері	Стимулен	Жара аймағының ылғалдылығын сақтау	Толық және толық емес жаралар, толық емес күйіктер, жарақаттар кезінде қолданылады
Губка	Коллаген талшығы, гентамицин тұздары	Септоколл Е	Тромбоциттерді белсендіреді	Толық және ішінара жарақаттар, соның ішінде инфекция жұқтырылған жаралар және қан кетуде қолданылады
Губка	Коллаген, карбоксиметил целлюлоза, натрий альгинаты, AgCl	КолАктив Плюс Аг	ММП кедергі функциялары	Толық және жартылай қалыңдықтағы жаралар, соның ішінде күйіктер, ашық хирургиялық кесулер, жарақаттар, диабеттік жаралар
Губка	Коллаген және кальций альгинаты	Фибракол Плюс	Жара аймағының ылғалдылығын сақтау	Толық және жартылай қалыңдықтағы жаралар, соның ішінде күйіктер, ашық хирургиялық кесулер, жарақаттар, диабеттік, веноздық немесе қысымды зақымдануларда

4 – кестенің жалғасы

1	2	3	4	5
Губка	Ірі қара коллагені және балдан	Пуракол	Қосымша өңдеуді қажет етпейді	Толық және ішінара жарақаттар, соның ішінде ашылған хирургиялық кесулер, жарақаттар, күйіктер, диабеттік, веноздық немесе қысымды жаралар
Губка	I типті жылқы коллагені	Биокад	Құрамында ыдырау өнімдері жоқ коллаген	Толық және ішінара жарақаттар, соның ішінде ашылған хирургиялық кесулер, жарақаттар, күйіктер, диабеттік, веноздық немесе қысымды жаралар
Губка	Бұқа коллагені және тотыққан целлюлоза	Промогран	Гемостатикалық белсенділік	Толық және ішінара жарақаттар, соның ішінде ашылған хирургиялық кесулер, жарақаттар, күйіктер, диабеттік, веноздық немесе қысымды жаралар
Ұнтақ	Коллаген	Катрикс	Қан кетуді азайту, биологиялық ыдырау	Толық және толық емес жаралар, соның ішінде кесулер, жарақаттар, тітіркену, қысу, диабеттік жаралар, радиациялық дерматит, күйіктер.
Мембрана	шошқа етінің коллагені, нейлон, силикон	Биобран	Икемділік	Жартылай қалыңдықтағы күйік жаралары
Жасушалық матрица	Коллаген, поликарбонатты мембрана	Аплиграф	Сіңіп кететін	Толық және ішінара жарақаттар, соның ішінде аяқтың веноздық жаралары, диабеттік аяқтың жаралары
Жасушалық матрица	I типті жылқы коллагені	Орсель	Толықтай сіңетін	Толық жарақаттар, соның ішінде күйіктер

1.4 Қазақстан Республикасының фармацевтикалық нарығындағы жараны жазатын дәрілік түрлердің ассортиментіне шолу

ҚР Мемлекеттік тізілімін зерттеу мәліметтері бойынша 2022 жылдың ақпан айында елімізде тіркелген дәрілік заттардың жалпы саны – 7555. Оның ішінде 2 – суретте көрсетілгендей 14 %-ы отандық өндіріске, 86%-ы шет ел мемлекеттерінің өндірістеріне тиесілі.



Сурет 2 – ҚР Мемлекеттік тізілімінде тіркелген дәрілік заттардың үлесі

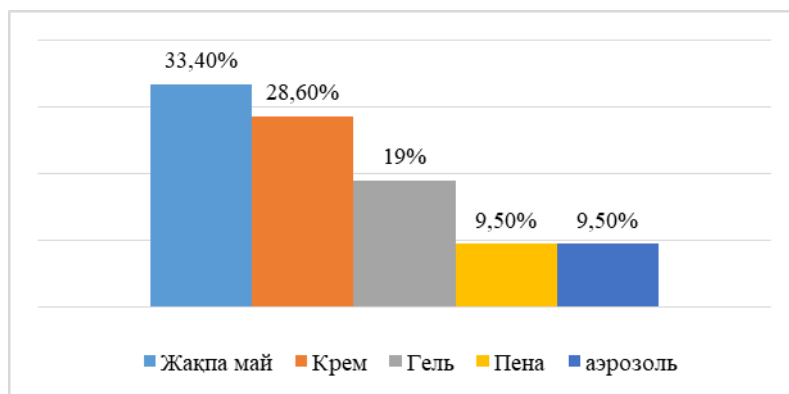
ҚР Мемлекеттік тізілімінің ресми дереккөздері бойынша АТХ классификациясы D03AX тобына жататын жаралар мен ойық жараларды емдеуге арналған жергілікті әсер ететін 21 дәрілік препарат тіркелген, бұл Қазақстан Республикасының Мемлекеттік тізілімінде тіркелген барлық дәрілік заттардың 0,28 % құрайды. ҚР нарығындағы жаралар мен ойық жараларды емдеуге арналған дәрілік заттар өндірушілерінің сегментіне зерттеу жүргізілді, нәтижесі 3 - суретте көрсетілген.



Сурет 3 – Өндіруші мемлекеттердің үлесі

D03AX тобының жергілікті қолдануға арналған препараттарының өндіруші елдер бойынша ассортиментті сегменттеу дәрілік заттардың үлесі басым екенін көрсетті: Германия өндірісі – 23,8%, Қазақстан – 19%, Украина – 14,2%, Турция, Швейцария, Латвия – 14,2%, Хорватия, Россия, Сербия – 4,7%.

Жергілікті жараларды емдеуге арналған препараттарды дәрілік түрі бойынша талдау нәтижелерінде кремдер 28,6%, жақпа майлар 33,4%, гельдер 19%, пена мен аэрозольдер 9,5% үлесін қамтыды (4-сурет).



Сурет 4 – Дәрілік түр бойынша үлесі

Жараларды емдейтін дәрілік түрлерді компоненттік құрамы бойынша талдауы жетекші орынды декспантенол негізіндегі препараттар алатынын көрсетті (14 атау). Жалпы тіркелген препараттардың басым бөлігі монокомпонентті дәрілік препараттар – 66,6%, біріктірілгені – 33,3%-ды құрады. Қазақстан Республикасының фармацевтикалық нарығына жүргізілген шолу нәтижесі оның импортқа жоғары тәуелділігін көрсетті. ҚР Мемлекеттік тізілімінде жараны жазатын препараттардың үлесі өте аз, тіркелген барлық дәрілік заттардың 0,28%-ын құрайды және дәстүрлі емде қолданылатын препараттар басым. АТХ классификациясы V02BC30 тобына жататын біріктірілген жергілікті гемостатик құрамында фибриноген, тромбин, коллагені бар губка Тахокомб препараты (Австрия, Такеда Австрия ГмбХ) тіркелген. Осыған орай, ҚР фармацевтикалық нарығындағы отандық препараттардың үлесін арттыру, импортқа тәуелділікті төмендету басты міндеттердің бірі болып қала береді.

2 ЗЕРТТЕУ МАТЕРИАЛДАРЫ МЕН ӘДІСТЕРІ

Диссертациялық жұмыс төменде келтірілген базаларда орындалды:

- Фармация мектебі, С.Ж. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті, Қазақстан Республикасы;
- Фармацевтикалық технология кафедрасы, фармацевтикалық микробиология кафедрасы, Гданьск Медициналық университеті, Польша;
- «Антиген» ЖШС ғылыми өндірістік базасы, Қазақстан.

Эксперименттік зерттеулерде ҚР Мемлекеттік фармакопеясы, ЕАЭО фармакопеясы, Ресей Федерациясының фармакопеясы, Қазақстан республикасының аумағында әрекет етеді деп танылған әлемнің жетекші фармакопеяларының және басқа да нормативтік құжаттардың талаптарына сәйкес келетін материалдар, қосымша заттар, әдістер мен әдістемелер пайдаланылды.

2.1 Зерттеу материалдары

Жұмыс барысында *Bacillus spp.* штаммдарының таза культуралары бөлініп алынды.

Bacillus subtilis - Жіңішке таяқша тәрізді, жіпше немесе тізбектелген, өлшемдері 2-5x0,4-0,6 мкм болатын бір бірден орналасқан грамм оң бактериялар. Олардың микробтың жасушасының енінен аспайтын сопақша споралары бар. Капсула түзбейді. Тығыз қоректік ортада сұрғылт ақ түсті, өлшемдері орташа, мөлдір емес, шеттері толқынды дөңгелек колониялар түзеді. Сұйық қоректік ортада ортаның лайлануымен және бетінде сұрғылт ақ түсті жұқа қабықшаның түзілуімен жүреді.

Қосымша заттар:

Коллаген (СТ Антиген ЖШС 10802-1907-2019) $C_{57}H_{91}N_{19}O_{16}$ (M_r 1302,5), (Қосымша К).

Су, тазартылған (ҚР МФ I, т. 2). Мөлдір түссіз сұйықтық [126, Б. 475-477].

Этанол (96 %) Р (ҚР МФ I, т. 2), C_2H_5OH (M_r 46.03). Түссіз, мөлдір, ұшқыш, жанғыш сұйықтық, гигроскопиялық, сумен және метилен хлоридімен араласады. Көк жалынмен жанады [126, Б. 577-583], өндіруші - Avantor Performance Materials (Гливице, Польша).

Диметилсульфоксид (ДМСО) (ҚР МФ I, т.1), C_2H_6OS . (M_r 78.13). Сульфинилдиметан. мөлдір, түссіз, майлы, гигроскопиялық сұйықтық. Сумен және этанолмен (96 %) араласады, қайнау температурасы 189°C, судың мөлшері 10 г/л артық емес. Өндіруші - Sigma-Aldrich, Сент-Луис, Миссури, АҚШ.

Тест культуралар:

Bacillus subtilis ATCC 6633, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213,

Staphylococcus epidermidis ATCC 12228, *Streptococcus group B*, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Candida albicans* ATCC 2091, *Candida krusei* ATCC 14243, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Shigella sonnei* ATCC 25931, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Salmonella enterica* ATCC 35664, *Klebsiella aerogenes* ATCC 13048, *Enterococcus hirae* ATCC 10541, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Serratia marcescens* ATCC 13880, *Proteus vulgaris* ATCC 6380 эталондық штаммдары қолданылды.

Тест антибиотиктер:

Пенициллин G (PEN, 10 мкг/диск), ампициллин (AMP, 10 мкг/диск), амоксициллин (АМОХ, 30 мкг/диск), амоксициллин-клавулан қышқылы (АМС, 30 мкг/диск), карбенициллин (CAR, 100 мкг/диск), клоксациллин (СХ, 5 мкг/диск), эритромицин (ЕРО, 15 мкг/диск), азитромицин (AZM, 15 мкг/диск), цефепим (FEP, 30 мкг/диск), цефепим/клавулановая кислота (FEC-40 мкг/диск), цефалатин (KF, 30 мкг/диск), цефотаксим (СТХ, 30 мкг/диск), гентамицин (CN, 120 мкг/диск), стрептомицин (STR, 10 мкг/диск), тобрамицин (ТОВ, 10 мкг/диск), тетрациклин (ТЕТ, 30 мкг/диск), полимиксин (РВ, 300 бр/диск) және бацитромицин (В, 10 мкг/диск) антибиотик сіңірілген индикаторлы дискілер қолданылды.

Қоректік орталар, ерітінділер және реагенттер

Нутриент агар (НА), қоректік сорпа (ҚС) ет пептонды агар (ЕПА), ет пептонды сорпа (ЕПС), Мюллер-Хинтон агары, эндо ортасы, Сабуро ортасы қолданылды.

2.2 Зерттеу әдістері

Vacillus spp. штаммдарының бөліп алу

Vacillus spp. штаммдары әртүрлі ферменттелген өнімдерден бөлініп алынды. Үлгілердің 15 г 100 мл 0,85 %-дық NaCl-де шайқау арқылы (150 айн/мин, 15 минут) гомогенизацияланды, сериялық сұйылтылды және су моншасында 90°C температурада 10 минут инкубацияланды. Үлгілер бөлме температурасына дейін салқындатылып, (НА/ЕПА) қоректік агары бар Петри табақшаларына 0,1 мл егілді. НА/ЕПА пластиналары желатинді пептоннан (5 г/л), бактериологиялық агардан (15 г/л) және ет сығындысынан (3 г/л) тұрды. Планшеттер 37°C температурада 48 сағат бойы инкубацияланды. Таза штаммдарды қоректік сорпаға 20 % глицерин қосып, -20 °C температурада сақталды.

Сәйкестендіру

Vacillus spp. штаммдарының сәйкестендірілуі морфологиялық, культуралдық, биохимиялық және молекулалық-генетикалық қасиеттерін анықтау арқылы дәлелденді. Штаммдардың молекулалық-генетикалық сипаттамалары үшін 16S рРНК гендерінің нуклеотидті реттілігін талдау пайдаланылды.

Морфологиялық қасиеттерін зерттеу

Жағындыны дайындау үшін таза зат әйнектің ортасына шағын тамшы суды енгізіп, зерттелетін материалды бактериялық ілмек көмегімен орналастырылды. Материалды 1-2 см² өлшемде жұқа дөңгелек немесе сопақ пішінді үлгілері пайда болатындай, әйнекте біркелкі жағылды. Содан кейін препарат қыздырғыш жалынның үстінде кептірілді. Кептірілген жағынды бекітіліп, нәтижесінде шыныға бекітілген микробтар инактивацияланады және қауіпсіз болады, олардың түске боялу сезімталдығы артады. Грам әдісімен боялған жағындылардың микроскопиялық мәліметтері алынды.

Биохимиялық қасиеттерін зерттеу

Штаммдарды биохимиялық сәйкестендіру үшін Vitek баканализаторы және BioMerieux (Франция) шығарған Apiweb идентификациялық бағдарламалық құралы бар стандартталған API 50 CH және API 20 E сынақ жүйелері пайдаланылды. Бұл сынақ жүйесі микроорганизмдердің көмірсулар алмасуын зерттеуге арналған 50 биохимиялық сынақтарды қамтиды. Әрбір сынақ жүйесіне қоса берілген нұсқауларға сәйкес зерттелетін микроорганизмнің таза тәуліктік культурасы стерильді тамшуырлар арқылы әрбір сынақ жүйесінің жолақтарының ұяшықтарына жағылды. Дайындалған жолақтар инкубациялық қораптарға салынып, термостатта 37°C температурада 24 сағат бойы инкубацияланды. Инкубациядан кейін реакция жазылды. Биохимиялық зерттеулердің нәтижелері Apiweb бағдарламалық қамтамасыз ету базасына енгізілді.

Зерттелетін штаммдардан ДНҚ-ны бөліп алу

ДНҚ бөліп алу үшін бактериялық штаммдар 28°C температурада, түні бойы шайқалған, 7 мл триптиказо-соя сорпасында (TSB) өсірілді. Центрифугалау арқылы жиналған жасушалар 500 мкл TE (50 mM Трис/HCl, 40 mM ЭДТА, pH 8,0) буферінде қайта суспензияланды. Әрі қарай, жасуша лизисі және нуклеин қышқылының экстракциясын Бірлескен Геном институты СТАВ [64] көмегімен бактериялық ДНҚ-ны бөліп алу үшін ұсынған хаттамаға сәйкес орындалды, Turbo RNase (Ambion) көмегімен РНҚ ыдырауы жүргізілді. ДНҚ саны мен сапасы алдымен NanoDrop спектрофотометрімен, содан кейін агарозды гель электрофорезімен бағаланды.

ПТР-амплификацияны секвенирлеу және филогенетикалық талдау

ДНҚ амплификациясын өндірушінің нұсқауларына сәйкес PCR Master Mix (Thermo Scientific; K0171) көмегімен 25 мкл реакциянды көлемінде жүргізілді. Амплификация T100 Bio-Rad термоциклерінің көмегімен жүзеге асырылды. Амплифицирленген өнімдер 0,5xTAE буферінде 100 В кернеуде 1% (масса/көлем) агарозды геледе 40 минут бойы бөлінді және және этидиум бромидімен (0,5 г/мл) бояғаннан кейін ультракүлгін сәулелерінде көрінді. Секвенирлеу өндірушінің нұсқауларына сәйкес ABI Prism (PerkinElmer) ДНҚ

секвенаторы арқылы жүзеге асырылды. Екі тізбек те әмбебап ПТР праймерлерін қолдана отырып секвенирленді.

Амплифицирленген үлгілер мен сәйкес секвенирленген фрагменттері секвенирлеуге жіберілді және қайта қамтылған нуклеотидтер тізбегін филогенетикалық талдау үшін MEGA бағдарламалық құралы пайдаланылды (MEGA-11). Содан кейін нуклеотидтердің сәйкестігін халықаралық Gene Bank NCBI (Ұлттық биотехнологиялық ақпарат орталығы) дерекқорларын қолдана отырып, бактериялық изоляттар одан әрі тексеріліп, түр деңгейінде жіктелді. Пробиотикалық штаммдардың 16S рРНҚ гендік тізбектері Gq870259, MF581448 және MN036316 тіркеу нөмірлерімен және MF135173, MG561363, MF446886, MN169322, JX849661 тіркеу нөмірлерімен GenBank дерекқорына жүктелді.

Bacillus spp. штаммдарының антагонистикалық белсенділігіне скрининг

1) Патогенді микроорганизмдерге қарсы антагонистік белсенділігін перпендикулярлы штрих әдісін қолдана отырып Мюллер-Хинтон агары (МНА) бар Петри табақшаларында жүргізілді. *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Streptococcus group B*, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Candida albicans* ATCC 2091, *Candida krusei* ATCC 14243, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Shigella sonnei* ATCC 25931, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Salmonella enterica* ATCC 35664, *Klebsiella aerogenes* ATCC 13048, *Enterococcus hirae* ATCC 10541, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Serratia marcescens* ATCC 13880, *Proteus vulgaris* ATCC 6380 эталондық штаммдары пайдаланылды. Перпендикуляр жолақтардың кеңінен қолданылатын әдісіне сәйкес зерттелетін антагонистік штаммдардың экспоненциалды культураларын агар ортасының бетіне жолақтармен жағып, (30±4) °C температурада 24 сағат бойы инкубацияланды. Содан кейін тест штаммның экспоненциалды культураларын Петри табақшасының шетінен антагонист штаммның жолағына жеңіл тиетіндей, перпендикуляр егілді. Планшет сыналатын культуралардың өсуіне қолайлы жағдайларда қайта инкубацияланды.

2) Микробқа қарсы белсенділікті анықтау үшін агардағы диффузия әдісі қолданылды. Пластинаға лайлылығы 0,5 МакФарланда стандартына сәйкес калибрленген бактериялық суспензиялар (шамамен 10⁸ немесе КТБ/мл) қолданылды. Стерильді көлемі 1 мл тамшуыр ұшының көмегімен, Мюллер-Хинтон агарында диаметрі 7 мм болатындай ойық шұңқыр (Оксоид, Басингсток, Ұлыбритания) асептикалық түрде тесілді. Оң бақылау стрептомицин (1 г/мл) препараты алынды. Әрбір шұңқырға барлығы 100 мкл сынақ агенті енгізілді. 37°C температурада 16-дан 24 сағатқа дейінгі инкубациялық кезеңнен кейін тежелу аймағын өлшенді.

3) Бейранванд және т.б. әзірлеген әдіске сәйкес жүргізілді. (2017). Таңдалған изоляттар қоректік сорпада өсіріліп, 14 күн бойы (30±4)°C

температурада инкубацияланды. Содан кейін культураларды алу үшін үш түрлі әдіс қолданылды. Культураларды бұдан әрі культуралардың этилацетаты экстрактысын ЕАЕ (С), қайнатылған және салқындатылған культурасының этилацетаты экстрактысын ЕАЕ (BC) және ультрадыбыстық культурасының этилацетаты сығындысын ЕАЕ (SC) дайындау үшін пайдаланылды. Үш түрлі сығынды жасау үшін культура сорпасы үш тең бөлікке бөлінді. Жеке колбада культуралық сұйықтықтың бір бөлігі ЕАЕ (С) жасау үшін этилацетаттың баламалы мөлшерімен біріктірілді. Бөлінгеннен кейін этилацетат сығындысы 8000 айн/мин 10 минут бойы центрифугаланды. Этилацетаттың супернатанты таза колбаға құйылып, кептіру үшін 50°C дейін қыздырылды. Құрғақ сығындыны еріту үшін 2 мл ДМСО қолданылды. Қоректік ортаның тағы бір бөлігі ЕАЕ (ВА) дайындау үшін 5 минут қайнаған суда инкубацияланды, содан кейін 5 минут салқындатылды. Содан кейін бұл қоспа 1:1 қатынасында этилацетатпен сұйылтылды және үлгілер бірінші әдіс бойынша өңделді. ЕАЕ (SC) алу үшін культура үш минут бойы 130 Вт ультрадыбыспен өңделді, содан кейін бірінші процедурада сипатталғандай экстракцияланды. Үш сығындының патогендік бактерияларға қарсы әсері агардағы диффузия әдісі бойынша тексерілді. Тест штаммдары ретінде *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Streptococcus group B*, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Candida albicans* ATCC 2091, *Candida krusei* ATCC 14243, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Shigella sonnei* ATCC 25931, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Salmonella enterica* ATCC 35664, *Klebsiella aerogenes* ATCC 13048, *Enterococcus hirae* ATCC 10541, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Serratia marcescens* ATCC 13880 және *Proteus vulgaris* ATCC 6380 алынды. Микробтық суспензияларды дайындау үшін стандартты МакФарланд шкаласы бойынша оптикалық тығыздығы 0,5 (ашытқылар үшін 5×10^6 КТБ/мл және бактериялар үшін $1,5 \times 10^8$ КТБ/мл) стерильді тұзды ерітіндісі (0,85 % NaCl) қолданылды. Әрбір патогенді бактерияның тежелу аймағы бағаланды және бақылау ретінде 20 мкл стрептомицин (1 г/мл) алынды.

Bacillus spp. штаммдарының антибиотиктерге төзімділігін анықтау
Диск диффузиясы әдісін қолдана отырып, *Bacillus spp.* штаммдарының антибиотиктерге сезімталдығы Еуропалық комитеттің нұсқауларына сәйкес бағаланды (EUCAST) [127]. Бацилла штаммдары 10^6 КТБ/мл концентрациясында (0,5 МакФарланд, Himedia, Үндістан) 1 мл стерильді ілмектердің көмегімен Мюллер-Хинтон агарына егілді және табақшалар бір сағатқа кептіруге қалдырылды. Содан кейін *Bacillus spp.* штаммдары бар агар табақшаларына антибиотиктері бар дискілер енгізілді. 37°C температурада 24 сағаттық инкубациялық кезеңнен кейін антибиотикалық дискілерді қоршап тұрған тежелу аймақтарының өлшемі электронды сандық штангенциркуль-микрометр (ZHHRHC LCD, Hardened, Китай) көмегімен өлшенді. Бұл CLSI [128] нұсқауларына сәйкес штаммның

антибиотиктерге сезімталдығын (S), аралық төзімділікті (I) немесе төзімділікті (R) анықтауға мүмкіндік берді. Пенициллин G (PEN, 10 мкг/диск), ампициллин (AMP, 10 мкг/диск), амоксициллин (АМОХ, 30 мкг/диск), амоксициллин-клавулан қышқылы (АМС, 30 мкг/диск), карбенициллин (САР, 100 мкг/диск), клоксациллин (СХ, 5 мкг/диск), эритромицин (ЕРО, 15 мкг/диск), азитромицин (АЗМ, 15 мкг/диск), цефепим (СЕР, 30 мкг/диск), цефепим/клавулановая кислота (СЕС-40 мкг/диск), цефалатин (КФ, 30 мкг/диск), цефотаксим (СТХ, 30 мкг/диск), гентамицин (СН, 120 мкг/диск), стрептомицин (STR, 10 мкг/диск), тобрамицин (ТОВ, 10 мкг/диск), тетрациклин (ТЕТ, 30 мкг/диск), полимиксин (РВ, 300 ЭБ/диск) және бацитромицин (В, 10 мкг/диск) антибиотик сіңірілген индикаторлы дискілер қолданылды.

Метаболиттерді газды хромато-масс-спектрометрлік әдіспен талдау

Үлгілер GC/MS 7890A/5975C масс-спектрометриялық детекторы бар газ хроматографиясы әдісімен талданды (Agilent, АҚШ). *Bacillus spp.* штамдарының метаболиттерінің талдау ағынның бөлінуінсіз, үлгіні енгізу температурасы 250 °С, ҚР МФ әдісімен жүргізілді. Бөлу ұзындығы 30 м, ішкі диаметрі 0,25 мм және пленка қалыңдығы 0,25 мкм DB-WaxExt хроматографиялық капиллярлық бағанының көмегімен тұрақты тасымалдаушы газ жылдамдығымен (гелий) 1 мл/мин жүргізілді. Хроматографиялау температурасы 40 °С-тан 10 °С/мин қыздыру жылдамдығымен 270 °С-қа дейін (ұсталу уақыты 15 мин) бағдарламаланады. Талдау уақыты 38 минут. Детектирлеу SCAN m/z 34-750 режимінде жүргізілді. Газ хроматография жүйесін басқару, алынған нәтижелер мен деректерді тіркеу және өңдеу үшін Agilent MSD ChemStation (1701EA нұсқасы) бағдарламалық жасақтамасы қолданылды. Деректерді өңдеу ұстау уақытын, шынғардың аудандарын анықтауды, сондай-ақ масс-спектрометриялық детектор арқылы алынған спектрлік ақпаратты өңдеуді қамтыды. Алынған масс-спектрлерді декодтау үшін Wiley 7th edition және NIST'02 кітапханалары пайдаланылды (кітапханалардағы спектрлердің жалпы саны – 550 мыңнан астам).

Микробиологиялық тазалық (ҚР МФ I, т. 1, 2.6.12, ҚР МФ I, т. 1, 2.6.13)

Ерітіндінің рН (ҚР МФ I, т. 1, 2.2.3 (Потенциометрлік әдіс)

Масса біркелкілігі (ҚР МФ т. I, 2.9.5)

Физико-химиялық зерттеу әдістері

Электрондық микроскопиялық зерттеу

Коллагенді мембраналардың микросуреттері 20кВ жеделдететін кернеуде FEI Quanta 200i 3D (FEI Company, США) құрылғысын пайдаланып сканерлеуші электронды микроскоптың (SEM) көмегімен алынды. Суреттер сұйық азотта мұздатылған және жоғары кескіндерді алу үшін алтынмен қапталған мембраналардың бетінен және көлденең қимасынан алынды. Мембрана үлгілері

алдын ала құрғақ мұздатылған (Мұздатқыш кептіргіш), сонымен қатар алтын шашыратқышпен қапталған.

ИҚ спектрін анықтау

Мембраналардың химиялық құрылымы және олардың компоненттері арасындағы өзара байланысы ИҚ спектроскопиясы арқылы анықталды. Функционалды топтар рiке MIRacle ATR аксессуарымен жабдықталған Cary 660 FTIR (Agilent, Санта-Клара, Калифорния, АҚШ) көмегімен жасалған Фурье түрлендіретін инфрақызыл спектроскопиямен сипатталды (шағылыстың толық әлсіреу режимі). Спектрлер бөлме температурасында 800-ден 4000 см⁻¹ -ге дейінгі толқындық сандар диапазонында өлшенді.

Мембраналардың су сіңіру қабілетін анықтау

Үлгілер 2x2 см өлшемді бөліктерге кесіліп, тұрақты салмаққа дейін кептірілді. Кептірілген мембраналар суға (немесе жараның экссудатына) батырылды және бөлме температурасында ұсталды. Белгілі бір уақыттан кейін (30-45 минут) коллаген қабықшасының бетіндегі артық су сүзгі қағазы арқылы сіңіріліп, тәжірибеден кейін үлгінің салмағы өлшенді. Мембраналардың су сіңіру қабілеті құрғақ және ылғалды мембрана үлгілерінің салмағының айырмашылығына негізделген гравиметриялық әдіспен анықталды. Мембраналардың ісіну дәрежесі (1) формула бойынша есептелді:

$$\alpha = (m - m_0) / m_0 \quad (1)$$

мұндағы

$m - t$ уақытындағы тепе-теңдіктегі ісінген мембрана үлгісінің массасы,
 m_0 – құрғақ үлгінің массасы. Мембрана массасы 0,0001 дәлдікпен аналитикалық таразыда анықталды. Ісіну дәрежесі үш рет қайталама тәжірибенің орташа мәні ретінде анықталды.

Мембрананың рН анықтау. Мембрананың рН мәнін өлшеу үшін мембрана үлгілерін тазартылған суы бар стакандарға батырылды және рН мәні Metrohm 781 рН/Ion Meter құрылғысы арқылы өлшенді.

Клиникаға дейінгі зерттеу әдістері

Клиникалық емес зерттеулер Б. Атчабаров атындағы іргелі және қолданбалы медицина ғылыми-зерттеу институтының базасында *Bacillus spp.* штаммдарының зиянсыздығы, вируленттілігі, уыттылығы, токсигенділігі және пробиотигі бар коллагенді мембраналардың жараны жазатын әсері анықталды. Эксперименттік модельдер топтарға бөлу мен зертханалық жануарларды таңдау А.Н. Мироновтың редакциясымен шыққан «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств» нұсқаулығына сәйкес жасалды. Тәжірибелік зерттеулер тексіз зертханалық ақ тышқандар мен теңіз шошқаларына жүргізілді. Зертханалық жануарлар алдын ала 2 апталық карантиннен өткен С.Ж. Асфендияров атындағы ҚазҰМУ виварийінен алынды. Зертханалық жануарларды ұстау виварийдің стандартты бақыланатын

жағдайында табиғи жарық режимінде, қалыпты тамақ рационын сақтай отырып, арнайы торларда жүзеге асырылды. Топтарға бөлу әр сериядағы жануарлардың массасына байланысты іріктелді. Таңбалау түрлі-түсті белгілерді қолдану арқылы жүзеге асырылды. Барлық зерттеулер С.Д. Асфендияров атындағы ҚазҰМУ Жергілікті этикалық комиссиясының отырысы мақұлдаған зерттеу хаттамасына және «Тәжірибелер үшін немесе өзге де ғылыми мақсаттарда пайдаланылатын омыртқалы жануарларды қорғау туралы» Еуропалық конвенцияның қағидаттарына сәйкес жүргізілді [130].

Bacillus subtilis штаммының зиянсыздығын, вируленттілігін, уыттылығын, токсигенділігін зерттеу

а) Зиянсыздығын тексеру

Сынақтар карантиннен өткен және бұрын эксперименттерде қолданылмаған, салмағы 14-16 г болатын бір жыныстағы 5 сау тексіз ақ тышқандарға жүргізілді. Жануарларды ұстау және азықтандыру виварийдің стандартты бақыланатын жағдайында, табиғи жарық режимінде жүргізілді. Тәжірибеге дейін жануарлардың салмағы өлшенді және сынақтан 3-5 сағат бұрын тамақтандырылмады.

Сыналатын препараттың тест-дозасы бір жануарға 0,5 мл немесе 1,0 мл-ден аспайтын көлемде, енгізер алдында дайындалған препараттың суспензиясы 6-8 рет араластырыла отырып, әр тышқанның асқазанына шприцке арналған арнайы саптаманың көмегімен (аздап иілген ине немесе резеңке зонд; иілудің болуы инені жануардың өңешіне енгізуге мүмкіндік береді) 0,1 мл/с жылдамдықпен енгізіледі. Бақылау мерзімі 5 күн және бақылау мерзімі аяқталғаннан кейін тышқандардың топтық дене салмағы анықталады.

Сынаманы дайындау

Сынақ үшін тығыз қоректік ортада өсірілген екінші немесе үшінші рет егілген өсінді культуралары қолданылады. Өскен культураларды қоректік ортаның бетінен 0,9% натрий хлориді ерітіндісімен жуады, алынған суспензиядағы микроб жасушаларының концентрациясы 10 ЭБ лайылықтың стандартты үлгісін пайдалана отырып анықталады. Алынған суспензиядан натрий хлоридінің 0,9% ерітіндісінде бірқатар он есе сұйылтулар жасалады, 0,5 мл көлемінде микроб жасушалары 10^9 , 10^{10} , 10^{11} сынақ дозалары алынады.

б) Вируленттілігін тексеру

Вируленттілікті зерттеу тексіз ақ тышқандарға зерттелетін препараттың сынақ дозаларын бір рет құрсақішілік енгізу арқылы жүзеге асырылады. Тәжірибеде 1 сынақ дозасына 10 тышқан қолданылады. Сынақтан бұрын тышқандардың топтық дене салмағы анықталады.

Сыналатын препараттың тест-дозасы 0,9% натрий хлориді ерітіндісінің 0,5 мл көлемінде әр тышқанға 0,1 мл/с жылдамдықпен құрсақішілік енгізіледі. Бақылау мерзімі 5-7 күн және бақылау мерзімі аяқталғаннан кейін тышқандардың топтық дене салмағы анықталады.

Сынаманы дайындау

Сынақ үшін тығыз қоректік ортада өсірілген екінші немесе үшінші рет егілген өсінді культуралары қолданылады. Өскен культураларды қоректік ортаның бетінен 0,9% натрий хлориді ерітіндісімен жуады, алынған суспензиядағы микроб жасушаларының концентрациясы 10 ЭБ лайлылықтың стандартты үлгісін пайдалана отырып анықталады. Алынған суспензиядан натрий хлоридінің 0,9% ерітіндісінде бірқатар он есе сұйылтулар жасалады, 0,5 мл көлемінде микроб жасушалары 10^8 , 10^9 , 10^{10} сынақ дозалары алынады.

в) Уыттылығын тексеру

Уыттылық зерттеу тексіз ақ тышқандарға зерттелетін препараттың сынақ дозаларын бір рет құрсақішілік енгізу арқылы жүзеге асырылады. Тәжірибеде бір сынақ дозасы үшін 10 тышқан қолданылады. Тәжірибеге дейін жануарлардың топтық салмағы өлшенеді. Сыналатын препараттың тест-дозасы 0,9% натрий хлориді ерітіндісінің 0,5 мл көлемінде әр тышқанға 0,1 мл/с жылдамдықпен құрсақішілік енгізіледі. Бақылау мерзімі аяқталғаннан кейін жануарлардың топтық дене салмағы анықталады.

Сынаманы дайындау

Сынақ үшін тығыз қоректік ортада өсірілген екінші немесе үшінші рет егілген өсінді культуралары қолданылады. Өскен культураларды қоректік ортаның бетінен 0,9% натрий хлориді ерітіндісімен жуады, алынған суспензия 100°C температурада, 60 минут су моншасында инактивацияланады. Салқындатылғаннан кейін суспензиядағы микроб жасушаларының концентрациясы 10 ЭБ лайлылықтың стандартты үлгісін пайдалана отырып анықталады. Алынған суспензиядан натрий хлоридінің 0,9% ерітіндісінде бірқатар он есе сұйылтулар жасалады, 0,5 мл көлемінде микроб жасушалары $0,5 \times 10^9$, $1,0 \times 10^9$, $2,0 \times 10^9$ сынақ дозалары алынады.

г) Токсигенділігін тексеру

Токсигенділігін зерттеу тексіз ақ тышқандарға зерттелетін препараттың сынақ дозаларын бір рет құрсақішілік енгізу арқылы жүзеге асырылады.

Тәжірибеде бір сынақ дозасы үшін 10 тышқан қолданылады. Тәжірибеге дейін жануарлардың топтық салмағы өлшенеді. Сыналатын препараттың тест-дозасы 0,1; 0,5; 1,0 мл көлемінде құрсақішілік енгізіледі. Бақылау мерзімі 5 күн және бақылау мерзімі аяқталғаннан кейін тышқандардың топтық дене салмағы анықталады.

Сынаманы дайындау:

Зерттеуге (36 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ температурада 10 тәулік бойы сұйық қоректік ортада токсиндердің жинақталуы үшін өсірілген екінші немесе үшінші рет егілген өсінді культуралары қолданылады. Культивирлеу мерзімі біткеннен кейін өсу культуралары 8000 айн/мин 30 минут ішінде центрифугаланады. Алынған супернатант немесе фильтрат 0,1; 0,5; 1,0 мл көлемде қолданылады.

Пробиотиғі бар коллагенді мембрананың жараны жазатын әсерін анықтау

Зерттелінетін субстанцияның уыттылығын зерттеу С.Ж. Асфендияров атындағы ҚазҰМУ, Б. Атчабаров атындағы іргелі және қолданбалы ғылыми зерттеу институты вивариясында 14 күн карантин режимінде ұсталынған дені сау жыныстық тұрғыда толық жетілген, салмағы 210-240 г теңіз шошқаларына жүргізілді. Жануарларға жүргізілген барлық зерттеулер жергілікті этикалық комиссия мүшелерінің келісімімен жүргізілді. (Қосымша С). Тәжірибе жүргізу үшін зерттеуге алынған жануарлар 4 топқа бөлінді: 1 топ бақыланатын топ, қалған 3 топ тәжірибелі топ болды. Бақылау тобына ем жүргізілмеді.

Нәтижелерді статистикалық әдістер арқылы өңдеу.

Алынған тәжірибелік мағлұматтарды математикалық статистикалық өңдеуді ҚР МФ талаптарына сәйкес SPSS 13 программасын қолдана отырып жүргіздік. Орташа арифметикалық мәндер және соларға сәйкес стандартты ауытқу (SD) мәндері келтірілді.

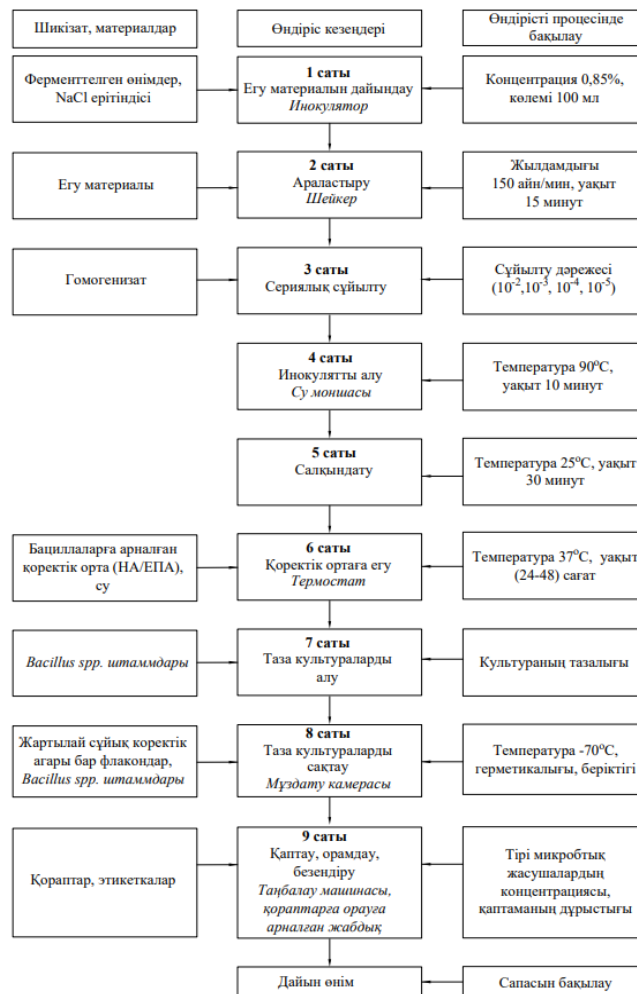
Нәтижелерді статистикалық өңдеу

Xlsat 2016.02.27444 нұсқасының бағдарламалық жасақтамасы маңыздылық деңгейінде бір факторлы дисперсиялық талдау жүргізу үшін пайдаланылды ($\alpha = 0,05$). Ньюмен-Кейлс критерийі зерттелетін параметрлер арасында айтарлықтай айырмашылықтар болған кезде орташа мәндерді бағалау үшін пайдаланылды.

3 БӨЛІП АЛЫНҒАН ШТАММДАРДЫҢ СИПАТТАМАСЫ

3.1 *Bacillus spp.* штаммдарын бөліп алу және морфологиялық, культуралдық, биохимиялық және генетикалық қасиеттерін анықтау

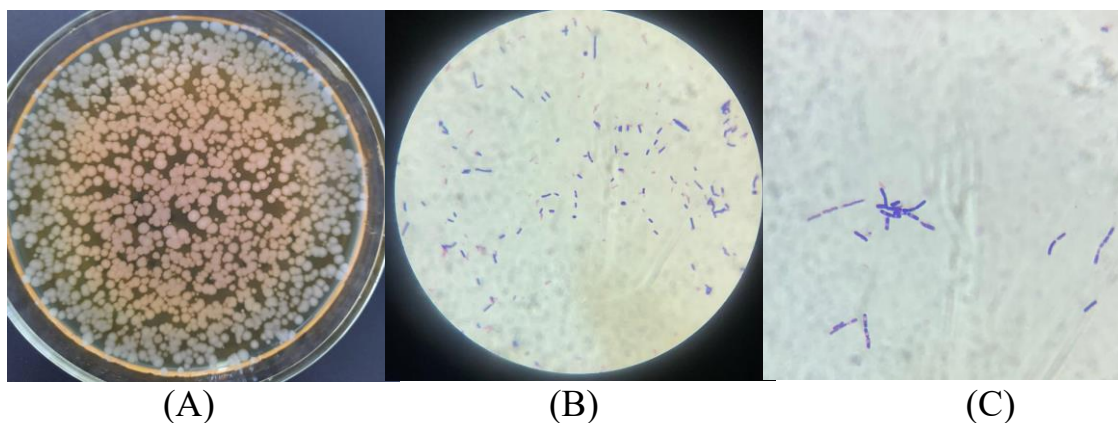
Bacillus spp. таза культураларын бөліп алу үшін, тікелей терең себу әдісі қолданылды. Зерттелетін үлгінің (табиғи өнімдер) 15 г 100 мл 0,85%-дық NaCl-де тербелткіште 150 айн/мин 15 мин шайқау арқылы әрі қарай дайын болған суспензия тұндыруға қалдырылып, сұйылту (10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5}) үшін пайдаланылды және 90°C температурада 10 мин су моншасында инкубацияланды. Үлгілер бөлме температурасына дейін салқындатылды, 0,1 мл үлгілерді қоректік агар/ет-пептон (НА/ЕПА) агары бар Петри табақшаларына егілді. НА/ЕПА желатин-пептоннан (5 г/л), бактериологиялық агардан (15 г/л) және ет сығындысынан (3 г/л) тұрды. Егілген және таңбаланған үлгілер термостатқа 37°C температурада 24-48 сағатқа қалдырылды. Бөлінген таза штаммдар жартылай сұйық қоректік агарда -70 °C температурада сақталынды (5-сурет).



Сурет 5 - *Bacillus spp.* таза культураларын бөліп алудың технологиялық сызбасы

Зерттеу нәтижесінде бөлінген таза культураларға морфологиялық, культуралдық, биохимиялық, молекулалық генетикалық талдаулар жүргізілді.

Культуралардың жағындыларын микроскопиялық зерттеудің нәтижесінде барлық алынған штаммдар - жіңішке таяқша тәрізді, жіпше немесе тізбектелген, бір бірден орналасқан грамм оң бактериялар. Олардың микробтың жасушасының енінен аспайтын сопақша споралары бар. Капсула түзбейді (6-сурет).



Сурет 6 – Бациллалардың культуралдық көрінісі (А), микроскоппен қарағандағы көрінісі (x100) (В), жасуша ішіндегі спора көрінісі (С)

Культуралардың морфологиялық қасиеттерін анықтау барысында әртүрлі колониялар пайда болды: біріншісі - дөңгелек, ірі, жиектері тегіс, дөңес, күмбез тәрізді; екіншісі - толқынды шеттермен, мыжылған, тегіс, өрескел колониялар; үшіншісі - дөңгелек, дөңес, күмбез тәрізді, жиектері толқынды, өрескел колониялар. Барлық үш нұсқасы да ашық қызғылт түстен қызғылт түске дейін болды.

Кесте 5- Колониялардың морфологиясы және микроскопиялық түрі

Бактерия түрлері	Қоректі орта	Колонияның түсі мен құрылымы	Микроскопиялық түрі
<i>Bacillus subtilis</i> O-3 (BSS11)	НА/ЕПА	ақ, тегіс емес, жалпақ	грамм оң, спора түзетін, таяқша
<i>Bacillus subtilis</i> Md1-42 (BSS17)	НА/ЕПА	ақ, тегіс емес, жалпақ	грамм оң, спора түзетін, таяқша
<i>Bacillus subtilis</i> Khozestan2 (BSS19)	НА/ЕПА	ақ, тегіс емес, жалпақ	грамм оң, спора түзетін, таяқша
<i>Bacillus thuringiensis</i> F3 (BSS25)	НА/ЕПА	ақ, тегіс емес, жалпақ	грамм оң, спора түзетін, таяқша
<i>Bacillus toyonensis</i> FORT 102 (BSS21)	НА/ЕПА	ақ, тегіс емес, жалпақ	грамм оң, спора түзетін, таяқша

5-кестенің жалғасы

1	2	3	4
<i>Bacillus acidiproducens</i> NiuFun (BSS16)	HA/ЕПА	ақ, тегіс емес, жалпақ	грамм оң, спора түзетін, таяқша
<i>Bacillus cereus</i> WAB2133 (BSS13)	HA/ЕПА	ақ, тегіс емес, жалпақ	грамм оң, спора түзетін, таяқша
<i>Bacillus safensis</i> AS-08 (BSS12)	HA/ЕПА	ақ, тегіс емес, жалпақ	грамм оң, спора түзетін, таяқша

Таңдалынып алынған 8 штаммның келесі биохимиялық қасиеттері (микроорганизмдердің қозғалғыштығы, аммиак, индол, күкіртсутегінің түзілуі, несепнәрдің гидролизі, глюкозаның ыдырауы, лецитиназаның өнімі, көмірсулардың жойылуы) анықталды, нәтижесі 6 - кестеде көрсетілген.

Кесте 6 - Зерттеуге алынған *Bacillus* spp. штаммдарының биохимиялық қасиеттері

<i>Bacillus</i> spp.	BSS11	BSS17	BSS19	BSS25	BSS21	BSS1 6	BSS13	BSS1 2
Каталаза	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Фогес Прокауэр реакциясы	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Глюкозадан қышқыл мен газдың түзілуі: қышқыл/газ	(+)/(-)	(+)/(-)	(+)/(-)	(+)/(-)	(+)/(-)	(+)/(-)	(+)/(-)	(+)/(-)
Сахароза	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Лецитиназа	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Гемолиз	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Маннит	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Нитраттардың редукциясы	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Уреаза	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Күкіртсутегі	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Цитраттарды жою	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Индол	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Қозғалмалығы	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

Зерттеу барысында культуралар қозғалмалы, каталаза, уреаза түзеді, глюкоза мен маннитолды ыдыратады, нитраттарды редуцирлейді, цитраттарды

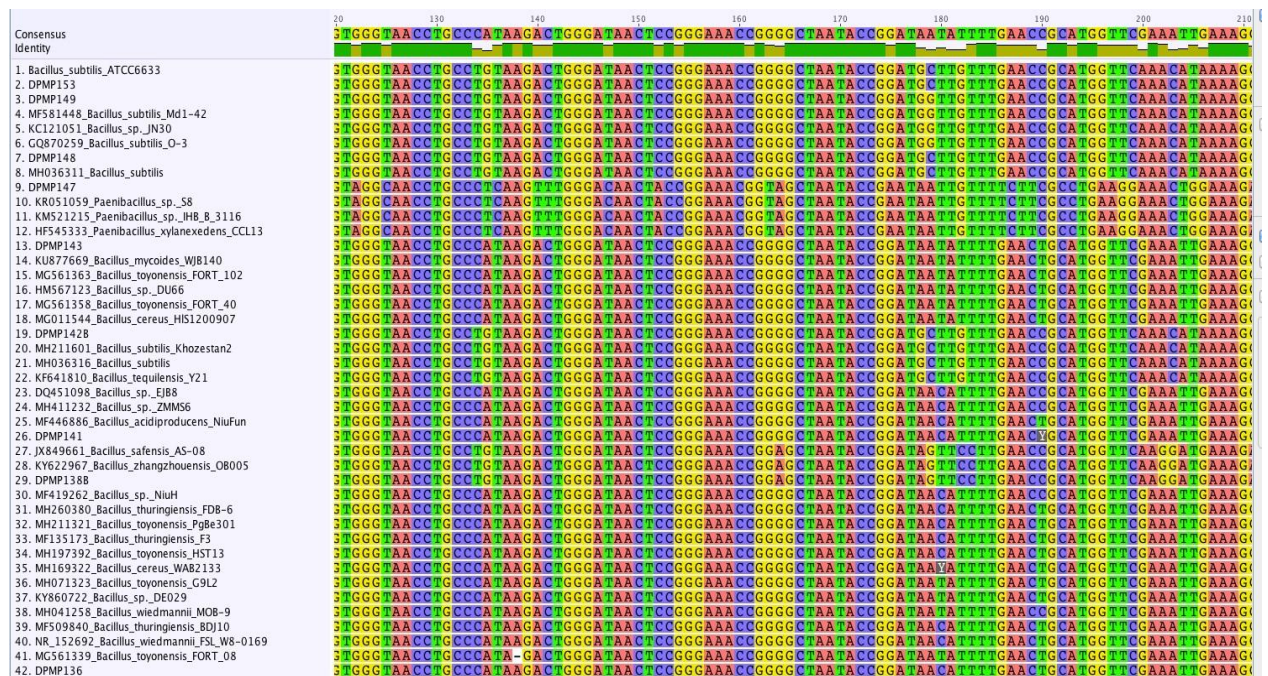
жояды және Фогес-Проскауэрге оң реакция береді, лецитиназа және гемолиз түзбейді.

Зерттелетін штаммдардан ДНҚ-ны бөліп алу

ДНҚ бөліп алу үшін бактериялық штаммдар түні бойы 28 °C температурада, шайқай отырып, 7 мл триптиказо-соя сорпасында (TSB) өсірілді. Жасушалар центрифугалау арқылы жиналды және 500 мкл TE буферінде қайта суспензияланды (50 mM Tris/HCl, 40 mM EDTA, pH 8,0). Әрі қарай, жасуша лизисі және нуклеин қышқылының экстракциясы СТАВ көмегімен бактериялық ДНҚ-ны бөліп алу үшін Бірлескен Геном институты ұсынған хаттамаға сәйкес орындалды, содан кейін Turbo RNase (Ambion) көмегімен РНҚ сәйкестендірілді. ДНҚ саны мен сапасы алдымен NanoDrop спектрофотометрімен, содан кейін агарозды гель электрофорезімен бағаланды. ДНҚ бөліп алуда қолданылған реактивтер 7-кестеде көрсетілген.

ДНҚ-ны бөліп алғаннан кейін үлгілерге электрофоретикалық талдауы

Кестеде көріп отырғандай ID12_10475 локус тізбегінің түрішілік ұқсастық деңгейі тиісінше 99 %, ал қамту аймағы 100 % құрады, талданған фрагменттердің ұзындығын ескере отырып, 500 нуклеотидтен аз емес ДНҚ сегментін қапталдайтын тура және кері праймерлерді құруға сәйкес келеді. Аймақтарды іздеу үшін түрлерге тән праймерлерді, тізбектерді салу үшін, нуклеотидтер мен аминқышқылдарының тізбегін бірнеше рет теңестіруге арналған ең көп қолданылатын компьютерлік бағдарламалардың бірі қолайлы бағдарламасының көмегімен теңестіріледі ClustalX 2.1.



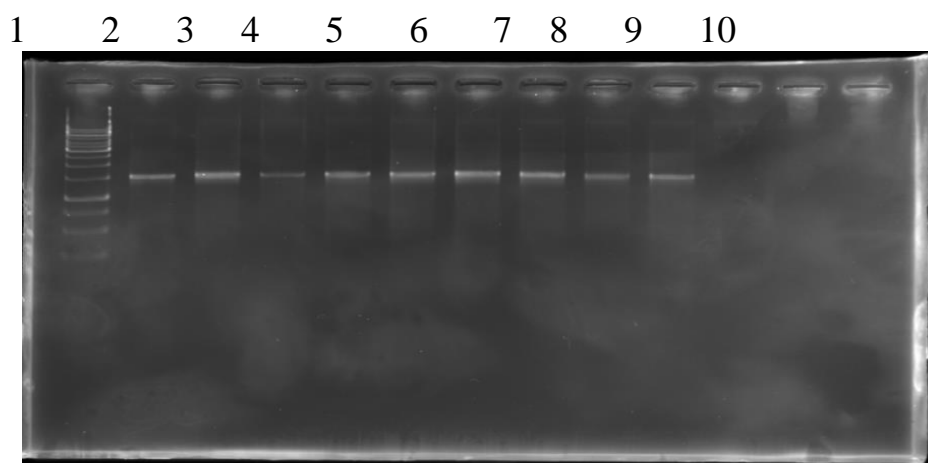
Сурет 7- bp1K-F және bp1K-R праймер жұбының ID12_10475 локусының аймақтарында орналасуы және штаммдарының гомологты тізбектері

Кесте 7- ДНК бөліп алуға қолданылған реактивтер

Реактивтер:	1 * μ l	10 үлгі
Primer 1	1	10
Primer 2	1	10
MgCl ₂	4	40
Bufo KCl	5	50
BSA	3	30
Gliserol	3	30
dNTPs	5	50
H ₂ O	28	280
Taq polimerase	0.2	2
DNA	1	1

Электрофорез әдісі және ПТР әдісі арқылы алынған *Bacillus spp.* штамдарының ДНК бөліп алу нәтижелері 8-суретте келтірілген. 1,2 - үрдістің маркері, 3-10 бөлініп алынған *Bacillus spp.* штамдары.

Одан әрі зерттелетін штамдардың 16S рДНК фрагменттерін амплификациялау (шамамен 1400 бит) жүргізілді. Штамдар тура (8 - AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG) және кері (806 - GGA CTA CCA GGG TAT CTA AT) праймерлер арқылы амплификацияланды. Амплификациялау Bio Rad 2 қондырғысы арқылы жүргізілді. ДНК тазалығы мен концентрациясы белгілі концентрациядағы ДНК фрагменттері бар λ Hind III маркерімен салыстырғанда электрофорез көмегімен бағаланды (8-сурет).



Сурет 8 - Оқшауланған штамдардың бөлінген ДНК-сы

Электрофорезден кейін ПТР өнімдері екі ферменттің көмегімен тазартылды, олардың бір ферменті (SAP - фосфатаза) негізгі жолақтан басқа,

төменнен және жоғарыдан бөгде нуклеотидтердің қалған бөлігін ажыратады. Екінші фермент (EXO-экзонуклеаза) негізгі жолақтың екі жағынан да тазаланады. ПТР өнімдерін екі ыдыратушы ферменттермен тазартудан кейін секвенирлеу хаттамасы – ПТР өнімі жасалды.

ПТР реттілігі үшін жалпы реакция қоспасы әрбір праймер үшін бөлек дайындалды. Реакция қоспасының соңғы мөлшері 15 мкл болуы керек. ПТР өнімінің реттілігі АҚШ-та өндірілген Tet Rad 2 күшейткішінде орындалды. ПТР өнімдерін секвенирлеуден кейін натрий ацетатымен тазартамыз. Біз (10 үлгі үшін, 50 мкл этанол) негізінде барлық үлгілер үшін реакция қоспасын дайындаймыз. Біздің жағдайда төрт қайталау үшін 150 мкл этанолға 35 сынама мөлшерінде 138 мкл этанол алу керек. Реакция қоспасы араластырылады және тазартуды жүзеге асыру үшін ПТР реттілігінен кейін әрбір үлгіге 30 мкл қосылады. Содан кейін 3000 айн/мин жылдамдықпен 30 минут центрифугалайды.

Супернатант төгіп тастап және 60 мкл 75% этанол ерітіндісімен 1-2 рет жуылады. Түтіктерді бөлме температурасында толық кептіру үшін қалдырылады. Кептірілген үлгілер 20 мкл формамид ерітіндісімен ерітіледі. Таза ПТР өнімдерін секвенирлеу 3730xL DNA Analyzer секвенсерінде орындалды. Секвенирлеу нәтижесінде зерттелетін штаммдардың 16S рРНҚ генінің 800 - 1000-ға жуық жұптары анықталды.

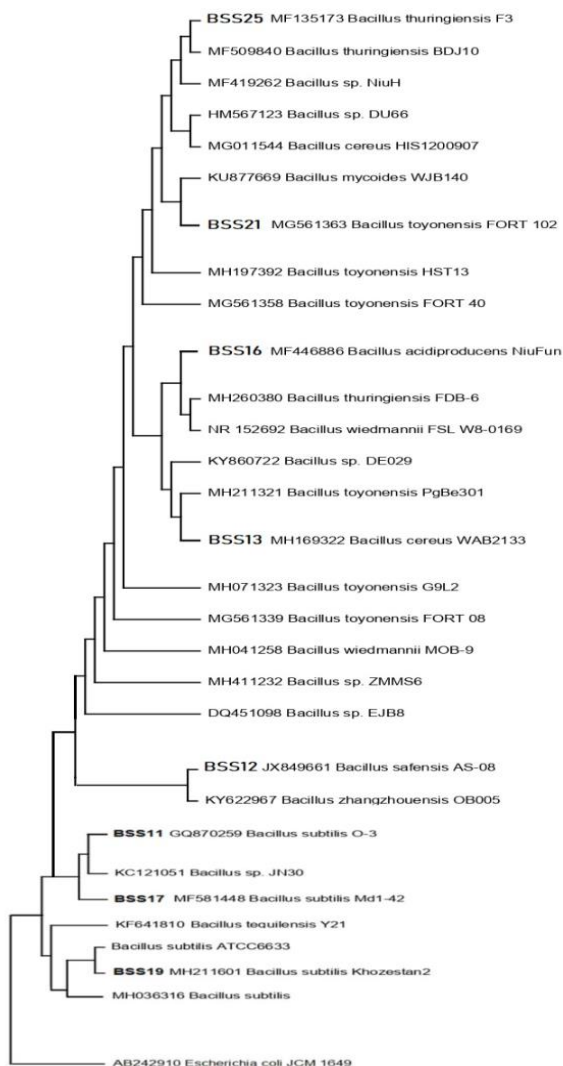
Келесі кезеңде GenBank деректер базасын пайдалана отырып, 16S рДНҚ-ға гомологты тізбектер реттілігі бойынша зерттелетін үлгілердің генетикалық тізбегі туралы деректерді және олардың пайыздық дәлдігі туралы ақпараттар қарастырылды.

Жалпы алғанда, таңдалған 8 изоляттың 16s рРНҚ гендік тізбегін талдау нәтижесі бойынша *Bacillus* түріне жататын келесі штаммдар анықталды:

- *Bacillus subtilis* O-3 (BSS11)
- *Bacillus subtilis* Md1-42 (BSS17)
- *Bacillus subtilis* Khozestan2 (BSS19)
- *Bacillus thuringiensis* F3 (BSS25)
- *Bacillus toyonensis* FORT 102 (BSS21)
- *Bacillus acidiproducens* NiuFun (BSS16)
- *Bacillus cereus* WAB2133 (BSS13)
- *Bacillus safensis* AS-08 (BSS12)

Bacillus изоляттарының 16S рРНҚ гендік тізбегі Ұлттық биотехнологиялық ақпарат орталығы (NCBI) GenBank дерекқорына сақталды. Филогенетикалық сәйкестікті одан әрі зерттеу үшін барлық изоляттардың 16S рРНҚ гендік тізбегі бір-бірімен тығыз байланысты эталондық тізбектермен сәйкестендірілді, нәтижесінде *Bacillus subtilis* O-3 (BSS11), *Bacillus subtilis* Md1-42 (BSS17), *Bacillus subtilis* Khozestan2 (BSS19), *Bacillus thuringiensis* F3 (BSS25), *Bacillus toyonensis* FORT 102 (BSS21), *Bacillus acidiproducens* NiuFun

(BSS16), *Bacillus cereus* WAB2133 (BSS13), *Bacillus safensis* AS-08 (BSS12) штаммдары және филогенетикалық ағашта сыртқы топ ретінде *E. coli* JCM 1649 (AB242910) алынды (сурет 9).



Сурет 9 - *Bacillus spp.* штаммдарының филогенетикалық ағашының құрылымы

Bacillus subtilis O-3 (BSS11), *Bacillus subtilis* Md1-42 (BSS17), *Bacillus subtilis* Khozestan2 (BSS19), *Bacillus thuringiensis* F3 (BSS25), *Bacillus toyonensis* FORT 102 (BSS21), *Bacillus acidiproducens* NiuFun (BSS16), *Bacillus cereus* WAB2133 (BSS13), *Bacillus safensis* AS-08 (BSS12) осы бактерия изоляттары үшін ең жоғары реттілік сәйкестігі анықталды, нәтижесі 8-кестеде көрсетілген. Филогенетикалық талдаудан кейін жоғары жүктеу мәндері алынды және филогенетикалық құрылымы сипатталған таксономияға сәйкес келді.

Кесте 8 - Бактерия түрлерін бірізділік ұқсастығы бойынша анықтау

Sequences	BLAST сәйкестендіру нәтижелері			
	Accession # GeneBank	Штаммның атауы	16S рРНҚ амплиф. аймақтың ұзындығы	Сәйкестігі, %
GGGCGTGCTA ATACATGCAG TCGAGCGGAC AGATGGGAGC TTGCTCCCTG ATGTTAGCGG CGGACGGGTG AGTAACACGT GGGTAACCTG CCTGTAAGAC TGGGATAACT CCGGGAAACC GGGGCTAATA CCGGATGGTT GTTTGAACCG CATGGTTCAA ACATAAAAGG TGGCTTCGGC TACCACTTAC AGATGGACCC GCGGCGCATT AGCTAGTTGG TGAGGTAACG GCTCACCAAG GCAACGATGC GTAGCCGACC TGAGAGGGTG ATCGGCCACA CTGGGACTGA GACACGGCCC AGACTCCTAC GGGAGGCAGC AGTAGGGAAT CTTCGCAAT GGACGAAAGT CTGACGGAGC AACGCCCGCT GAGTGATGAA GGTTCGGA TCGTAAAGCT CTGTTGTTAG GGAAGAACAA GTACCGTTCG AATAGGGCGG TACCTTGACG GTACCTAAC AGAAAGCCAC GGCTAACTAC GTGCCAGCAG CCGCGGTAAT ACGTAGGTGG CAAGCGTTGT CCGGAATTAT TGGGCGTAAA GGGCTCGCAG GCGGTTTCTT AAGTCTGATG TGAAAGCCCC CGGCTCAACC GGGGAGGGTC ATTGGAAACT GGGGAACCTG AGTGCAGAAG AGGAGAGTGG AATTCACGT GTAGCGGTGA AATGCGTAGA GATGTGGAG AACACCAGTG GCGAAGGCGA CTCTCTGGTC TGTAACCTGAC GCTGAGGAGC GAAAGCGTGG GGAGCGAACA GGATTAGATA CCCTGGTAGT CCACGCCGTA AACGATGAGT GCTAAGTGT AGGGGGTTTC CGCCCCCTAG TGCTGCAGCT AACGCATTA GCACTCCGCC TGGGGAGTAC GGTGCGAAGA CTGAAACTCA AAGGAATTGA CGGGGGCCCCG CACAAGCGGT GGAGCATGTG GTTTAATTCG AAGCAACGCG AAGAACCCTTA CCAGGTCTTG ACATCCTCTG ACAATCCTAG AGATAGGACG TCCCCTTCGG GGGCAGAGTG ACAGGTGGTG CATGGTTGTC GTCAGCTCGT GTCGTGAGAT GTTGGGTAA GTCCCGCAAC GAGCGCAACC CTTGATCTTA GTTGCCAGCA TTCAGTTGGG CACTCTAAGG TGA CTGCGG TGACAAACCG GAGGAAGGTG GGGATGACGT CAAATCATCA TGCCCCCTTAT GACCTGGGCT ACACACGTGC TACAATGGAC AGAACAAGG GCAGCGAAAC CGCGAGGTTA AGCCAATCCC ACAAATCTGT TCTCAGTTCG GATCGCAGTC TGCAACTCGA CTGCGTGAAG CTGGAATCGC TAGTAATCGC GGATCAGCAT GCCGCGGTGA ATACGTTCCC GGGCCTTGTA CACACCGCCC GTCACACCAC GAGAGTTTGT AACACCCGAA GTCGGTGAGG TAACCTTTTA GGAGCCAGCC GCCGAAGGTG ACA	GQ870259	<i>Bacillus subtilis</i> O-3	1443 bp	99
CCGTGGGGGG GATGCTAATA CATGCAGTCG AGCGGACAGA TGGGAGCTTG CTCCCTGATG TTAGCGGCGG ACGGTGAGT AACACGTGGG TAACCTGCCT GTAAGACTGG GATAACTCCG GGAAACCGGG GCTAATACCG GATGGTTGTT TGAACCGCAT GGTTCAAACA TAAAAGGTGG CTTGCGCTAC CACTTACAGA TGGACCCGCG GCGCATTAGC TAGTTGGTGA GGTAACGGCT CACCAAGGCA ACGATGCGTA GCCGACCTGA GAGGGTGATC GGCCACACTG GGA CTGAGAC ACGGCCAGG CTTCTACGGG AGGCAGCAGT AGGGAATCTT CCGCAATGGA CGAAAGTCTG ACGGAGCAAC GCCGCGTGAG TGATGAAGGT TTTCGGATCG TAAAGCTCTG TTGTTAGGGA	MF581448	<i>Bacillus subtilis</i> MD1-42	1454 bp	99

8 – кестенің жалғасы

1	2	3	4	5
<p>АТТААГСАСТ ССГССТГССС АСТАСГСТСГ СААГАСТГАА АСТСАААГГА АТТГАСГССС ГСССГСАСАА ССГСТГСАС АТГТГСТТТА АТТСАААГСА АСГСАААГА ССТТАССАГГ ТТГСАТГССГ ТГСАТАСАТ ГСААСТСГАС ССГСАСАТГ ГГАССТТГСТ СССТГАТГТТ ТСТТГСААТ ССТГСАААТ ССТАГАГАТ ГГАССТССС ТТССССССГА ГАСТГАСАГГ ТГСТГСАТГ ТТГТСГТСАС СТСГТГТСТ ГАГАТГТТГ ГТТААСТСС ГСААСГАСГ СААСССТТГА ТСТТАСТТГ САГАТТСАГ ТТГСССАСТ ТААСТГАСТ ГСССГТГАСА ААСССГАА АГСТГССС АССТСАААТ САТСАТГСС ССТТАССТ ГССТТАСАСА ССТГСАСАА ТГСАСААА АААГСССАС ГАААСССГА ГСТТААССА АТСССАСААА ТСТГТТСТСА ГТТССГАТСГ САСТТГСАА СТСАСТСГ ТГААСТГГА АТСГСТАГАТ АТСГССГАТ АСГАТССС ГСТГААТАС ТТСССССС ТТГТАСАСА ССССССТСА АССАСГАА ТТТГТААСА ССГААСТСГ ТГААСТАА ССТТААГГА САССССССГА АГСТГСАСА АААСТГА</p>				
<p>ССТГССГАА СТСССАТАА ГАСТГССГАА АСТСССГСАА АСССГССГА АТАСССГАА АСАТТТТГАА СТГСАТГСТТ СГАААТТГАА АСГССССТТ ГСТТГСАСТ ТАТГГАТГГА ССССГСТСГ АТТАССТАГТ ТГСТГААГАТ АСГСТСАС ААГСААСА ТСГСТАССС АССТГААА ГТГАТСГСС АСАСТГСС ТГАГАСАСГ СССАСАСТТ ТАСССГААА АСГАТГАА ААСТТТССС ААТГГАСАА АСТТГСАСГ АСГААСССГ ССТГАСТГАТ ГААГСТТТТ ГССТСГААА АСТСТТТТ ТАГСАААГА СААСТГСТА ТТГААТААА ТГСАССТТ АСГСТАСТА АССАГААА САСГСТАА ТАССТГССА САСССГСТТ ААТАССТАГ ТГСАААССТ ТАТСССГАА ТАТТГСССГ АААССССГ СААСТГСТТ СТТААСТТ АТТГАААА ССАСГСТСА АССТТГГА ГТСАТТГГА АСТГССАА ТТГАСТСА АААГГААА ТГГААТТСА ТГТТАСГГ ТГАААТССТ АГАГАТАТГ АГГААССА ГТГССГАА ССАСТТТТ ГТСТТТАА ГАСАСТГА ССГАААСГ ТГСССГАА АСААТТА АТАСССТТ АСТСАСГГ ТАААСГАТ АСТГСТААСТ ГТТАААА ГТССССТТ ТАСТТГАА ГТТААССАТ ТААСАСТ СССТГСССГ ТАССССГА АССТГААА ТСАААГААТ ТГАССССС СССАСААА ГСТГГАСАТ ГТГТТТАА ТСАААСАА ССААААА ТТААААСТ ТТАСАСТТ СТГААААА ТААГАТАА ГСТТТСТТ ССГГАСАГА ГТГАААСТ ГТСАТГСТТ ГТСТСАСТ ССТТТТГА ГАСТТТГСТ ТААСТССС ААСГАСГА АССТТГАТ ТААСТТГСА ТСАТТААСТ ГСГАСТСА ААСТГАСТ СССТГАСАА ССГГАААА ГТГССГАТГА ССТСААТСА ТСАТССССТ ТАТГАССТТ ГТТАСАСА ТГТАСААТ ГАСССТАСАА</p>	<p>MF135173</p>	<p><i>Bacillus thuringiensis</i> F3</p>	<p>1420 bp</p>	<p>99</p>

8 – кестенің жалғасы

1	2	3	4	5
<p>AGAGCTGCAA GACCGCGAGG TGGAGCTAAT CTCATAAAAC CGTTCTCAGT TCGGATTGTA GGCTGCAACT CGCCTACATG AAGCTGGAAT CGCTAGTAAT CGCGGATCAG CATGCCGCGG GTCGAGCGAA TGGATTGAGA GCTTGCTCTC AAGAAGTTAG CGGCGGACGG GTGAGTAACA TGAATACGTT CCCGGGCCCTT GTACACACCG CCCGTCACAC CACGAGAGTT TGTAACACCC GAAGTCGGTG GGGTAACCTT TATGGAGCCA GCCGCCTAAG</p>				
<p>CAACAACCCA GAAACCCGCA TGGCGTGCTA TACTGCAGTC GAGCGAATGG ATTGAGAGCT TGCTCTCAGA AGTTAGCGGC GGACGGGTGA GTAACACGTG GGTAACCTGC CCATAAGACT GGGATAACTC CGGGAAACCG GGGCTAATAC CGGATAATAT TTTGAACTGC ATGGTTTCGAA ATTGAAAGGC GGCTTCGGCT GTCACTTATG GATGGACCCG CGTCGCATTA GCTAGTTGGT GAGGTAACGG CTCACCAAG CAACGATGCG TAGCCGACCT GAGAGGGTGA TCGGCCACAC TGGGACTGAG ACACGGCCCA GACTCCTACG GGAGGCAGCA GTAGGGAATC TTCCGCAATG GACGAAAGTC TGACGGAGCA ACGCCGCGTG AGTGATGAAG GCTTTCGGGT CGTAAAACTC TGTTGTTTAGG GAAGAACAAG TGCTAGTTGA ATAAGCTGGC ACCTTGACGG TACCTAACCA GAAAGCCACG GCTAACTACG TGCCAGCAGC CGCGGTAATA CGTAGGTGGC AAGCGTTATC CGGAATTATTT GGGCGTAAAG CGCGCGCAGG TGGTTTCTTA AGTCTGATGT GAAAGCCAC GGCTCAACCG TGGAGGGTCA TTGGAAACTG GGAGACTTGA GTGCAGAAGA GGAAAGTGGA ATTCCATGTG TAGCGGTGAA ATGCGTAGAG ATATGGAGGA ACACCAGTGG CGAAGGCGAC TTTCTGGTCT GTAAC TGACA CTGAGGCGCG AAAGCGTGGG GAGCAAACAG GATTAGATAC CCTGGTAGTC CACGCCGTAA ACGATGAGTG CTAAGTGTTA GAGGGTTTCC GCCCTTTAGT GCTGAAGTTA ACGCATTAAG CACTCCGCCT GGGGAGTACG GCCGCAAGGC TGAAACTCAA AGGAATTGAC GGGGGCCCG ACAAGCGGTG GAGCATGTGG TTTAATTCTGA AGCAACGCGA AGAACCTTAC CAGGTCTTGA CATCCTCTGA AAACCCTAGA GATAGGGCTT CTCCTTCGGG AGCAGAGTGA CAGGTGGTGC ATGGTTGTCG TCAGCTCGTG TCGTGAGATG TTGGGTTAAG TCCC GCAACG AGCGCAACCC TTGATCTTAG TTGCCATCAT TAAGTTGGGC ACTCTAAGGT GACTGCCGGT GACAAACCGG AGGAAGGTGG GGATGACGTC AAATCATCAT GCCCCTTATG ACCTGGGCTA CACACGTGCT ACAATGGACG GTACAAAGAG CTGCAAGACC GCGAGGTGGA GCTAATCTCA TAAAACCGTT CTCAGTTCGG ATTGTAGGCT GCAACTCGCC TACATGAAGC TGGAATCGCT AGTAATCGCG GATCAGCATG CCGCGGTGAA TACGTTCCCG GGCTTGTAC ACACCGCCCG TCACACCAG AGAGTTTGTG ACACCCGAAG TCGGTGGGGT AACCTTTTGG AGCCAGCCGC CTAAGGTGGA CAGATGATTG GGGGAAGTGC AACCAAAGGT GC</p>	<p>MG561363</p>	<p><i>Bacillus 598 toyonensis FORT</i></p>	<p>1492 bp</p>	<p>99</p>

8 – кестенің жалғасы

1	2	3	4	5
<p>TGCAAGTCGA GCGAATGGAT TAAGAGCTTG CTCTTATGAA GTTAGCGGCG GACGGGTGAG TAACACGTGG GTAACCTGCC CATAAGACTG GGATAACTCC GGGAAACCGG GGCTAATACC GGATAACATTT TTGAACTGCA TGGTTCGAAA TTGAAAAGGCG GCTTCGGCTG TCACTTATGG ATGGACCCGC GTCGCATTAG CTAGTTGGTG AGGTAACGGC TCACCAAGGC AACGATGCGT AGCCGACCTG AGAGGGTGAT CGGCCACACT GGGACTGAGA CACGGCCCAG ACTCCTACGG GAGGCAGCAG TAGGGAATCT TCCGCAATGG ACGAAAAGTCT GACGGAGCAA CGCCGCGTGA GTGATGAAGG CTTTCGGGTC GTAAAACCTCT GTTGTTAGGG AAGAACAAGT GCTAGTTGAA TAAGCTGGCA CCTTGACGGT ACCTAACCAG AAAGCCACGG CTAACTACGT GCCAGCAGCC GCGGTAATAC GTAGGTGGCA AGCGTTATCC GGAATTATTG GCGGTAAAGC GCGCGCAGGT GGTTTCTTAA GTCTGATGTG AAAGCCCACG GCTCAACCCT GGAGGGTTCAT TGGAACTGG GAGACTTGAG TGCAGAAGAG GAAAGTGGAA TTCCATGTGT AGCGGTGAAA TCGGTAGAGA TATGGAGGAA CACCAGTGGC GAAGGCGACT TTCTGGTCTG TAACTGACAC TGAGGCGCGA AAGCGTGGGG GAGCAAACAG GATTAGATAC CCTGGTAGTC CACGCCGTAA ACGATGAGTG CTAAGTGTTA GAGGGTTTCC GCCCTTTAGT GCTGAAGTTA ACGCATTAA CACTCCGCCT GGGGAGTACG GCCGCAAGGC TGAAACTCAA AGGAATTGAC GGGGGCCCGC ACAAGCGGTG GAGCATGTGG TTTAATTCGA AGCAACGCGA AGAACCTTAC CAGGTCTTGA CATCCTCTGA AAACCCTAGA GATAGGGCTT CTCCTTCGGG AGCAGAGTGA CAGGTGGTGC ATGGTTGTCTG TCAGCTCGTG TCGTGAGATG TTGGGTAAAG TCCCGCAACG AGCGCAACCC TTGATCTTAG TTGCCATCAT TAAGTTGGGC ACTCTAAGGT GACTGCCGGT GACAAACCGG AGGAAGGTGG GGATGACGTC AAATCATCAT GCCCCTTATG ACCTGGGCTA CACACGTGCT ACAATGGACG GTACAAAGAG CTGCAAGACC GCGAGGTGGA GCTAATCTCA TAAAACCGTT CTCAGTTCGG ATTGTAGGCT GCAACTCGCC TACATGAAGC TGGAATCGCT AGTAATCGCG GATCAGCATG CCGCGGTGAA TACGTTCCCG GGCCTTGATC ACACCGCCCG TCACACCACG AGAGTTTGTA ACACCCGAAG TCGGTGGGGT AACCTTTTTG GAGCCAGCCG CCTAAGGTGG GACAGATGAT TGGGGTGAAG TC</p>	<p>MF446886</p>	<p><i>Bacillus acidiproducens</i> NiuFun</p>	<p>1452 bp</p>	<p>99</p>
<p>GATGAACGCT GGCGGCGTGC CTAATACATG CAAGTCGAGC GAATGGATTG AGAGCTTGCT CTCAAGAAGT TAGCGGCGGA CGGGTGAGTA ACACGTGGGT AACCTGCCCA TAAGACTGGG ATAACTCCGG GAAACCGGGG CTAATACCGG ATAAYATTTT GAACTGCATG GTTCGAAATT GAAAGGCGGC TTCGGCTGTC ACTTATGGAT GGACCCGCGT CGCATTAGCT AGTTGGTGAG GTAACGGCTC ACCAAGGCAA CGATGCGTAG CCGACCTGAG AGGGTGATCG GCCACACTGG GACTGAGACA CGGCCAGAC TCCTACGGGA GGCAGCAGTA GGGAACTTTC CGCAATGGAC</p>	<p>MH169322</p>	<p><i>Bacillus cereus</i> WAB2133</p>	<p>1474 bp</p>	<p>99</p>

8 – кестенің жалғасы

1	2	3	4	5
<p>GAAAGTCTGA CGGAGCAACG CCGCGTGAGT GATGAAGGCT TTCGGGTCGT AAAACTCTGT TGTTAGGGAA GAACAAGTGC TAGTTGAATA AGCTGGCACC TTGACGGTAC CTAACCAGAA AGCCACGGCT AACTACGTGC CAGCAGCCGC GGTAATACGT AGGTGGCAAG CGTTATCCGG AATTATTTGGG CGTAAAGCGC GCGCAGGTGG TTTCTTAAGT CTGATGTGAA AGCCACGGC TCAACCGTGG AGGGTCATTG GAAACTGGGA GACTTGAGTG CAGAAGAGGA AAGTGGAAAT CCATGTGTAG CCGTGAATG CGTAGAGATA TGGAGGAACA CCAGTGGCGA AGGCGACTTT CTGGTCTGTA ACTGACACTG AGGCGCGAAA GCGTGGGGAG CAAACAGGAT TAGATACCCT GGTAGTCCAC GCCGTAAACG ATGAGTGCTA AGTGTTAGAG GGTTCGCGCC CTTTAGTGCT GAAGTTAACG CATTAAAGCAC TCCGCCTGGG GAGTACGGCC GCAAGGCTGA AACTCAAAGG AATTGACGGG GGCCCGCACA AGCGGTGGAG CATGTGGTTT AATTCGAAGC AACGCGAAGA ACCTTACCAG GTCTTGACAT CCTCTGAAAA CCCTAGAGAT AGGGCTTCTC CTTCGGGAGC AGAGTGACAG GTGGTGCATG GTTGTCTGCA GCTCGTGTG TGAGATGTTG GGTTAAGTCC CGCAACGAGC GCAACCCCTG ATCTTAGTTG CCATCATTAA GTTGGGCACT CTAAGGTGAC TGCCGGTGAC AAACCGGAGG AAGGTGGGGA TGACGTCAAA TCATCATGCC CCTTATGACC TGGGCTACAC ACGTGTACA ATGGACGGTA CAAAGAGCTG CAAGACCGCG AGGTGGAGCT AATCTCATAA AACCCTTCTC AGTTCGGATT GTAGGCTGCA ACTCGCTAC ATGAAGCTGG AATCGCTAGT AATCGCGGAT CAGCATGCCG CCGTGAATAC GTTCCCGGGC CTTGTACACA CCGCCCGTCA CACCACGAGA GTTTGTAAACA CCCGAAGTCG GTGGGGTAAAC CTTTATGGAG CCAGCCGCCT AAGGTGGGAC AGATGATTGG GGTG</p>				
<p>CATGCGGCGT CTATACATGC AGTCGAGCGG ACAGAAGGGA GCTTGCTCCC GGATGTTAGC GGCGGACGGG TGAGTAACAC GTGGGTAACC TGCCGTGAAG ACTGGGATAA CTCCGGGAAA CCGGAGCTAA TACCGGATAG TTCCTTGAAC CGCATGGTTC AAGGATGAAA GACGGTTTCG GCTGTCACTT ACAGATGGAC CCGCGGCGCA TTAGCTAGTT GGTGGGGTAA TGGCTACCA AGGCGACGAT GCGTAGCCGA CCTGAGAGGG TGATCGGCCA CACTGGGACT GAGACACGGC CCAGACTCCT ACGGGAGGCA GCAGTAGGGA ATCTTCCGCA ATGGACGAAA GTCTGACGGA GCAACGCCGC GTGAGTGATG AAGGTTTTTCG GATCGTAAAG CTCTGTTGTT AGGGAAGAAC AAGTGCGAGA GTAAC TGCTC GCACCTTGAC GGTACCTAAC CAGAAAGCCA CGGCTAACTA CGTGCCAGCA GCCGCGGTAA TACGTAGGTG GCAAGCGTTG TCCGGAATTA TTGGGCGTAA GGGCTCGCAG GCGGTTTCTT AAGTCTGATG TGAAAGCCCC CGGCTCAACC GGGGAGGGTC ATTGGAAACT GGGAAACTTG AGTGCAGAAG AGGAGAGTGG AATTCACCGT GTAGCGGTGA AATGCGTAGA GATGTGGAGG AACACCAGTG GCGAAGGCCA CTCTCTGGTC TGTAAC TGAC</p>	<p>JX849661</p>	<p><i>Bacillus safensis</i> AS-08</p>	<p>1449 bp</p>	<p>99</p>

8- Кестенің жалғасы

1	2	3	4	5
<p>GCTGAGGAGC GAAAGCGTGG GGAGCGAACA GGATTAGATA CCCTGGTAGT CCACGCCGTA AACGATGAGT GCTAAGTGTT AGGGGGTTTC CGCCCCTTAG TGCTGCAGCT AACGCATTAA GCACTCCGCC TGGGGAGTAC GGTCGCAAGA CTGAAACTCA AAGGAATTGA CGGGGGCCCG CACAAGCGGT GGAGCATGTG GTTTAATTCG AAGCAACGCG AAGAACCTTA CCAGGTCTTG ACATCCTCTG ACAACCCTAG AGATAGGGCT TTCCCTTCGG GGACAGAGTG ACAGGTGGTG CATGGTTGTC GTCAGCTCGT GTCGTGAGAT GTTGGGTAA GTCCCGCAAC GAGCGCAACC CTTGATCTTA GTTGCCAGCA TTCAGTTGGG CACTCTAAGG TGACTGCCGG TGACAAACCG GAGGAAGGTG GGGATGACGT CAAATCATCA TGCCCCTTAT GACCTGGGCT ACACACGTGC TACAATGGAC ACAAACACAG GGCTGCACCA CCGCATGGCT TAGCCAATCG CATAAATCTG TTCTCAGTTC GGATCGCAGT CTGCAACTCG ACTGCGTGAA GCTGGAATCG CTAGTAATCG CGGATCAGCA TGCCGCGGTG AATACGTTCC CGGGCCTTGT ACACACCGCC CGTCACACCA CGAGAGTTTG CAACACCCGA AGTCGGTGAG GTAACCTTTA TGGAGCCAGC CGCCGAAGGT GGCAGTGGG</p>				

3.2 *Bacillus spp.* штаммдарының патогенді және шартты патогенді штаммдарға қарсы антагонистік белсенділігін анықтау

Bacillus spp. штаммдарының патогенді және шартты патогенді штаммдарға қарсы антагонистік белсенділігі Гданьск Медициналық университетінің, фармацевтикалық микробиология кафедрасында жүргізілді.

Bacillus subtilis O-3 (BSS11), *Bacillus subtilis* Md1-42 (BSS17), *Bacillus subtilis* Khozestan2 (BSS19), *Bacillus thuringiensis* F3 (BSS25), *Bacillus toyonensis* FORT 102 (BSS21), *Bacillus acidiproducens* NiuFun (BSS16), *Bacillus cereus* WAB2133 (BSS13), *Bacillus safensis* AS-08 (BSS12) бактериялық изоляттарының антагонистік белсенділігі екі әдіспен жүргізілді:

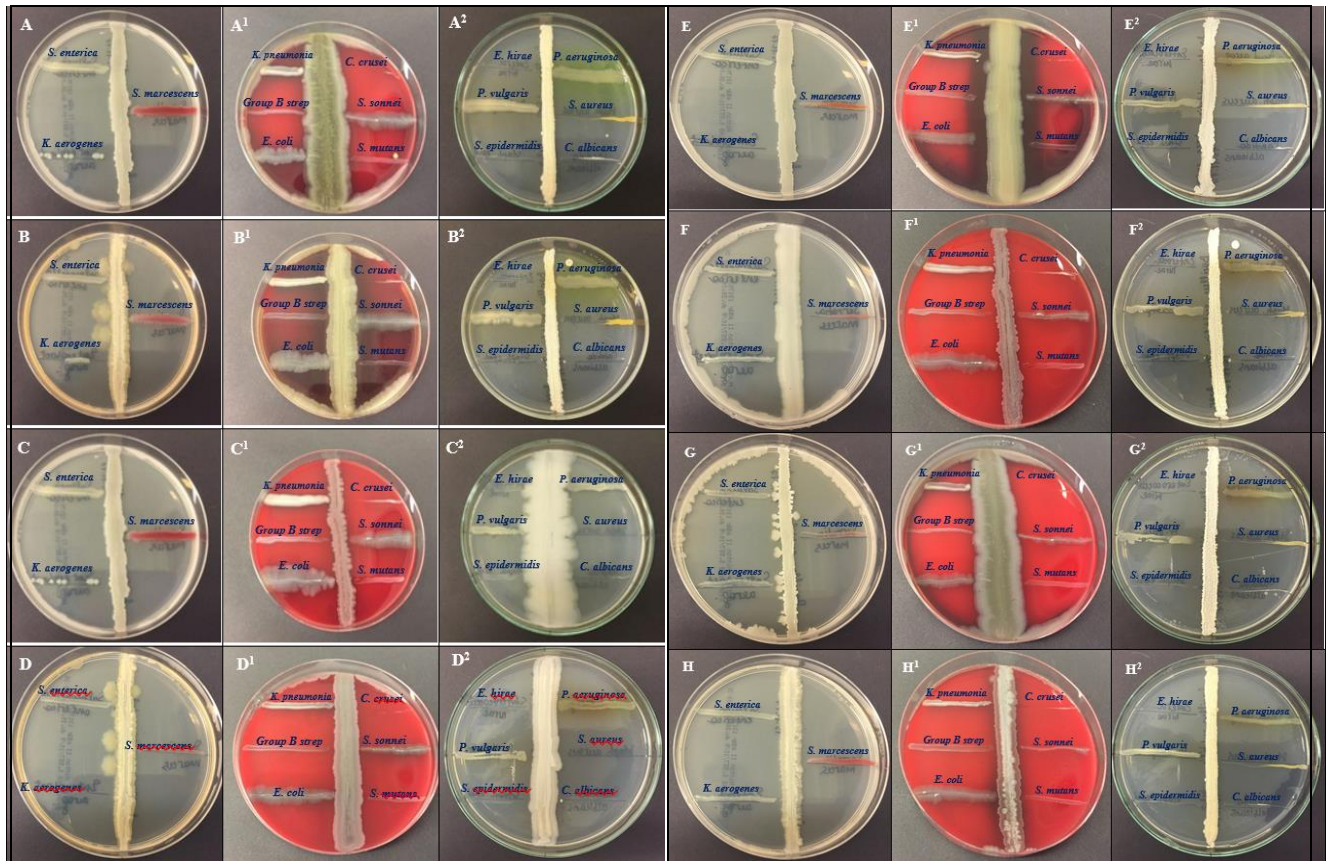
- перпендикулярлы штрих
- агардағы диффузия әдісі.

Зерттеуге эталондық тест штаммдары қолданылды: *Salmonella enterica* ATCC 35664, *Klebsiella aerogenes* ATCC 13048, *Serratia marcescens* ATCC 13880, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Streptococcus group B*, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Candida krusei* ATCC 14243, *Shigella sonnei* ATCC 25931, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Enterococcus hirae* ATCC 10541, *Proteus Vulgaris* ATCC 6380, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 және *Candida albicans* ATCC 2091.

Келесі қоректік орталарда жүргізілді: Мюллер-Хинтон агары (HiMedia, Индия), Эндо агары.

Зерттеу нәтижелері бойынша *Bacillus spp.* штаммдары *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Klebsiella aerogenes* ATCC 13048, *Streptococcus mutans* ATCC 25175 және ашытқы саңырауқұлақтарының екі анықтамалық түріне *Candida albicans* ATCC 2091, *Candida krusei* ATCC 14243 жоғары антагонистік белсенділік көрсетті.

Bacillus spp. штаммдарының перпендикулярлы штрих әдісімен анықталған антагонистік белсенділігі 10-суретте көрсетілген.



Сурет 10 – *Bacillus* түрі бактерияларының патогенді бактерияларға қарсы антагонистік әсері

Антагонистік әсерін келесі патогенді бактерияларға қарсы тексерілді: *Salmonella enterica* ATCC 35664, *Serratia marcescens* ATCC 13880, *Klebsiella aerogenes* ATCC 13048, *Candida krusei* ATCC 14243, *Shigella sonnei* ATCC 25931, *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Streptococcus B* тобының, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Candida albicans* ATCC 2091, *Enterococcus hirae* ATCC 10541, *Proteus vulgaris* ATCC 6380 және *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228. (A–A²) – BSS11, (B–B²) – BSS17, (C–C²) – BSS19, (D–D²) – BSS25, (E–E²) – BSS21, (F–F²) – BSS16, (G–G²) – BSS13 және (H–H²) – BSS12

Bacillus spp. штаммдарының антагонистік әсері агардағы диффузия әдісімен де анықталды.

Bacillus thuringiensis F3 (BSS25), *Bacillus toyonensis* FORT 102 (BSS21), *Bacillus acidiproducens* NiuFun (BSS16), *Bacillus cereus* WAB2133 (BSS13), *Bacillus safensis* AS-08 (BSS12) штаммдарының агардағы диффузия әдісі бойынша антагонистік әсері жоғарыда көрсетілген тест штаммдарына

жүргізілді және салыстырмалы бақылау препараты ретінде стрептомицин антиотиі алынды. Нәтижелері 9 - кестеде көрсетілген.

Кесте 9 - *Bacillus spp.* штаммдарының агардағы диффузия әдісімен анықталған антагонистік белсенділігінің нәтижелері

Тест штаммдары	BSS25	BSS21	BSS16	BSS13	BSS12	Бақылау препараты (Стрептомицин)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	35 ± 1.27	9 ± 1.53 *	23 ± 0.50 *	20 ± 2.50 *	20 ± 1.54	24 ± 0.33 ***
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	37 ± 1.47	36 ± 1.27	38 ± 1.27	37 ± 1.07	35 ± 1.47	22 ± 0.33 ***
<i>Streptococcus group B</i>	18 ± 1.56 *	19 ± 1.31 *	19 ± 1.23 *	18 ± 1.56 *	17 ± 1.39 *	17 ± 0.33 ***
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	20 ± 1.47 *	19 ± 1.27 *	23 ± 1.33	20 ± 1.33	20 ± 1.37 *	19 ± 0.33 ***
<i>Candida albicans</i> ATCC 2091	36 ± 1.43	38 ± 1.21	38 ± 1.27	35 ± 1.26	34 ± 1.22	31 ± 0.33 ***
<i>Candida krusei</i> ATCC 14243	37 ± 1.41	36 ± 1.28	8 ± 1.38 *	36 ± 1027	13 ± 1.27 *	30 ± 0.33 ***
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	18 ± 0.53 *	17 ± 1.27 *	17 ± 0.33 *	17 ± 1.10 *	16 ± 1.33 *	15 ± 0.33 ***
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	20 ± 1.27 *	33 ± 1.37 *	21 ± 1.57 *	21 ± 1.37 *	21 ± 1.06 *	19 ± 0.33 ***
<i>Klebsiella pneumonia</i> ATCC 13883	9 ± 1.53 *	9 ± 1.27 *	8 ± 1.27 *	8 ± 1.37 *	8 ± 1.37 *	12 ± 0.33 ***
<i>Salmonella enterica</i> ATCC 35664	17 ± 1.36 *	15 ± 1.25 *	18 ± 1.27 *	15 ± 1.27 *	17 ± 1.27 *	19 ± 0.33 ***
<i>Klebsiella aerogenes</i> ATCC 13048	37 ± 1.27	36 ± 1.37	32 ± 1.33 *	35 ± 0.63 *	33 ± 1.33 *	23 ± 0.33 ***
<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 10541	37 ± 1.25	38 ± 1.27	38 ± 1.27	39 ± 1.27	38 ± 1.27	22 ± 0.33 ***
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	17 ± 1.37 *	16 ± 1.07 *	19 ± 1.44 *	18 ± 1.33 *	20 ± 1.08 *	16 ± 0.33 ***
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	27 ± 0.56 *	29 ± 1.36 *	25 ± 1.32 *	28 ± 0.53 *	27 ± 1.53 *	22 ± 0.33 ***
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 6380	20 ± 0.31 *	19 ± 1.31 *	21 ± 1.33 *	20 ± 1.23 *	21 ± 0.33 *	22 ± 0.33 ***

* Деректер орташа ± SE (n = 3) ретінде берілген. Бірдей үстіңгі таңбалары бар мәндер статистикалық түрде ерекшеленбейді. Маңыздылық деңгейі * < ***.

Bacillus spp. штаммдары *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 және *Enterococcus hirae* ATCC 10541 және басқа да барлық патогенді штаммдарға қарсы антагонистік белсенділікті көрсетті. *Bacillus thuringiensis* штаммы F3 (BSS25) *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 (35 ± 1,27 мм), *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 (37 ± 1,47 мм), *Candida albicans* ATCC 2091 (36 ± 1,43

мм), *Candida krusei* ATCC 14243 ($37 \pm 1,41$ мм), *Klebsiella aerogenes* ATCC 13048 ($37 \pm 1,27$ мм) және *Enterococcus hirae* ATCC 10541 ($37 \pm 1,25$ мм). Сонымен қатар, жоғары белсенділік көрсеткен *Bacillus toyonensis* FORT 102 (BSS21) штаммының нәтижелері: *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ($36 \pm 1,27$), *Candida albicans* ATCC 2091 ($38 \pm 1,21$ мм), *Candida krusei* ATCC 14243 ($36 \pm 1,28$ мм) *Klebsiella aerogenes* ATCC 13048 ($36 \pm 1,37$ мм) және *Enterococcus hirae* ATCC 10541 ($38 \pm 1,27$ мм).

Bacillus subtilis O-3 (BSS11), *Bacillus subtilis* Md1-42 (BSS17), *Bacillus subtilis* Khozestan2 (BSS19) штаммдарының агардағы диффузия әдісі бойынша антагонистік әсері анықталды.

Bacillus subtilis O-3 (BSS11), *Bacillus subtilis* Md1-42 (BSS17), *Bacillus subtilis* Khozestan2 (BSS19) штаммдарының агардағы диффузия әдісі бойынша антагонистік әсері жоғарыда көрсетілген тест штаммдарына жүргізілді және салыстырмалы бақылау препараты ретінде стрептомицин антибиотигі алынды және зерттеу нәтижелері 10 - кестеде көрсетілген.

BSS11, BSS17, BSS19 изоляттарынан алынған тоғыз сығынды *Shigella sonnei* ATCC 25931, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Salmonella enterica* ATCC 35664 и *Enterococcus hirae* ATCC 10541 басқа да патогенді штаммдарға қарсы антагонистік белсенділік көрсетті. Сонымен қатар, *Bacillus subtilis* Kzestan2 (BSS19) ЕАЕ (С), ЕАЕ (ВС) және ЕАЕ (СК) сияқты үш сығындысы да бактерияға қарсы белсенділікті көрсетті. ЕАЕ (SA) *Bacillus subtilis* O-3 (BSS11) штаммы *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 ($25 \pm 1,20$ мм), *Streptococcus* В тобының ($19 \pm 1,20$ мм), *Candida krusei* ATCC 14243 ($29 \pm 2,35$ мм), *Klebsiella aerogenes* ATCC 13048 ($17 \pm 1,82$ мм) және *Proteus Vulgaris* ATCC 6380 ($18 \pm 1,34$ мм) тест штаммдарына ең жақсы тежелу аймағын көрсетті және ЕАЕ (SC) *Bacillus subtilis* Md1-42 (BSS17) *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ($30 \pm 2,50$ мм), *Serratia marcescens* ATCC 13880 ($18 \pm 1,64$ мм) бактерияларына қарсы жоғары белсенділік көрсетті. Сонымен қатар, ЕАЕ (SA) *Bacillus subtilis* Kzestan2 (BSS19) препараты *Streptococcus mutans* ATCC 25175 ($20 \pm 1,32$ мм), *Candida albicans* ATCC 2091 ($40 \pm 1,22$ мм) және *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 ($40 \pm 1,22$ мм) тест штаммдарына қарсы тиімді болып шықты. Зерттеу нәтижелері бойынша, *Escherichia coli* ATCC 25922 штаммына қарсы *Bacillus subtilis* Md1-42 (BSS17) және *Bacillus subtilis* Kzestan2 (BSS19) ЕАЕ (SA) бірдей белсенділік көрсетті.

Кесте 10 - *Bacillus spp.* штаммдарының патогенді штамдарға қарсы антагонистік әсері

Тест штаммдар	BSS11 (C), mm	BSS11 (BC), mm	BSS11 (SC), mm	BSS17 (C), mm	BSS17 (BC), mm	BSS17 (SC), mm	BSS19 (C), mm	BSS19 (BC), mm	BSS19 (SC), mm	Бақылау препараты (Стрептомицин)
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213	19 ± 1.33 *	21 ± 1.33 *	25 ± 1.53 *	22 ± 0.50 *	26 ± 0.44 *	30 ± 2.50 *	22 ± 1.55	26 ± 1.24	29 ± 1.54	29 ± 0.33 ***
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	18 ± 1.20 *	20 ± 1.33 *	25 ± 1.20 *	19 ± 1.00	20 ± 1.26	22 ± 1.50	18 ± 1.42 *	18 ± 1.44 *	19 ± 1.54 *	22 ± 0.33 ***
<i>Streptococcus group B</i>	16 ± 1.20	15 ± 1.00	19 ± 1.20	13 ± 1.16 *	15 ± 1.14 *	17 ± 1.15 *	15 ± 1.33 *	14 ± 1.17 *	16 ± 1.33 *	22 ± 0.33 ***
<i>Streptococcus mutans</i> ATCC 25175	16 ± 1.22 *	17 ± 1.22 *	17 ± 1.82 *	14 ± 1.33	16 ± 1.33	19 ± 1.33	18 ± 0.31 *	19 ± 1.00 *	20 ± 1.32 *	16 ± 0.33 ***
<i>Candida albicans</i> ATCC 2091	27 ± 2.00 *	25 ± 1.50 *	30 ± 2.50 *	29 ± 1.00	31 ± 1.22	35 ± 1.26	38 ± 1.49	35 ± 1.62	40 ± 1.22	39 ± 0.33 ***
<i>Candida krusei</i> ATCC 14243	25 ± 2.33 *	27 ± 2.33 *	29 ± 2.35 *	23 ± 1.38	25 ± 0.33	25 ± 1.34	23 ± 2.00 *	26 ± 1.66 *	27 ± 2.00 *	35 ± 0.33 ***
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	14 ± 1.22	17 ± 0.33	17 ± 1.51	13 ± 0.44	12 ± 1.44	13 ± 1.10	20 ± 1.27 *	20 ± 1.53 *	22 ± 1.81 *	23 ± 0.33 ***
<i>Shigella sonnei</i> ATCC 25931	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19 ± 0.33 ***
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	0	0	0	0	0	0	0	0	0	15 ± 0.33 ***
<i>Salmonella enterica</i> ATCC 35664	0	0	0	0	0	0	0	0	0	19 ± 0.33 ***
<i>Klebsiella aerogenes</i> ATCC 13048	14 ± 1.82 *	17 ± 1.57 *	17 ± 1.82 *	9 ± 1.33 *	12 ± 1.22 *	13 ± 1.63 *	16 ± 0.53 *	13 ± 1.53 *	16 ± 1.53 *	17 ± 0.33 ***
<i>Enterococcus hirae</i> ATCC 10541	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20 ± 0.33 ***
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	18 ± 1.22 *	19 ± 1.57 *	20 ± 1.24 *	22 ± 1.44 *	20 ± 1.31 *	22 ± 1.54 *	19 ± 0.49	22 ± 0.46	22 ± 1.17	23 ± 0.33 ***
<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	13 ± 1.22 *	15 ± 0.33 *	15 ± 1.56 *	17 ± 1.22	18 ± 1.55	18 ± 1.64	0	0	0	24 ± 0.33 ***
<i>Proteus Vulgaris</i> ATCC 6380	17 ± 1.33 *	16 ± 0.33 *	18 ± 1.34 *	11 ± 1.33 *	11 ± 1.54 *	13 ± 1.53 *	0	0	0	22 ± 0.33 ***

* Деректер орташа ± SE (n = 3) ретінде берілген. Бірдей үстіңгі таңбалары бар мәндер статистикалық түрде ерекшеленбейді. Маңыздылық деңгейі * < ** < ***.

3.3 *Bacillus spp.* штамдарының антибиотиктерге төзімділігін анықтау

Диск диффузиясы әдісін қолдана отырып, *Bacillus spp.* штамдарының антибиотиктерге сезімталдығы Еуропалық комитеттің нұсқауларына сәйкес бағаланды. Бацилла штамдары 10^6 КТБ/мл концентрациясында (0,5 МакФарланд, Himedia, Үндістан) 1 мл стерильді ілмектердің көмегімен Мюллер-Хинтон агарына егілді және табақшалар бір сағатқа кептіруге қалдырылды. Содан кейін *Bacillus spp.* штамдары бар агар табақшаларына антибиотиктері бар дискілер енгізілді. 37°C температурада 24 сағаттық инкубациялық кезеңнен кейін антибиотикалық дискілерді қоршап тұрған тежелу аймақтарының өлшемі электронды сандық штангенциркуль-микрометр (ZHHRHC LCD, Hardened, Китай) көмегімен өлшенді. Бұл CLSI нұсқауларына сәйкес штаммның антибиотиктерге сезімталдығын (S), аралық төзімділікті (I) немесе төзімділікті (R) анықтауға мүмкіндік берді. Антибиотик сіңірілген келесі индикаторлы дискілер қолданылды:

- пенициллин G (PEN, 10 мкг/диск);
- ампициллин (AMP, 10 мкг/диск);
- амоксициллин (АМОХ, 30 мкг/диск);
- амоксициллин-клавулан қышқылы (АМС, 30 мкг/диск);
- карбенициллин (CAR, 100 мкг/диск);
- клоксациллин (СХ, 5 мкг/диск);
- эритромицин (ЕРО, 15 мкг/диск);
- азитромицин (AZM, 15 мкг/диск);
- цефепим (FEP, 30 мкг/диск);
- цефепим/клавулановая кислота (FEC-40 мкг/диск);
- цефалатин (KF, 30 мкг/диск);
- цефотаксим (СТХ, 30 мкг/диск);
- гентамицин (CN, 120 мкг/диск);
- стрептомицин (STR, 10 мкг/диск);
- тобрамицин (ТОВ, 10 мкг/диск);
- тетрациклин (ТЕТ, 30 мкг/диск);
- полимиксин (РВ, 300 БР/диск);
- бацитромицин (В, 10 мкг/диск).

Кесте 11 - *Bacillus* штаммдарының антибиотиктерге қарсы төзімділігі

Антибиотиктердің атауы (АВ, µg)	<i>Bacillus</i> штаммдары															
	BSS11		BSS17		BSS19		BSS25		BSS21		BSS16		BSS13		BSS12	
	Диаметр (мм)	S/R	Диаметр (мм)	S/R	Диаметр (мм)	S/R	Диаметр (мм)	S/R	Диаметр (мм)	S/R	Диаметр (мм)	S/R	Диаметр (мм)	S/R	Диаметр (мм)	S/R
Penicillins																
Penicillin G (PEN, 10)	30 ± 0.98 ^{bc}	S	24 ± 0.56 ^{ab}	S	23 ± 0.29 ^a	S	35 ± 0,14	S	0 ± 0,00 ^b	R	34 ± 0,48	S	22 ± 1,43	S	22 ± 1,43	S
Ampicillin (AMP, 10)	30 ± 1.43 ^{ab}	S	27 ± 1.34 ^{ab}	S	27 ± 0.38 ^a	S	30 ± 0,21	S	0 ± 0,00 ^b	R	36 ± 0,36	S	32 ± 0,98	S	32 ± 0,98	S
Амохоциллин (АМОХ, 30)	32 ± 0.98 ^{abc}	S	30 ± 1.30 ^{abc}	S	12 ± 0.29 ^{ab}	S	40 ± 0,21	S	12 ± 0,38	R	38 ± 0,41	S	35 ± 1,81	S	35 ± 1,81	S
Амохоциллин-клавуланат (АМС, 30)	28 ± 1.05 ^{bcd}	S	23 ± 0.33 ^{abc}	S	0 ± 0.00 ^b	S	35 ± 0,98	S	15 ± 1,05	R	36 ± 0,98	S	30 ± 1,45	S	30 ± 1,45	S
Carbenicillin (CAR, 100)	38 ± 0.28 ^{abc}	S	28 ± 0.35 ^{ab}	S	10 ± 0.28 ^{abc}	S	35 ± 0,32	S	0 ± 0,00 ^b	R	40 ± 0,56	S	35 ± 1,43	S	35 ± 1,43	S
Cloxacillin (CX, 5)	0 ± 0.00 ^b	R	0 ± 0.00 ^b	R	0 ± 0.00 ^b	R	26 ± 0,24	S	25 ± 0,36	S	24 ± 0,21	S	14 ± 0,23	R	30 ± 1,32	S
Macrolides																
Erythromycin (ERO, 15)	35 ± 0.31 ^{ab}	S	32 ± 1.41 ^{abc}	S	30 ± 0.23 ^a	S	30 ± 0,21	S	20 ± 0,11	S	40 ± 0,39	S	40 ± 0,28	S	30 ± 0,21	S
Azithromycin (AZM, 15)	36 ± 0.28 ^a	S	35 ± 1.43 ^{ab}	S	27 ± 1.33 ^{ab}	S	30 ± 0,22	S	18 ± 0,18	R	35 ± 0,59	S	37 ± 1,52	S	30 ± 0,22	S
Cephalosporins																
Cefepime (FEP, 30)	35 ± 0.51 ^{ab}	S	25 ± 0.57 ^a	S	38 ± 0.86 ^{ab}	S	0 ± 0,00 ^b	R	0 ± 0,00 ^b	R	30 ± 0,36	S	20 ± 1,43	S	20 ± 1,43	S
Cefepime/clavulanic acid FEC-40	36 ± 0.98 ^a	S	30 ± 0.36 ^a	S	39 ± 0.67 ^a	S	0 ± 0,00 ^b	R	0 ± 0,00 ^b	R	33 ± 0,28	S	26 ± 0,23	S	26 ± 0,23	S
Cephalatin (KF, 30)	32 ± 0.33 ^{ab}	S	40 ± 0.37 ^{ab}	S	26 ± 1.32 ^{abc}	S	24 ± 0,21	S	20 ± 0,35	S	0 ± 0,00 ^b	R	25 ± 0,98	S	25 ± 0,98	S
Cefotaxime (CTX, 30)	26 ± 0.98 ^a	S	40 ± 0.52 ^a	S	24 ± 0.98 ^{ab}	S	14 ± 0,23	R	28 ± 0,11	S	25 ± 0,28	S	35 ± 1,29	S	35 ± 1,29	S
Aminoglycosides																
Gentamicin (CN, 120)	40 ± 0.28 ^{ab}	S	40 ± 0.27 ^{ab}	S	38 ± 0.28 ^{ab}	S	40 ± 0,56	S	34 ± 0,36	S	42 ± 1,18	S	40 ± 0,56	S	34 ± 0,36	S
Streptomycin (STR, 10)	26 ± 0.19 ^{ab}	S	25 ± 0.48 ^{ab}	S	22 ± 0.20 ^{ab}	S	23 ± 0,36	S	25 ± 0,31	S	28 ± 1,41	S	23 ± 1,41	S	25 ± 0,31	S
Tobramycin (TOB, 10)	33 ± 0.98 ^a	S	39 ± 1.18 ^a	S	22 ± 0.23 ^{abc}	S	32 ± 0,32	S	25 ± 0,31	S	34 ± 1,18	S	35 ± 0,98	S	35 ± 1,29	S
Tetracyclines																
Tetracycline (TET, 30)	35 ± 0.28 ^a	S	30 ± 0.33 ^a	S	20 ± 1.18 ^{ab}	S	30 ± 0,52	S	26 ± 0,15	S	36 ± 1,43	S	30 ± 0,23	S	30 ± 0,52	S
Polypeptides																
Polymyxin (PB, 300)	0 ± 0.00 ^b	R	0 ± 0.00 ^b	R	0 ± 0.00 ^b	R	14 ± 0,28	R	0 ± 0,00 ^b	R	12 ± 1,49	R	14 ± 0,23	R	0 ± 0,00 ^b	R
Bacitromycin (B, 10)	0 ± 0.00 ^b	R	0 ± 0.00 ^b	R	0 ± 0.00 ^b	R	0 ± 0,00 ^b	R	0 ± 0,00 ^b	R	0 ± 0,00 ^b	R	0 ± 0,00 ^b	R	0 ± 0,00 ^b	R

Нейттанп-Кейлс сынағы жолдағы және бағандағы әр түрлі үстіңгі әріптерден әсер ететін орташа мәндер 5% деңгейінде айтарлықтай ерекшеленетінін көрсетеді. Мәндер – орташа ± стандартты қателік; легенда: D = өлішем, S/R = сезімтал/төзімді.

Bacillus spp. штаммдарының антибиотиктерге сезімталдылығын анықтау барысында сыналған барлық үлгілер бацитромицин (В, 10), полимиксин (РВ, 300) және клоксациллиннен (СХ, 5) басқа барлық антибиотиктерге төзімді екенін көрсетті. BSS11, BSS17 және BSS19 штаммдары сезімталдық диаметрі сәйкесінше $40 \pm 0,28$ мм, $40 \pm 0,28$ мм және $38 \pm 0,28$ мм болатын гентамицинге (СН, 120) ең жоғары сезімталдықты көрсетті, ал BSS17 карбенициллинге ($10 \pm 0,28$) және амоксициллинге ($12 \pm 0,29$) жоғары маңызды айырмашылықтармен ($p < 0,0001$) ең төмен сезімталдықты көрсетті.

BSS12, BSS13, BSS16, BSS21 және BSS25 штаммдары сезімталдық диаметрі сәйкесінше $34 \pm 0,36$ мм, $40 \pm 0,56$ мм, $42 \pm 1,18$ мм, $34 \pm 0,36$ мм және $40 \pm 0,56$ мм, болатын гентамицинге (СН, 120) ең үлкен сезімталдықты көрсетті.

3.4 Газды хромато-масс-спектрометрлік әдісімен *Bacillus spp.* штаммдарының құрамын зерттеу

Үлгілер GC/MS 7890A/5975C масс-спектрометриялық детекторы бар газ хроматографиясы әдісімен талданды (Agilent, АҚШ). *Bacillus spp.* штаммдарының метаболиттерінің талдау ағынның бөлінуінсіз, үлгіні енгізу температурасы $250\text{ }^{\circ}\text{C}$, ҚР МФ әдісімен жүргізілді. Бөлу ұзындығы 30 м, ішкі диаметрі 0,25 мм және пленка қалыңдығы 0,25 мкм DB-WaxExt хроматографиялық капиллярлық бағанының көмегімен тұрақты тасымалдаушы газ жылдамдығымен (гелий) 1 мл/мин жүргізілді. Хроматографиялау температурасы $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ -тан $10\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{мин}$ қыздыру жылдамдығымен $270\text{ }^{\circ}\text{C}$ -қа дейін (ұсталу уақыты 15 мин) бағдарламаланады. Талдау уақыты 38 минут. Детектирлеу SCAN m/z 34-750 режимінде жүргізілді. Газ хроматография жүйесін басқару, алынған нәтижелер мен деректерді тіркеу және өңдеу үшін Agilent MSD ChemStation (1701EA нұсқасы) бағдарламалық жасақтамасы қолданылды. Деректерді өңдеу ұстау уақытын, шыңдардың аудандарын анықтауды, сондай-ақ масс-спектрометриялық детектор арқылы алынған спектрлік ақпаратты өңдеуді қамтыды. Алынған масс-спектрлерді декодтау үшін Wiley 7th edition және NIST'02 кітапханалары пайдаланылды (кітапханалардағы спектрлердің жалпы саны – 550 мыңнан астам).

ГХ-МС талдауының нәтижелері бойынша, *Bacillus* бактерияларының сығындыларында әртүрлі қосылыстар анықталды. 12-19 кестелердегі ГХ-МС талдауына ұшыраған сығындыларда анықталған ең маңызды және көптеген компоненттерді, сондай-ақ осы зерттеуде табылған химиялық қосылыстардың басқа әдебиет көздерінде анықталғаны туралы шолу жүргізілді. Бұл қосылыстар әртүрлі организмдердің табиғи өнімдеріне ұқсастық көрсетті, мысалы, бактериялық, өсімдік және саңырауқұлақ текті. ГХ-МС деректерін зерттеу негізінде олардың көпшілігі алкалоидтар, күрделі эфирлер, эфирлер және

фенолды қосылыстар сияқты ұшпа заттардан алынады. Күрделі эфирлер мен эфирлерден басқа, *Bacillus* бактерияларының құрамында спирттер, кетондар, май қышқылдары және хош иісті қосылыстар сияқты әртүрлі кластарға жататын ұшпа қосылыстар түзетіні анықталды.

Көптеген ғылыми жұмыстарға сүйенетін болсақ анықталған қосылыстардың бірқатары антибактериалды, антиоксидантты, вирусқа қарсы, бактерияға қарсы, зенге қарсы, антиоксидант, ісікке қарсы, қабынуға қарсы, гиперлипидемиялық, микробқа қарсы, антиноцицептивтік, анальгетикалық, анксиолитикалық, антидепрессивті, нейропротекторлық қасиеттерге ие екендегі белгілілі және зерттеу нәтижелерімен салыстыра отырып дәлелдеуге болады. ГХ-МС бұл биологиялық үлгілердегі әртүрлі қосылыстарды, соның ішінде микроб жасушаларының метаболиттерін анықтау үшін кеңінен қолданылатын аналитикалық әдіс, бұл зерттеуде микроб жасушаларының компоненттері және май қышқылдары, альдегидтер сияқты метаболиттерді анықтауға таптырмас құрал екендігі дәлелденді. Ацетоин, сірке қышқылы, бутан қышқылы, 2-метил-, оксим-, метокси-фенил, фенол, 1,2-бензолдикарбон қышқылы, бис(2-метилпропил) эфирі, және гексадекан қышқылы сияқты биологиялық белсенді қосылыстар барлық сегіз штаммға ортақ екені анықталды. Сегіз изоляттың этилацетаты сығындыларының ГХ-МС талдауы бойынша ұшпа қосылыстар анықталды анықтады. Бактериялық изоляттарды талдау негізінде BSS19 бактериялық изолятына қарағанда, BSS11 және BSS17 бактериялық изоляттарының құрамында ұшқыш органикалық ұқсас компоненттердің жоғары екендігі белгілі болды. BSS11 бактерия изолятының этилацетат сығындысында 36 қосылыс анықталды (11-кесте). BSS11 сығындысында маңызды концентрациясы бар фенол (4,24%), бензой қышқылы (0,94%), фенол, 2,4-бис(1,1-диметилетил (1,24%), 1,2-бензолдикарбон қышқылы (2,28%), метокси-фенил-оксим (2,00%) және бензалдегид (7,15%) (11-кесте) анықталды. Экстракттыда негізгі қосылыстар ацетамид (11,58%) және 2-бутанон (9,68%) болды, ал кіші қосылыстар май қышқылдары және олардың туындылары болды. BSS17 этилацетатты сығындысында 39 қосылыстың (12-кесте), BSS19 этилацетатты сығындысында 32 қосылыстың бар екенін көрсетті. BSS17 және BSS19 этилацетатты сығындыларының ГХ-МС талдауы бойынша бірдей ұшпа органикалық қосылыстардың болуын растады, бірақ BSS11-мен салыстырғанда аз мөлшерде анықталды. Кейбір май қышқылдары (октан қышқылы, нан қышқылы, гексадекан қышқылы, октадекан қышқылы, олеин қышқылы және 9,12-октадекан қышқылы (z,z)) BSS11 және BSS17 этилацетаты сығындыларының құрамында болғанымен, BSS19 этилацетаты сығындысында анықталмады. BSS25 бактерия штаммының этилацетаты сығындысында 33 қосылыс анықталды. BSS25 сығындысында ацетоин, бензалдегид, 3(2H)-тиофенон, дигидро-2-метил-, пропан қышқылы, 2-метил- және олеин қышқылы маңызды концентрацияларда 8,44%, 4,75%, 6,07% және 6,07% тиісінше

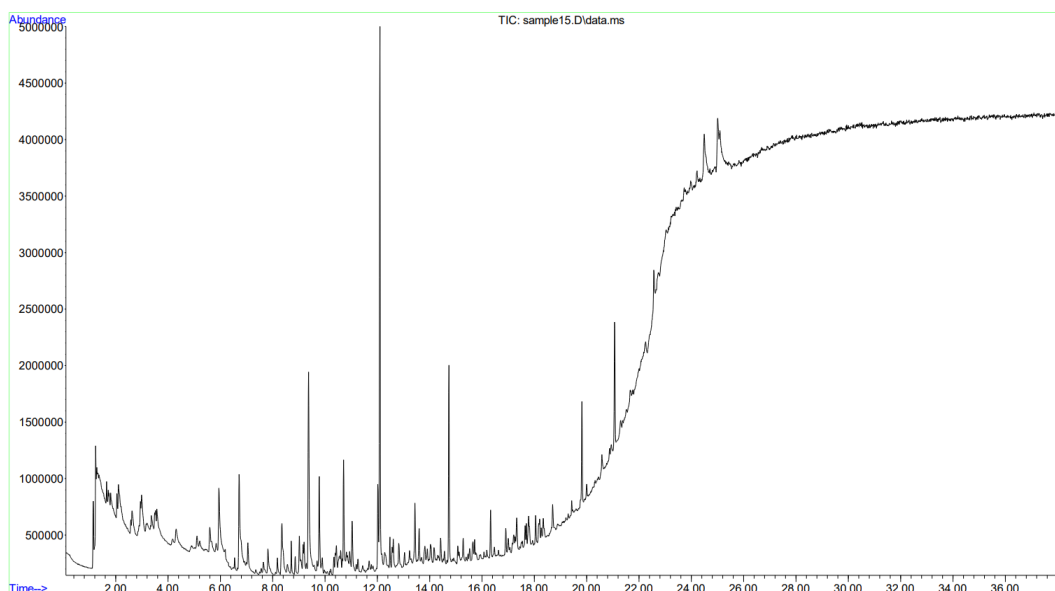
анықталды. BSS25 бактериялық изолятында негізгі қосылыстар бутан қышқылы, 2-метил - 29,39% және 9,12-октадекадиен қышқылы (Z, Z) - 11,09%, сондай-ақ басқа да қосылыстар 3(2H)-тиофенон, дигидро-2-метил-, бензой қышқылы, тридецил эфирі және пентадекан қышқылы анықталды. BSS21 штаммының этилацетатты сығындысында 37 қосылыс (17-кесте), BSS16 этилацетатты сығындысында 23 қосылыс (15-кесте) анықталды. BSS21 бактерия штаммында ацетон, сірке қышқылы, бензалдегид, гексадекан қышқылы, октадекан қышқылы, 2-гидрокси-1,3-пропандиол эфирі, 9-октадецен қышқылы, (E)- және 9,12-октадекадиен қышқылы (Z,Z) - сәйкесінше 3,66%, 6,31%, 6,24%, 4,45%, 3,79%, 9,95% және 5,86% жоғары концентрацияларда табылған. BSS13 изолятының құрамында 26 қосылыс бар (16-кесте), ал BSS12 изолятының 38 қосылыс болды (18-кесте). Зерттеу нәтижелері 12-19 кестелерде көрсетілген.

Кесте 12 - ГХ-МС талдауы бойынша BSS11 бактериялық сығындысының негізгі құрамдас бөліктері

<i>Bacillus subtilis</i> O-3 (BSS11)							
№	Атауы	Мол-к формуласы	Мол-к массасы, g/mol	Ұсталу уақыты (min)	Pubchem Compound CID	Ұқсастығы	Аймағы, %
1	2-Бутанон	C ₄ H ₈ O	72.11	2.111	6569	75	9.68
2	Сірке қышқылының этил эфирі	C ₄ H ₆ O ₂	86.09	2.63	7904	63	3.55
3	2-Пентанон, 3-метил-	C ₆ H ₁₂ O	100.16	2.993	11262	80	3.45
4	Дисульфид, диметил	C ₂ H ₆ S ₂	94.2	3.578	12232	81	2.57
5	2-Гептанон, 6-метил-	C ₈ H ₁₆ O	128.21	5.602	13572	85	2.01
6	Пиразин, метил-	C ₅ H ₆ N ₂	94.11	5.95	7976	93	4.36
7	Пиразин, 2,5-диметил-	C ₆ H ₈ N ₂	108.14	6.722	31252	92	4.60
8	1-Гексанол	C ₆ H ₁₄ O	102.17	7.055	8103	74	1.17
9	Пиразин, триметил-	C ₇ H ₁₀ N ₂	122.17	7.824	26808	75	1.11
10	Пиразин, 3-этил-2,5-диметил-	C ₈ H ₁₂ N ₂	136.19	8.355	25916	80	2.57
11	1-Гексанол, 2-этил-	C ₈ H ₁₈ O	130.229	8.864	7720	84	0.50
12	Пирол	C ₄ H ₅ N	67.09	9.166	8027	90	0.63
13	Бензальдегид	C ₇ H ₆ O	106.12	9.374	240	82	7.15
14	Сірке қышқылы, трифтор-, нонил эфирі	C ₁₁ H ₁₉ F ₃ O ₂	240.26	10.344	6428483	73	0.41
15	(S)-(+)-6-Метил-1-октанол	C ₉ H ₂₀ O	144.25	10.605	13548104	79	0.56
16	Оксим-, метокси-фенил-	C ₈ H ₉ NO ₂	151.16	12.025	9602988	70	2.00
17	Ацетамид	C ₂ H ₅ NO	59.07	12.1	178	96	11.58
18	Пропанамид	C ₃ H ₇ NO	73.09	12.612	6578	71	0.73

12 – кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6	7	8
19	2,4-Декадиеналь, (E,E)-	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23	12.825	5283349	68	0.89
20	Гексан қышқылы	C ₆ H ₁₂ O ₂	116.16	13.043	8892	60	0.30
21	2-Тетрадеканон	C ₁₄ H ₂₈ O	212.37	13.441	75364	86	1.67
22	(R)-(-)-4-МетилГексан қышқылы	C ₇ H ₁₄ O ₂	130.18	13.913	12600623	70	0.49
23	Гексан қышқылы, 2-этил-	C ₈ H ₁₆ O ₂	144.21	14.172	8697	66	0.58
24	Фенол	C ₆ H ₆ O	94.11	14.738	996	96	4.24
25	Октан қышқылы	C ₈ H ₁₆ O ₂	144.21	15.283	379	67	0.80
26	2,4,7,9-Тетраметил-5-децин-4,7-диол	C ₁₄ H ₂₆ O ₂	226.35	15.658	31362	69	0.48
27	Нонан қышқылы	C ₉ H ₁₈ O ₂	158.24	16.331	8158	82	1.00
28	2-Октил бензоат	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	234.33	17.33	243800	66	0.96
29	Фенол, 2,4-бис (1,1-диметил этил)-	C ₁₄ H ₂₂ O	206.32	17.784	7311	87	1.24
30	Бензой қышқылы, пентил эфирі	C ₁₂ H ₁₆ O ₂	192.25	18.345	16296	68	0.71
31	Бензой қышқылы	C ₇ H ₆ O ₂	122.12	18.705	243	85	0.94
32	1,2-Бензенедикарбон қышқылы, бис(2-метилпропил) эфирі	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278.34	19.822	6782	93	2.28
33	Дибутил фталат	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278.34	21.072	3026	74	2.75
34	Гексадекан қышқылы	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.42	22.573	985	71	6.16
35	Олеин қышқылы	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.5	24.497	445639	82	8.52
36	9,12-Октадекадиен қышқылы (Z, Z)-	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.4	25.011	5280450	71	3.02



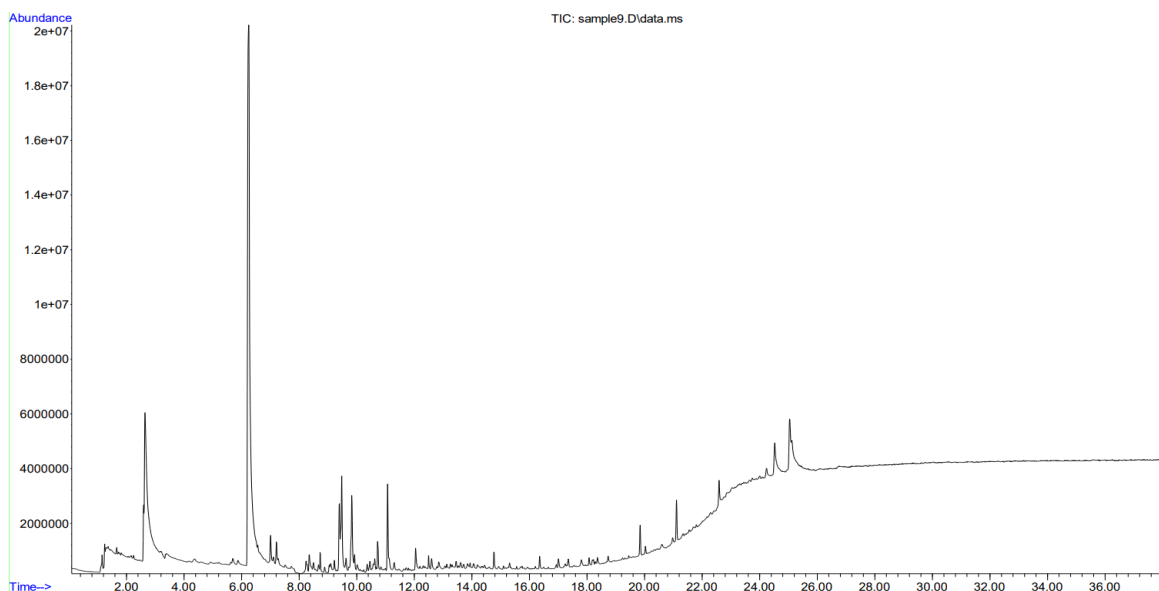
Сурет 11 – ГХ-МС қондырғысында талданған BSS11 штаммының хроматограммасы

Кесте 13 - ГХ-МС талдауы бойынша BSS17 бактериялық сығындысының негізгі құрамдас бөліктері

<i>Bacillus subtilis</i> Md1-42 (BSS17)							
№	Атауы	Мол-қ формуласы	Мол-қ массасы, g/mol	Ұсталу уақыты (min)	Pubchem Compound CID	Ұқсастығы	Аймағы, %
1	(2-Азиридинилэтил) амин	C ₄ H ₁₀ N ₂	86.14	1.157	97697	78	0.44
2	1-Пропен-2-ол, ацетат	C ₅ H ₈ O ₂	100.12	1.664	7916	76	0.91
3	2,3-Бутанедион	C ₄ H ₆ O ₂	86.09	2.649	650	93	17.04
4	3-Пентен-1-ол	C ₅ H ₁₀ O	86.13	5.699	510370	83	0.26
5	Ацетоин	C ₄ H ₈ O ₂	88.11	6.247	179	76	37.17
6	3-Пентанол, 2-метил-	C ₆ H ₁₄ O	102.17	7.009	11264	80	1.15
7	2-Нонен-1-ол	C ₉ H ₁₈ O	142.24	7.108	61896	68	0.42
8	2-Гидрокси-3-пентанон	C ₅ H ₁₀ O ₂	102.13	7.215	521790	81	1.13
9	Этан-1,1-диол дибутаноат	C ₁₀ H ₁₈ O ₄	202.25	8.244	551339	77	0.62
10	Сірке қышқылы	C ₂ H ₄ O ₂	60.05	8.355	176	93	0.85
11	1-Гексанол, 2-этил-	C ₈ H ₁₈ O	130.229	8.889	7720	84	0.20
12	Бензальдегид	C ₇ H ₆ O	106.12	9.399	240	92	2.02
13	2,3-Бутанедиол	C ₄ H ₁₀ O ₂	90.12	9.483	262	78	3.40
14	1,6-Октадиен-3-ол, 3,7-диметил-	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	9.632	6549	83	0.53
15	Пропан қышқылы, 2-метил-	C ₄ H ₈ O ₂	88.11	9.833	6590	82	3.00
16	2,3-Бутанедиол, [R-(R*, R*)]-	C ₄ H ₁₀ O ₂	90.12	9.927	225936	75	0.51
17	1-Нонанол	C ₉ H ₂₀ O	144.25	10.367	8914	79	0.23
18	(S)-(+)-6-Метил-1-октанол	C ₉ H ₂₀ O	144.25	10.63	13548104	86	0.66
19	Бутан қышқылы, 2-метил-	C ₅ H ₁₀ O ₂	102.13	11.076	8314	81	2.48
20	Оксим-, метокси-фенил-	C ₈ H ₉ NO ₂	151.16	12.051	151.16	70	0.59
21	2,4-Декадиеналь	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23	12.855	5283349	70	0.31
22	2,2,4-Триметил-1,3-пентанедиол диизобутират	C ₁₆ H ₃₀ O ₄	286.41	13.615	23284	73	0.25
23	(R)-(-)-4-Метилгексан қышқыл	C ₇ H ₁₄ O ₂	130.18	13.942	12600623	74	0.17
24	Фенол	C ₆ H ₆ O	94.11	14.772	996	94	0.42
25	Октан қышқылы	C ₈ H ₁₆ O ₂	144.21	15.313	379	68	0.23
26	Нонан қышқылы	C ₉ H ₁₈ O ₂	158.24	16.358	8158	87	0.26
27	Гексадекан қышқылы, метил эфирі	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.5	17.011	8181	89	0.29
28	2-Октил бензоат	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	234.33	17.353	243800	67	0.30
29	Бензой қышқылы, гептил эфирі	C ₁₄ H ₂₀ O ₂	220.31	18.076	81591	75	0.18
30	Бензой қышқылы, ундецил эфирі	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	276.4	18.368	229159	70	0.21
31	Бензой қышқылы	C ₇ H ₆ O ₂	122.12	18.538	243	84	0.27

13 - кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6	7	8
32	1,2-Бензенедикарбон қышқылы, бис(2-метилпропил) эфирі	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	19.238	6782	91	0.66
33	Фенол, 2,4-бис (1,1-диметил этил)-	C ₁₄ H ₂₂ O	206.32	19.849	7311	86	0.74
34	Олеин қышқылы	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.5	20.98	445639	68	0.29
35	Дибутил фталат	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278.34	21.113	3026	82	1.02
36	Гексадекан қышқылы	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.42	22.592	985	85	3.51
37	Октадекан қышқылы	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.5	24.242	5281	68	3.10
38	Олеин қышқылы	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.5	24.525	445639	84	5.55
39	9,12-Октадекадиен қышқылы(Z,Z)-	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.4	25.047	5280450	84	9.15



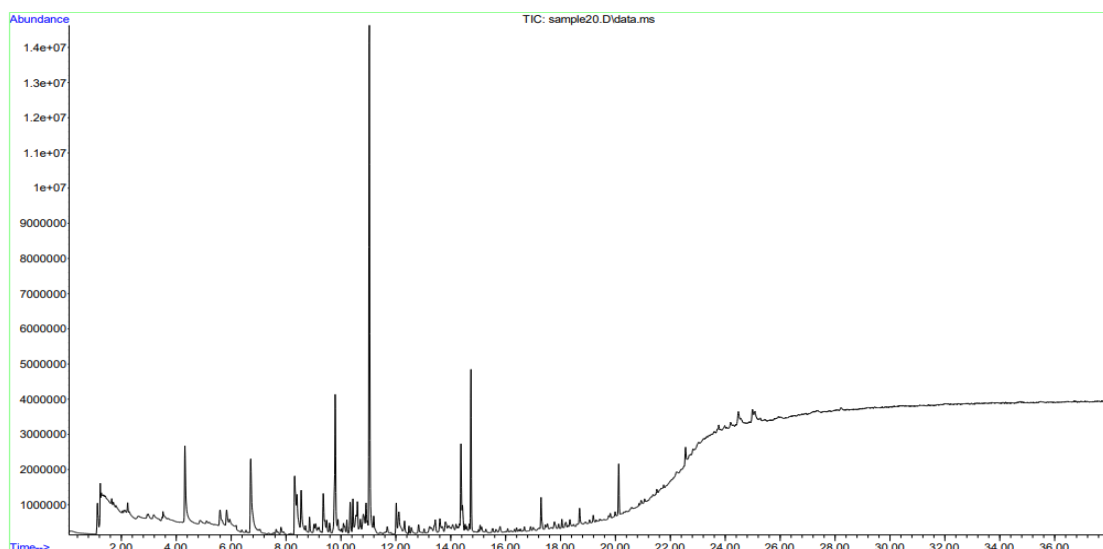
Сурет 12 – ГХ-МС қондырғысында талданған BSS17 штаммының хроматограммасы

Кесте 14 - ГХ-МС талдауы бойынша BSS19 бактериялық сығындысының негізгі құрамдас бөліктері

<i>Bacillus subtilis</i> Khozestan2 (BSS19)							
№	Атауы	Мол-қ формуласы	Мол-қ массасы, g/mol	Ұсталу уақыты (min)	Pubchem Compound CID	Ұқсастығы	Аймағы, %
1	Карбамин қышқылы, моноаммоний тұзы	CH ₆ N ₂ O ₂	78.071	1.134	517232	88	1.70
2	Этанол	C ₂ H ₆ O	46.07	2.234	702	81	0.46

14- кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6	7	8
3	1-Бутанол	C ₄ H ₁₀ O	74.12	4.321	263	91	6.04
4	2-Гептанон, 6-метил-	C ₈ H ₁₆ O	128.21	5.599	13572	85	1.50
5	2-Гептанон, 5-метил-	C ₈ H ₁₆ O	128.21	5.839	28965	87	0.89
6	Пиразин, 2,5-диметил-	C ₆ H ₈ N ₂	108.14	6.717	31252	94	6.57
7	Сірке қышқылы	C ₂ H ₄ O ₂	60.05	8.318	176	93	4.27
8	2-Деканон	C ₁₀ H ₂₀ O	156.26	8.399	12741	76	3.55
9	1-Гексанол, 2-этил-	C ₈ H ₁₈ O	130.229	8.859	7720	85	1.01
10	Бензальдегид	C ₇ H ₆ O	106.12	9.361	240	91	3.06
11	1-Октен, 6-метил-	C ₉ H ₁₈	126.24	9.587	518716	77	0.76
12	Пропан қышқылы, 2-метил-	C ₄ H ₈ O ₂	88.11	9.796	6590	85	8.70
13	1-Октанол, 2-метил-	C ₉ H ₂₀ O	144.25	9.896	102495	82	0.83
14	1-Нонанол	C ₉ H ₂₀ O	144.25	10.342	8914	81	1.74
15	(S)-(+)-6-Метил-1-октанол	C ₉ H ₂₀ O	144.25	10.604	13548104	90	3.26
16	Бензенацетальдегид	C ₈ H ₈ O	120.15	10.821	998	69	2.22
17	2-фуранметанол	C ₅ H ₆ O ₂	98.1	10.918	7361	87	1.94
18	Гексан қышқылы, 2-метил-	C ₇ H ₁₄ O ₂	130.18	11.036	20653	80	25.50
19	2-Додеканон	C ₁₂ H ₂₄ O	184.32	11.198	22556	77	1.36
20	Оксим-, метокси-фенил-	C ₈ H ₉ NO ₂	151.16	12.018	9602988	65	1.54
21	2(5H)-Фуранон	C ₄ H ₄ O ₂	84.07	12.114	10341	77	2.40
22	Формаид	CH ₃ NO	45.041	12.32	713	77	0.97
23	2-Тетрадеканон	C ₁₄ H ₂₈ O	212.37	13.44	75364	80	1.09
24	Малтол	C ₆ H ₆ O ₃	126.11	14.375	8369	93	4.44
25	Этанон, 1-(1H-пиррол-2-ил)-	C ₆ H ₇ NO	109.13	14.429	14079	67	1.45
26	Фенол	C ₆ H ₆ O	94.11	14.739	996	96	6.64
27	4H-Пиран-4-он, 2,3-дигидро-3,5-дигидрокси-6-метил-	C ₆ H ₈ O ₄	144.12	17.293	119838	88	1.65
28	Бензой қышқылы, гепт-2-ил эфирі	C ₁₄ H ₂₀ O ₂	220.31	18.053	243678	75	0.42
29	Бензой қышқылы	C ₇ H ₆ O ₂	122.12	18.698	243	91	1.31
30	5-Гидроксиметилдигидрофуран-2-он	C ₅ H ₈ O ₃	116.11	19.196	98431	73	0.38
31	1,2-Бензенедикарбон қышқылы, бис(2-метилпропил) эфирі	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	19.356	6782	91	0.98
32	Фенол, 2,4-бис(1,1-диметил этил)-	C ₁₄ H ₂₂ O	206.32	19.786	7311	85	1.08



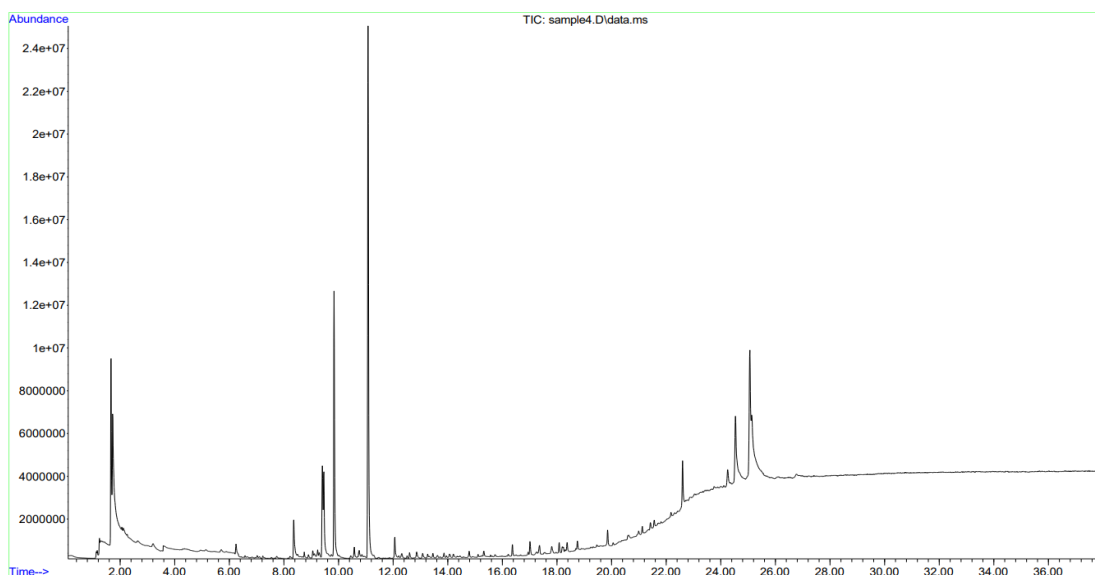
Сурет 13 - ГХ-МС қондырғысында талданған BSS19 штаммының хроматограммасы

Кесте 15 - ГХ-МС талдауы бойынша BSS16 бактериялық сығындысының негізгі құрамдас бөліктері

<i>Bacillus acidiproducens</i> (BSS16)							
№	Атауы	Мол-қ формуласы	Мол-қ массасы, g/mol	Ұсталу уақыты (min)	Pubchem Compound CID	Ұқсастығы	Аймағы, %
1	Ацетон	C ₃ H ₆ O	58.08	1.67	180	93	0.74
2	Ацетоин	C ₄ H ₈ O ₂	88.11	6.49	179	81	8.44
3	Сірке қышқылы	C ₂ H ₄ O ₂	60.05	8.363	176	95	2.39
4	Бензальдегид	C ₇ H ₆ O	106.12	9.411	240	94	4.75
5	3(2Н)-Тиофенон, дигидро-2-метил-	C ₅ H ₈ OS	116.18	9.463	61664	84	6.07
6	Пропан қышқылы, 2-метил-	C ₄ H ₈ O ₂	88.11	9.839	6590	92	13.97
7	Бутан қышқылы	C ₄ H ₈ O ₂	88.11	10.581	264	83	0.61
8	Бутан қышқылы, 2-метил-	C ₅ H ₁₀ O ₂	102.13	11.084	8314	83	29.39
9	Оксим-, метокси-фенил-	C ₈ H ₉ NO ₂	151.16	12.063	9602988	76	1.13
10	Фенол	C ₆ H ₆ O	94.11	14.788	996	90	0.31
11	Нонан қышқылы	C ₉ H ₁₈ O ₂	158.24	16.372	8158	85	0.54
12	Гексадекан қышқылы, метил эфирі	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.5	17.016	8181	91	0.72
13	2-Октил бензоат	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	234.33	17.363	243800	68	0.68
14	Бензой қышқылы 2-метилпентил эфирі	C ₁₃ H ₁₈ O ₂	206.28	17.813	570433	66	0.52
15	Бензой қышқылы, гептил эфирі	C ₁₄ H ₂₀ O ₂	220.31	18.084	81591	80	0.50

15 – кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6	7	8
16	Бензой қышқылы, тридецил эфирі	C ₂₀ H ₃₂ O ₂	304.5	18.375	9814973	75	0.56
17	Бензой қышқылы	C ₇ H ₆ O ₂	122.12	18.752	243	79	0.65
18	1,2-Бензенедикарбон қышқылы, бис(2-метилпропил) эфирі	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278.34	19.859	6782	91	0.94
19	Пентадекан қышқылы	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	242.4	21.427	13849	63	0.41
20	Гексадекан қышқылы	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.42	22.604	985	88	3.60
21	Октадекан қышқылы	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.5	24.256	5281	72	1.63
22	Олеин қышқылы	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.5	24.542	445639	90	9.67
23	9,12-Октадекадиен қышқылы (Z, Z)-	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.4	25.067	5280450	91	11.09



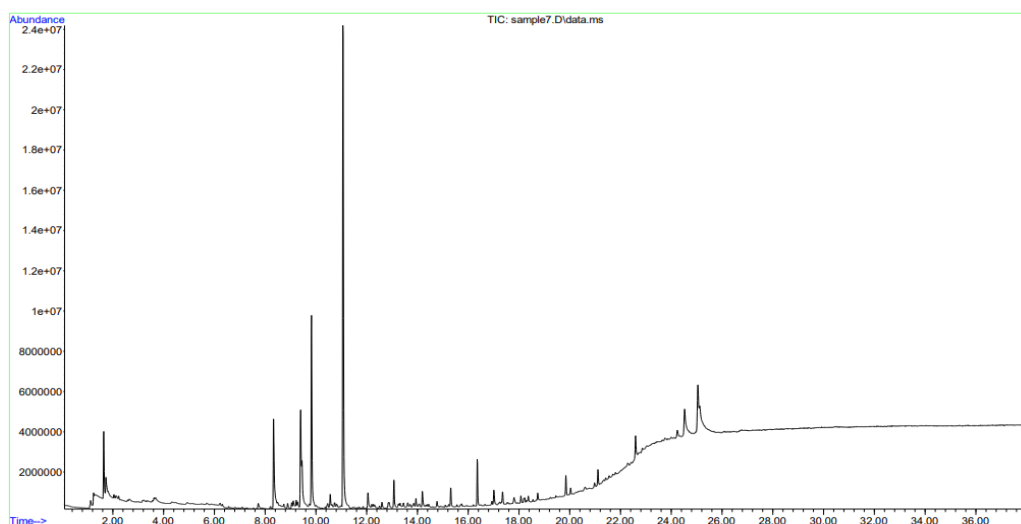
Сурет 14 - ГХ-МС қондырғысында талданған BSS16 штаммының хроматограммасы

Кесте 16 - ГХ-МС талдауы бойынша BSS13 бактериялық сығындысының негізгі құрамдас бөліктері

<i>Bacillus cereus</i> (BSS13)							
№	Атауы	Мол-қ формуласы	Мол-қ массасы, g/mol	Ұсталу уақыты (min)	Pubchem Compound CID	Ұқсастығы	Аймағы, %
1	Ацетон	C ₃ H ₆ O	58.08	1.644	180	94	3.66
2	Ацетоин	C ₄ H ₈ O ₂	88.11	6.49	179	81	0.74
3	Сірке қышқылы	C ₂ H ₄ O ₂	60.05	8.335	176	97	6.31
4	Деканаль	C ₁₀ H ₂₀ O	156.26	9.114	8175	70	0.63

16 - кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6	7	8
5	Бензальдегид	C_7H_6O	106.12	9.402	240	95	6.24
6	Пропан қышқылы, 2-метил-	$C_4H_8O_2$	88.11	9.828	6590	92	11,51
7	Бутан қышқылы	$C_4H_8O_2$	88.11	10.569	264	86	0.91
8	Бутан қышқылы, 2-метил-	$C_5H_{10}O_2$	102.13	11.081	8314	83	31.69
9	Оксим-, метокси-фенил-	$C_8H_9NO_2$	151.16	12.054	9602988	67	1.28
10	Тиглик қышқылы	$C_5H_8O_2$	100.12	13.078	125468	81	1.67
11	(R)-(-)-4-Метилгексан қышқылы	$C_7H_{14}O_2$	130.18	13.945	12600623	84	0.53
12	Гексан қышқылы, 2-этил-	$C_8H_{16}O_2$	144.21	14.197	8697	88	1.032
13	Фенол	C_6H_6O	94.11	14.777	996	87	0.43
14	Октан қышқылы	$C_8H_{16}O_2$	144.21	15.317	379	90	1.11
15	Нонан қышқылы	$C_9H_{18}O_2$	158.24	16.362	8158	90	2.40
16	Гексадекан қышқылы, метил эфирі	$C_{17}H_{34}O_2$	270.5	17.016	8181	80	1.09
17	Декан қышқылы	$C_{10}H_{20}O_2$	172.26	17.359	2969	66	0.94
18	Бензой қышқылы 2-метилпентил эфирі	$C_{13}H_{18}O_2$	206.28	17.809	570433	64	0.55
19	Бензой қышқылы, гептил эфирі	$C_{14}H_{20}O_2$	220.31	18.079	81591	78	0.42
20	Бензой қышқылы	$C_7H_6O_2$	122.12	18.742	243	87	0.56
21	1,2-Бензенидикарбон қышқылы, бис(2-метилпропил) эфирі	$C_{16}H_{22}O_4$	278.34	19.852	6782	93	1.11
22	Дибутил фталат	$C_{16}H_{22}O_4$	278.34	21.116	3026	69	0.93
23	Гексадекан қышқылы	$C_{16}H_{32}O_2$	256.42	22.596	985	84	4.45
24	Октадекан қышқылы, 2-гидрокси-1,3-пропандиил эфирі	$C_{39}H_{76}O_5$	625	24.244	101269	67	3.79
25	9-Октадекан қышқылы, (E)-	$C_{18}H_{34}O_2$	282.5	24.53	637517	86	9.95
26	9,12-Октадекадиен қышқылы (Z,Z)-	$C_{18}H_{32}O_2$	280.4	25.052	5280450	83	5.86



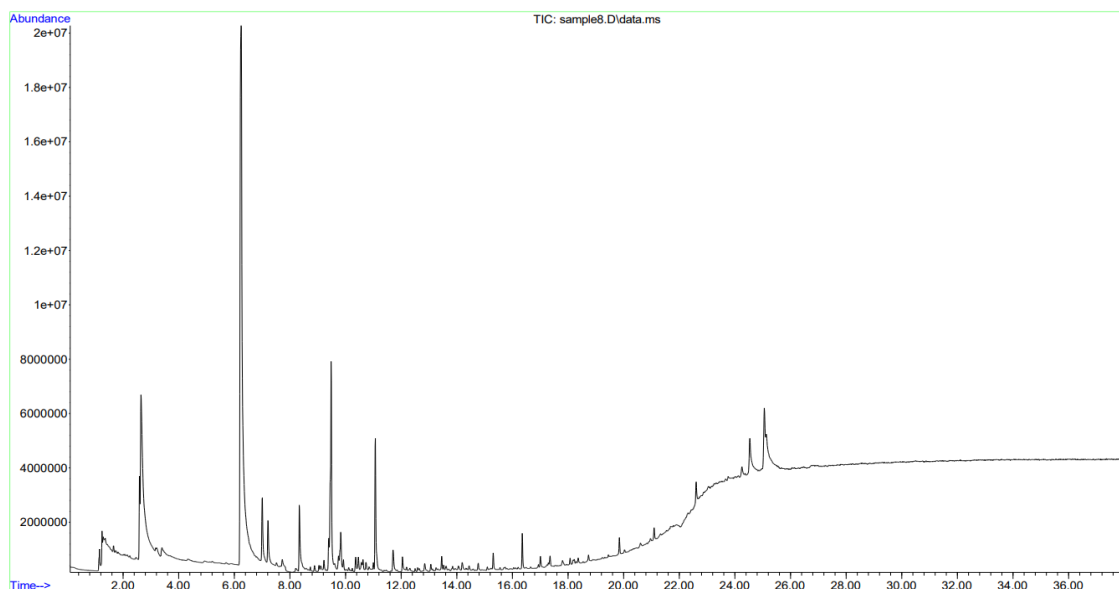
Сурет 15 - ГХ-МС қондырғысында талданған BSS13 штаммының хроматограммасы

Кесте 17 - ГХ-МС талдауы бойынша BSS21 бактериялық сығындысының негізгі құрамдас бөліктері

<i>Bacillus toyonensis</i> (BSS21)							
№	Атауы	Мол-қ формуласы	Мол-қ массасы, g/mol	Ұсталу уақыты (min)	Pubchem Compound CID	Ұқсастығы	Аймағы, %
1	Ацетон	C ₃ H ₆ O	58.08	1.661	180	79	0,55
2	2,3-Бутанедион	C ₄ H ₆ O ₂	86.09	2.652	650	92	16,97
3	2,3-Пентадиеон	C ₅ H ₈ O ₂	100.12	3.404	11747	68	2,035
4	Ацетоин	C ₄ H ₈ O ₂	88.11	6.246	179	84	38.25
5	3-Пентанол, 2-метил-	C ₆ H ₁₄ O	102.17	7.008	11264	81	2.91
6	Оксиран, (метоксиметил)-	C ₄ H ₈ O ₂	88.11	7.216	13589	80	2.40
7	Нонанол	C ₉ H ₁₈ O	142.24	7.73	31289	85	0.74
8	Сірке қышқылы	C ₂ H ₄ O ₂	60.05	8.343	176	97	2.45
9	1-Гексанол, 2-этил-	C ₈ H ₁₈ O	130.229	8.889	7720	88	0.15
10	Е-3- Пентадецен -2-ол	C ₁₅ H ₃₀ O	226.4	9.048	5363322	65	0.13
11	2,3-Бутанедиол, [S-(R*,R*)]-	C ₄ H ₁₀ O ₂	90.12	9.486	439888	88	7.79
12	Құмырсқа қышқылы, октил эфирі	C ₉ H ₁₈ O ₂	158.24	9.751	8176	69	0.37
13	Пропан қышқылы, 2-метил-	C ₄ H ₈ O ₂	88.11	9.832	6590	76	1.40
14	2-Октанол	C ₈ H ₁₈ O	130.229	9.928	20083	74	0.26
15	(S)-(+)-6-Метил-1-октанол	C ₉ H ₂₀ O	144.25	10.631	13548104	82	0.28
16	1-Нонанол	C ₉ H ₂₀ O	144.25	11.003	8914	78	0.12
17	Бутан қышқылы, 2-метил-	C ₅ H ₁₀ O ₂	102.13	11.073	8314	87	3.57
18	Додеканаль	C ₁₂ H ₂₄ O	184.32	11.714	8194	92	0.68
19	Оксим-, метокси-фенил-	C ₈ H ₉ NO ₂	151.16	12.052	9602988	73	0.34

17 - кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6	7	8
20	2,4-Декадиеналь, (E,E)-	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23	12.851	5283349	77	0.28
21	Пентан қышқылы	C ₅ H ₁₀ O ₂	102.13	13.071	7991	79	0.23
22	3-Бутен-2-он, 4-(1-циклопентен-1-ил)-, (E)-	C ₉ H ₁₂ O	136.19	13.461	5370075	76	0.40
23	Гексан қышқылы, 2-этил-	C ₈ H ₁₆ O ₂	144.21	14.199	8697	80	0.31
24	1-Додеканол	C ₁₂ H ₂₆ O	186.33	14.446	8193	81	0.15
25	Фенол	C ₆ H ₆ O	94.11	14.774	996	90	0.19
26	Октан қышқылы	C ₈ H ₁₆ O ₂	144.21	15.314	379	79	0.39
27	Нонан қышқылы	C ₉ H ₁₈ O ₂	158.24	16.359	8158	88	0.73
28	Гексадекан қышқылы, метил эфирі	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.5	17.01	8181	88	0.31
29	1,4-Бензенедиол, 2,6-бис(1,1-диметилэтил)-	C ₁₄ H ₂₂ O ₂	222.32	17.298	75550	63	0.17
30	Декан қышқылы	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172.26	17.356	2969	64	0.30
31	Бензой қышқылы, гептил эфирі	C ₁₄ H ₂₀ O ₂	220.31	18.369	81591	73	0.16
32	Бензой қышқылы	C ₇ H ₆ O ₂	122.12	18.739	243	85	0.22
33	1,2-Бензенидикарбон қышқылы, бис(2-метилпропил) эфирі	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278.34	19.85	6782	81	0.33
34	Дибутил фталат	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278.34	21.099	3026	67	0.32
35	Гексадекан қышқылы	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.42	22.611	985	76	4.00
36	Олеин қышқылы	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.5	24.54	445639	86	5.85
37	9,12-Октадекадиен қышқылы(Z,Z)-	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.4	25.063	5280450	87	3.79



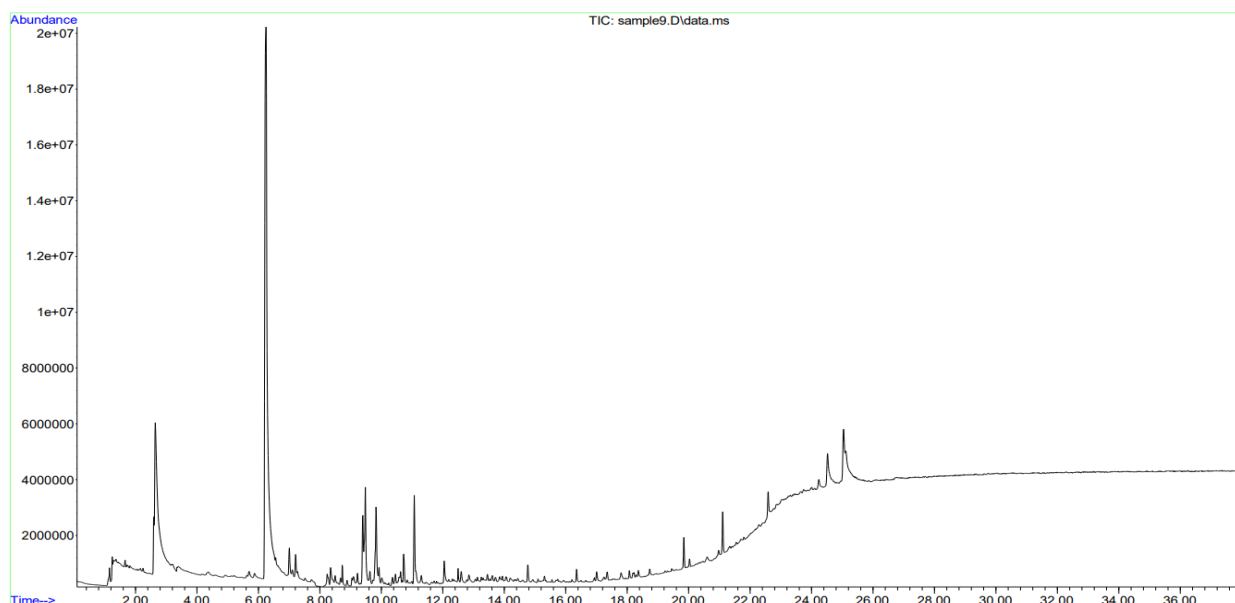
Сурет 16 – ГХ-МС қондырғысында талданған BSS21 штаммының хроматограммасы

Кесте 18 - ГХ-МС талдауы бойынша BSS12 бактериялық сығындысының негізгі құрамдас бөліктері

<i>Bacillus safensis (BSS12)</i>							
№	Атауы	Мол-қ формула сы	Мол-қ массасы, g/mol	Ұсталу уақыты (min)	Pubchem Compound CID	Ұқсаст ығы	Аймағы, %
1	(2-Азиридинилэтил) амин	C ₄ H ₁₀ N ₂	86.14	1.162	97697	96	0.38
2	1-Пропен-2-ол, ацетат	C ₅ H ₈ O ₂	100.12	1.667	7916	65	0.78
3	2,3-Бутанедион	C ₄ H ₆ O ₂	86.09	2.647	650	93	21.42
4	3-Пентен-1-ол	C ₅ H ₁₀ O	86.13	3.411	510370	69	2.63
5	Ацетоин	C ₄ H ₈ O ₂	88.11	5.703	179	72	0.26
6	3-Пентанол, 2-метил-	C ₆ H ₁₄ O	102.17	6.259	11264	72	36.53
7	2-Нонен-1-ол	C ₉ H ₁₈ O	142.24	7.011	61896	82	1.23
8	2-Гидрокси-3-пентанон	C ₅ H ₁₀ O ₂	102.13	7.109	521790	73	0.42
9	Этан-1,1-диол дибутаноат	C ₁₀ H ₁₈ O ₄	202.25	7.215	551339	83	1.18
10	Сірке қышқылы	C ₂ H ₄ O ₂	60.05	8.354	176	90	0.78
11	1-Гексанол, 2-этил-	C ₈ H ₁₈ O	130.229	8.888	7720	93	0.44
12	Бензальдегид	C ₇ H ₆ O	106.12	9.397	240	96	2.17
13	2,3-бутанедиол	C ₄ H ₁₀ O ₂	90.12	9.484	262	89	4.67
14	1,6-Октадиен-3-ол, 3,7- диметил-	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	9.632	6549	87	0.78
15	Пропан қышқылы, 2- метил-	C ₄ H ₈ O ₂	88.11	9.832	6590	67	3.15
16	2,3-Бутанедиол, [R- (R*,R*)]-	C ₄ H ₁₀ O ₂	90.12	9.925	225936	74	0.53
17	1-Нонанол	C ₉ H ₂₀ O	144.25	10.366	8914	82	0.41
18	(S)-(+)-6-Метил-1-октанол	C ₉ H ₂₀ O	144.25	10.635	13548104	89	0.98
19	Бутан қышқылы, 2-метил-	C ₅ H ₁₀ O ₂	102.13	11.082	8314	82	1.89
20	Оксим-, метокси-фенил-	C ₈ H ₉ NO ₂	151.16	12.053	9602988	67	0.51
21	2,4-Декадиеналь	C ₁₀ H ₁₆ O	152.23	12.853	5283349	79	0.32
22	2,2,4-Триметил-1,3- пентанедиол диизобутират	C ₁₆ H ₃₀ O ₄	286.41	13.131	23284	82	0.16
23	(R)-(-)-4-Метилгексан қышқылы	C ₇ H ₁₄ O ₂	130.18	13.315	12600623	62	0.13
24	Фенол	C ₆ H ₆ O	94.11	13.711	996	75	0.20
25	Октан қышқылы	C ₈ H ₁₆ O ₂	144.21	14.194	379	76	0.18
26	Нонан қышқылы	C ₉ H ₁₈ O ₂	158.24	14.587	8158	76	0.13
27	Гексадекан қышқылы, метил эфирі	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.5	14.766	8181	96	2.88
28	2-Октил бензоат	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	234.33	15.31	243800	70	0.17
29	Бензой қышқылы, гептил эфирі	C ₁₄ H ₂₀ O ₂	220.31	15.742	81591	75	0.10
30	Бензой қышқылы, ундецил эфирі	C ₁₈ H ₂₈ O ₂	276.4	16.355	229159	88	0.40

18 - кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6	7	8
31	Бензой қышқылы	C ₇ H ₆ O ₂	122.12	17.008	243	89	0.28
32	1,2-Бензенедикарбон қышқылы, бис(2-метилпропил) эфирі	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278.34	18.074	6782	69	0.097
33	Олеин қышқылы	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.5	18.364	445639	76	0.14
34	Дибутил фталат	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278.34	19.845	3026	89	0.32
35	Гексадекан қышқылы	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256.42	22.582	985	82	2.37
36	Октадекан қышқылы	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	284.5	24.235	5281	69	2.67
37	Олеин қышқылы	C ₁₈ H ₃₄ O ₂	282.5	24.517	445639	87	4.58
38	9,12-Октадекадиен қышқылы(Z,Z)-	C ₁₈ H ₃₂ O ₂	280.4	25.039	5280450	83	3.57



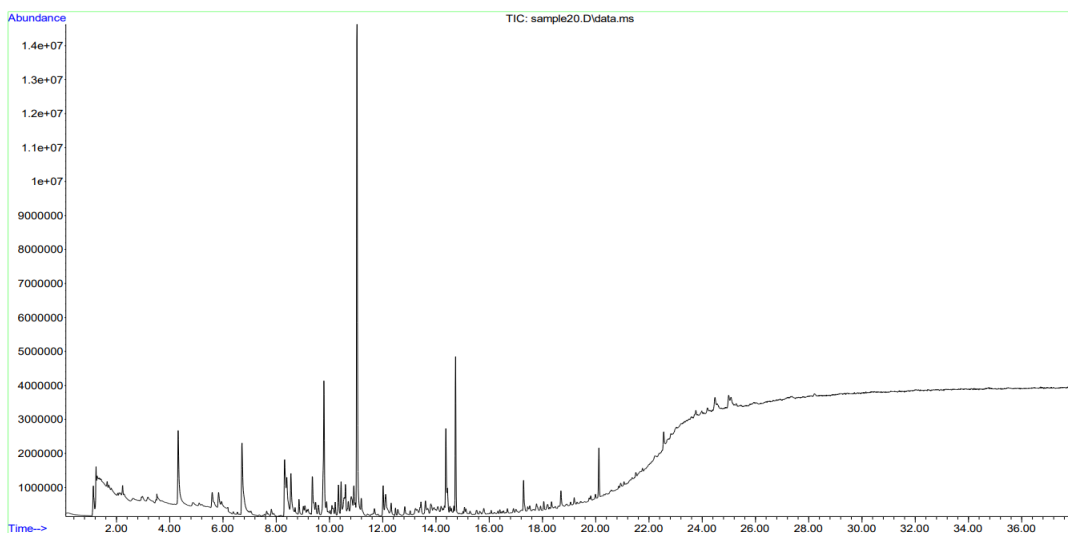
Сурет 17 - ГХ-МС қондырғысында талданған BSS12 штаммының хроматограммасы

Кесте 19 - ГХ-МС талдауы бойынша BSS25 бактериялық сығындысының негізгі құрамдас бөліктері

<i>Bacillus thuringiensis</i> (BSS25)							
№	Атауы	Мол-қ формуласы	Мол-қ массасы, g/mol	Ұсталу уақыты (min)	Pubchem Compound CID	Ұқсастығы	Аймағы, %
1	Ацетон	C ₃ H ₆ O	58.08	1.642	180	87	0.17
2	2,3-Бутанедион	C ₄ H ₆ O	86.09	2.64	650	93	15.84
3	Гексанал	C ₆ H ₁₂ O	100.16	3.617	6184	65	0.34
4	Ацетоин	C ₄ H ₈ O ₂	88.111	6.239	179	78	44.06

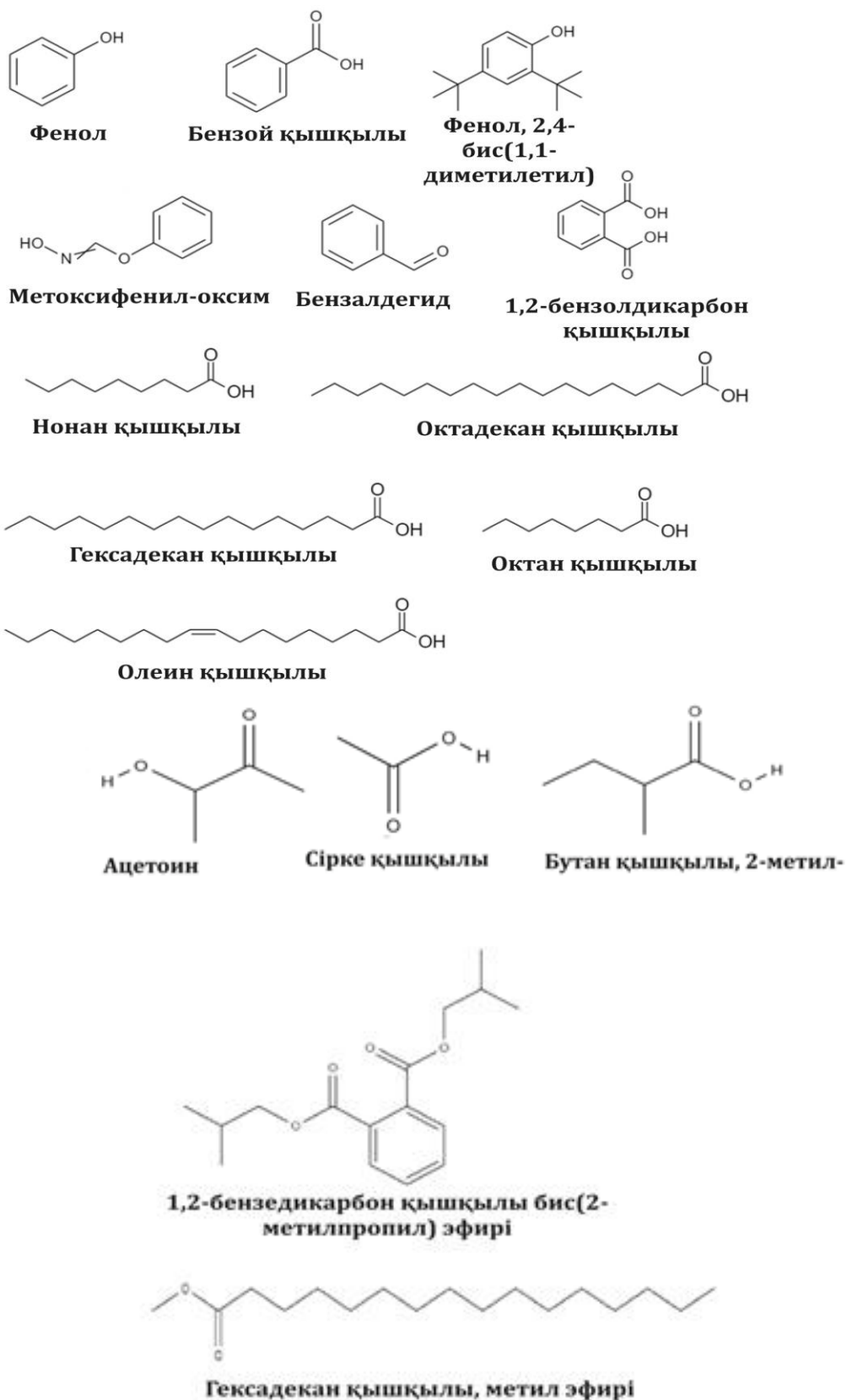
19 - кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6	7	8
5	3-Пентаол, 2-метил-	C ₆ H ₁₄ O	102.17	7.012	11264	80	1.37
6	Оксиран, (метоксиметил)-	C ₄ H ₈ O ₂	88.11	7.219	13589	79	1.36
7	Сірке қышқылы	C ₂ H ₄ O ₂	60.05	8.368	176	86	0.88
8	Декаль	C ₁₀ H ₂₀ O	156.26	8.504	8175	73	0.39
9	1-гексанол, 2-этил-	C ₈ H ₁₈ O	130,229	8.896	7720	87	0.24
10	бензальдегид	C ₇ H ₆ O	106.12	9.411	240	94	2.22
11	2,3-бутандиол, [S-(R*, R*)]-	C ₄ H ₁₀ O	90.12	9.491	439888	82	4.07
12	1,6-октадиен-3-ол, 3,7-диметил-	C ₁₀ H ₁₈ O	154.25	9.64	6549	85	0.78
13	1-гептен-4-ол	C ₇ H ₁₄ O	114.19	9.847	19040	70	3.41
14	1-нонанол	C ₉ H ₂₀ O	144.25	10.47	8914	78	0.73
15	(S)-(+)-6-метил-1-октанол	C ₉ H ₂₀ O	144.25	10.639	13548104	85	1.24
16	Бутан қышқылы, 2-метил-	C ₅ H ₁₀ O ₂	102.13	11.091	8314	81	2.23
17	оксим-, метокси-фенил	C ₈ H ₉ NO ₂	151.16	12.063	9602988	73	1.13
18	1-деканол	C ₁₀ H ₂₂ O	158.28	12.21	8174	60	0.51
19	Гексан қышқылы	C ₆ H ₁₂ O ₂	116.16	13.085	8892	91	1.86
20	5,9-ундекадиен-2-он, 6,10-диметил-, (E)-	C ₁₃ H ₂₂ O	194.31	13.329	1549778	60	0.66
21	Пропан қышқылы, 2-метил-, 3-гидрокси-2,4,4-триметил эфирі	C ₁₂ H ₂₄ O	216.32	13.462	551387	65	0.99
22	2,2,4-триметил-1,3-пентандиол диизобутират	C ₁₆ H ₃₀ O ₄	286.41	13.63	23284	81	0.90
23	(R)-(-)-4-Метилгексан қышқылы	C ₇ H ₁₄ O ₂	130.18	13.965	12600623	70	0.61
24	Гексан қышқылы, 2-этил-	C ₈ H ₁₆ O ₂	144.21	14.226	8697	89	2.90
25	Цетен	C ₁₆ H ₃₂	224.42	14.477	12395	81	0.75
26	Фенол	C ₆ H ₆ O	94.11	14.825	996	89	0.81
27	Неодекан қышқылы	C ₁₀ H ₂₀ O ₂	172.26	15.305	62838	61	0.42
28	Октан қышқылы	C ₈ H ₁₆ O ₂	144.21	15.386	379	91	2.46
29	1,2-Бензенедикарбон қышқылы, бис(2-метилпропил) эфирі	C ₁₆ H ₂₂ O ₄	278.34	16.151	6782	77	0.43
30	Нонан қышқылы	C ₉ H ₁₈ O ₂	158.24	16.478	8158	90	2.79
31	Бензой қышқылы, 2-этилгексил эфирі	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	234.33	17.083	94310	61	0.17
32	Гексадекан қышқылы, метил эфирі	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270.5	17.161	8181	91	1.22
33	2-Октил бензоат	C ₁₅ H ₂₂ O ₂	234.33	17.531	243800	69	0.90



Сурет 18 - ГХ-МС қондырғысында талданған BSS25 штаммының хроматограммасы

Сегіз изоляттың этилацетаты сығындыларының ГХ-МС талдауының нәтижесі бойынша 264 қосылыс анықталды, сегіз изолятта анықталған ортақ қосылыстардың саны 69 болды. 12-18 кестелерде ГХ-МС талдауына ұшыраған сығындыларда анықталған ең маңызды және көптеген компоненттерді, сондай-ақ осы жоғары пайыздық көрсеткіште кездескен химиялық заттардың фармакологиялық әсерлері, басқа зерттеулерде анықталғаны туралы ақпарат қарастырылды. Бұл заттар әртүрлі организмдердің табиғи өнімдеріне ұқсастық көрсетті, мысалы, бактериялық, өсімдік және саңырауқұлақ текті. ГХ-МС деректерін зерттеу негізінде олардың көпшілігі алкалоидтар, күрделі эфирлер, эфирлер және фенолды қосылыстар сияқты ұшпа заттардан алынады. Күрделі эфирлер мен эфирлерден басқа, *Bacillus* бактерияларының құрамында спирттер, кетондар, май қышқылдары және хош иісті қосылыстар сияқты әртүрлі кластарға жататын ұшпа қосылыстар түзетіні анықталды. *Bacillus* spp. анықталған ортақ компоненттердің (фенол, бензой қышқылы, бензальдегид, октадекан қышқылы, нонан қышқылы, гексадекан қышқылы, олеин қышқылы, ацетоин, фенол, 2,4- бис(1,1-диметилэтил, метокисфенил-оксим) құрылымы 19 - суретте көрсетілген және ортақ қосылыстардың фармакологиялық белсенділіктері 20 - кестеде көрсетілген.



Сурет 19 - *Bacillus* spp. анықталған ортақ компоненттердің құрылымы

Кесте 20 - *Bacillus* spp. анықталған ортақ қосылыстардың әртүрлі кластарының тізімі және олардың фармакологиялық белсенділігі

№	Атауы	Химиялық класы	Белгілі фармакологиялық әсерлері
1	3-Пентанол, 2-метил-	спирт	–
2	2,3-Бутанедиол, [S-(R*R*)]-	спирт	–
3	1,6-Октадиен-3-ол, 3,7-диметил-	монотерпенді спирт	қабынуға қарсы, ісікке қарсы, гиперлипидемиялық, микробқа қарсы, антиноцептивтік, анальгетиктер, ангиолитикалық, антидепрессант және нейропротекторлық әсерлері. [129]
4	1-Гептен-4-ол	спирт	–
5	1-Нонанол	спирт	саңырауқұлақтарға қарсы [130] және бактерияға қарсы [131]
6	(S)-(+)-6-Метил-1-октанол	спирт	–
7	1-Деканол	спирт	бактерияға қарсы [132], антиоксидант және нейропротекторлық [133]
8	E-3-Pentadecen-2-ol	спирт	–
9	2-Октанол	спирт	–
10	3-Пентен-1-ol	спирт	–
11	2-Нонен-1-ol	спирт	–
12	2,3-Бутанедиол	спирт	ОЖЖ антидепрессант [134], микробқа қарсы және антагонистік [135]
13	1-Гексанол, 2-этил-	спирт	–
14	1-Додеканол	спирт	Бактерияға қарсы [136]
15	Гексанал	альдегид	микробқа қарсы [137]
16	Нонанол	альдегид	саңырауқұлақтарға қарсы [138]
17	Деканаль	альдегид	саңырауқұлақтарға қарсы [139]
18	Додеканаль	альдегид	–
19	2,4-Декадиеналь, (E, E)-	альдегид	хош иістендіргіш [140]
20	Сірке қышқылы	карбон қышқылы	бактерияға қарсы және саңырауқұлаққа қарсы, ісікке қарсы [141]
21	Бензальдегид	карбон қышқылы	
22	Бутан қышқылы, 2-метил-	карбон қышқылы	іш жүргізетін [142]
23	Гексан қышқылы	карбон қышқылы	–
24	(R)-(-)-4-Метилгексан қышқылы	карбон қышқылы	–
25	Гексан қышқылы, 2-этил-	карбон қышқылы	–
26	Неодекан қышқылы	карбон қышқылы	–
27	Октан қышқылы	карбон қышқылы	ісікке қарсы [144], бактерияға қарсы [145], микробқа қарсы [146]

20 - кестенің жалғасы

1	2	3	4
28	Нонан қышқылы	карбон қышқылы	тері күтімі өнімі, саңырауқұлақтарға қарсы [147]
29	Пропан қышқылы, 2-метил-	карбон қышқылы	–
30	Бутан қышқылы	карбон қышқылы	колоноциттің негізгі энергетикалық субстраты [148]
31	Пентадекан қышқылы	карбон қышқылы	сүт безі қатерлі ісігі жасушаларында JAK2/STAT3 сигнализациясының ингибиторы, антибиофильді агент [149]
32	Олеин қышқылы	карбон қышқылы	ісікке қарсы, қабынуға қарсы, жараларды емдейтін [150]
33	Гексадекан қышқылы	карбон қышқылы	қабынуға қарсы, бактерияға қарсы [151]
34	Октадекан қышқылы	карбон қышқылы	антиканцерогенді [152]
35	9,12-Октадекадиен қышқылы (Z, Z)-	карбон қышқылы	жүрек аритмиясын емдеу немесе алдын алу үшін қолданылады [153]
36	Тиглик қышқылы	карбон қышқылы	–
37	Декан қышқылы	карбон қышқылы	бактерияға қарсы және қабынуға қарсы әсерді күшейтеді [154]
38	9-Октадекан қышқылы, (E)-	карбон қышқылы	–
39	Пентан қышқылы	карбон қышқылы	нейропротекторлық және тотығу стрессін басады [155]
40	Ацетон	кетон	–
41	2,3-Бутанедион	кетон	–
42	Ацетоин	кетон	ОЖЖ антидепрессант [156]
43	5,9-Ундекадиен-2-one, 6,10-диметил-, (E)-	кетон (сесквитерпен)	–
44	2,3-Пентанедион	кетон	–
45	3-Бутен-2-он, 4-(1-циклопентен-1-ил)-, (E)-	кетон (циклді)	–
46	2-Гидрокси-3-пентанон	кетон (ацилоин)	–
47	Оксим-, метокси-фенил	эфир	–
48	2,2,4-Триметил-1,3-пентанедиол диизобутират	эфир	–
49	Пропан қышқылы, 2-метил-, 3-гидрокси-2,4,4-триметилпентил эфирі	Күрделі қаныққан қышқылдар	–
50	гексадекан қышқылы, метил эфирі	күрделі қаныққан қышқылдар	ишемия/реперфузия (I/R) жарақатына қарсы кардиопротекторлық әсер көрсетеді [157], бактерияға қарсы [158], циклофосфамидтің кардиоуыттылығына қарсы әрекет етеді [159]

20 - кестенің жалғасы

1	2	3	4
51	октадекан қышқылы, 2-гидрокси-1,3-пропандиол эфирі	күрделі қаныққан қышқылдар	–
52	Этан-1,1-диол дибутаноат	күрделі қаныққан қышқылдар	–
53	Бензой қышқылы, 2-этилгексил эфирі	бензой қышқылының күрделі эфирі	–
54	2-октил бензоат	бензой қышқылының күрделі эфирі	–
55	Бензой қышқылы 2-метилпентил эфирі	бензой қышқылының күрделі эфирі	–
56	Бензой қышқылы, гептил эфирі	бензой қышқылының күрделі эфирі	–
57	Бензой қышқылы, тридецил эфирі	бензой қышқылының күрделі эфирі	–
58	Бензой қышқылы, ундецил эфирі	бензой қышқылының күрделі эфирі	–
59	1,2-Бензенедикарбон қышқылы, бис(2-метилпропил) эфирі	фталат эфирі	–
60	Дибутил фталат	фталат эфирі	–
61	Құмырсқа қышқылы, октил эфирі	эфир	–
62	1-Пропен-2-ол, ацетаты	эфир	–
63	Оксиран, (метоксиметил)-	гетероциклді қосылыс	–
64	(2-Азирдинилэтил) амин	амин	–
65	Цетен	алкен	–
66	Бензой қышқылы	бензеноид	бактерияға қарсы және саңырауқұлақтарға қарсы [160]
67	Фенол	фенол	дезинфекциялаушы [161]
68	3(2Н)-Тиофенон, дигидро-2-метил-	тетрагидротиофен	–
69	1,4-Бензенедиол, 2,6-бис(1,1-диметилэтил)-	хинон	–

3.5 *Bacillus spp.* штамдарының өмірге қабілеттілігін тексеру

Бактериялардың қосалқы заттармен үйлесімділігінің өлшемі ретінде келесі көрсеткіш анықталды: белгілі бір жағдайларда өмір сүретін *Bacillus spp.* өмірге қабілеттілігін анықтау.

Микроорганизмдердің өміршеңдігін тексеру үшін сұйық қоректік ортада үлгіні инкубациялау жүргізілді.

Үлгіні дайындау:

10,0 гр. сынақ үлгісі 100,0 мл қоректік сорпаға енгізілді. Барлық культуралар 37⁰ С температурада 24-48 сағат бойы инкубацияланды. Инкубациядан кейін 0,1 мл Петри табақшаларына егілді және микроағзалардың нақты өсуі есепке алынды. Штамдарды ерте стационарлық фазаға дейін өсіріп алып, алдын ала дайындалған қоректік ортамен араластырылды.

Қоректік орта ретінде алынды:

№1 (желатин-5 гр, сахароза-10 гр, агар-0,1 гр, дистилденген су-85 мл);

№2 қоректік орта (желатин-5 гр, сахароза-10 гр, агар-0,1 гр, дистилденген су -85 мл), (М63 - 80мл, 10 % сахароза -10мл, TSB - 10 мл, А микроэлементтері - 500 мкл, Б микроэлементтері - 500 мкл).

Культуралардың суспензиясын стерильді флакондарға құйып алып, олардың барлығын кептіру үрдісі жүретін лиофильді камераға орналастырдық. Тәжірибені жүзеге асыру барысында бірнеше этаптан тұратын кептіру үрдісінің оңтайлы жағдайы анықталды: -20⁰С температурада мұздату, бастапқы лиофилизация - 80⁰ С температурада, кезекті лиофилизация 20⁰С температурада, соңғы лиофилизация, культураларды кептіру 20⁰С температурада. Жалпы лиофилизация үрдісі 12 сағатты қамтыды. Дайын болған өнім ашық сары түсті, флакон қабырғаларына жабыспай бос үлпек тәрізді болды.

Леофилизацияға дейінгі бактерия культураларының титрін есепке алу

Бастапқыда лиофилизацияға дейінгі флакондағы ерітінділердің МакФарландасы өлшеніп алынды.

Леофилизациядан кейінгі бактерия культураларының титрін есептеу

Леофильді камерадан алынған штамдарға 5 мл натрий хлориді ерітіндісін құйып, оны жақсылап араластырып, ерітіп болған соң, ол ерітіндіден 100 мкл, сонымен қатар 990 мкл натрий хлориді ерітіндісі эппендорф (10⁻², 10⁻⁴, 10⁻⁶, 10⁻⁸, 10⁻¹⁰) сынауықтарына құйылды. Сынауықтардағы ерітінділерді стерильді Мюллер-Хинтон агары бар Петри табақшаларына стерильді шпатель көмегімен ортасына дейін егілді. Инкубация 37⁰С температурасында 24-48 сағат ішінде жүргізілді. Зерттеу нәтижелері 21 - кестеде келтірілген.

Кесте 21 - Культуралардың лиофилизацияға дейінгі және лиофилизациядан кейінгі өмір сүру қабілеттілігі

Культуралар	Культуралардың лиофилизацияға дейінгі титрі КТБ/мл	Культуралардың лиофилизациядан кейінгі титрі КТБ/мл	
		Қоректік орта № 1 (Желатин -5гр, сахароза- 10гр, агар-0,1 гр, дистилденген су -85 мл)	Қоректік орта № 2 (Желатин -5гр, сахароза- 10гр, агар-0,1 гр, дистилденген су -85 мл), (М63 - 80мл, 10 % сахароза -10мл, TSB - 10 мл, А микроэлементтері - 500 мкл, Б микроэлементтері - 500 мкл)
BSS11	1,7x10 ⁹	1,5x10 ⁶	1,5x10 ⁸
BSS17	1,2x10 ⁹	1,0x10 ⁶	1,0x10 ⁸
BSS19	1,7x10 ⁷	1,7x10 ⁴	1,7x10 ⁶
BSS25	1,2x10 ⁹	9,2x10 ⁶	9,2x10 ⁸
BSS21	4,0x10 ⁹	6,3x10 ⁶	6,3x10 ⁸
BSS16	1,6x10 ⁹	1,5x10 ⁶	1,5x10 ⁸
BSS13	1,2x10 ⁹	1,0x10 ⁶	1,0x10 ⁸
BSS12	2,3x10 ⁷	2,1x10 ⁴	2,3x10 ⁶

Лиофилизациялау үрдісі кезінде бактерия культуралары №2 қоректік ортада (желатин-5 гр, сахароза-10 гр, агар-0,1 гр, дистилденген су -85 мл), (М63 - 80мл, 10 % сахароза -10мл, TSB - 10 мл, А микроэлементтері - 500 мкл, Б микроэлементтері - 500 мкл) өмір сүру қабілеттілігі жоғары болатындығы дәлелденді. Жүргізілген зерттеулер нәтижелеріне (патогенді штаммдарға қарсы антагонистік әсері, антибиотиктерге төзімділігі, өмірге қабілеттілігі) байланысты әрі қарай BSS19 (*Bacillus subtilis*) штаммы таңдап алынды.

Bacillus subtilis лиофилизатын алудың өндіріс кезеңдері 7 сатыдан тұрды, технологиялық сызбасы 20 - суретте келтірілген.

1 саты. Қоректік ортаны дайындау және егу материалын дайындау.

2 саты. Микроорганизмдерді биореакторда 37⁰С температурада, 24 сағат культивирлеу.

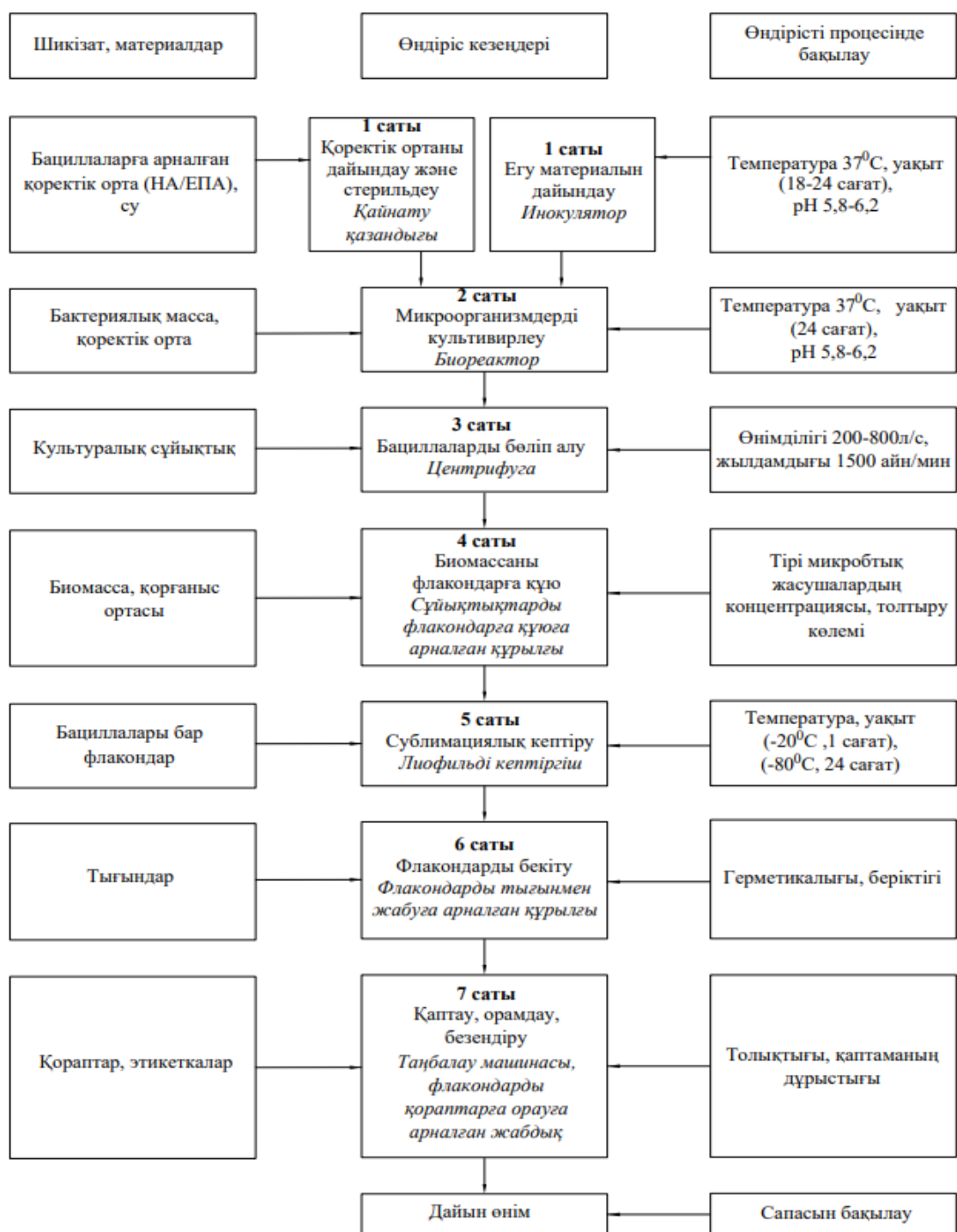
3 саты. Бациллаларды бөліп алу.

4 саты. Биомассаны флакондарға құю. Тірі микробтық жасушалардың концентрациясын, толтыру көлемін тексеру.

5 саты. Сублимациялық кептіру.

6 саты. Флакондарды тығынмен бекіту. Герметикалығын және беріктігін тексеру.

7 саты. Қаптау, орамдау, безендіру және дайын өнімнің сапасын бағалау.



Сурет 20 - *Bacillus subtilis* лиофилизатын алудың технологиялық сызбасы

3.6 *B. subtilis* лиофилизатының сапа спецификациясын құрастыру

B. subtilis лиофилизатының сапа спецификациясын құрастыру «Дәрілік заттарды өндіруші әзірлеген және дәрілік заттарға сараптама кезінде дәрілік заттардың сапасы жөніндегі нормативтік құжатты мемлекеттік сараптама ұйымымен келісу қағидаларын бекіту туралы» ҚР ДСМ 2021 жылғы 17 ақпанда

бекіткен № ҚР ДСМ-20 бұйрығы, ҚР МФ және ЕАЭО Ф, РФ МФ бойынша жүргізілді. *B. subtilis* лиофилизатының сипаттамасы, сәйкестендіруі, сутектік көрсеткіші, сандық анықтау, микробиологиялық тазалығы, кептіргендегі массасының жоғалуы, қайта қалпына келу уақыты, орамдау, таңбалау, тасымалдау, сақтау мерзімі, негізгі фармакологиялық әсері анықталынды, нәтижесі 22 - кестеде көрсетілген.

B.subtilis лиофилизатының сапа спецификациясы құрастырылып, нормативтік құжат жобасы жасалынды (Қосымша А).

Кесте 22 – *B. subtilis* лиофилизатының сапа спецификациясы

Сапа көрсеткіштері	Ауытқу нормалары	Зерттеу әдістері
Сипаттамасы	Криссталды ұнтақ немесе крем түсті кеуекті масса. Гигроскопиялық	НҚ сәйкес
Сәйкестендіру <i>Bacillus subtilis</i> (морфологиялық, культуралдық және биохимиялық қасиеттері)	<i>Морфологиялық қасиеттері</i> Жіңішке таяқша тәрізді, жіпше немесе тізбектелген, өлшемдері 2-5x0,4-0,6 мкм болатын бір бірден орналасқан грамм оң бактериялар. Олардың микробтың жасушасының енінен аспайтын сопақша споралары бар. Капсула түзбейді. <i>Культуралдық қасиеттері</i> Тығыз қоректік ортада сұрғылт ақ түсті, өлшемдері орташа, мөлдір емес, шеттері толқынды дөңгелек колониялар түзеді. Сұйық қоректік ортада ортаның лайлануымен және бетінде сұрғылт ақ түсті жұқа қабықшаның түзілуімен жүреді. <i>Биохимиялық қасиеттері:</i> Каталаза, уреаза түзеді, глюкоза мен маннитолды ыдыратады, нитраттарды редуцирлейді, цитраттарды жояды және Фогес-Проскауэрге оң реакция береді, лецитиназа және гемолиз түзбейді.	Микробиологиялық әдіс, НҚ сәйкес
Қайта қалпына келу уақыты	Мөлдір емес сұйықтық, 5 мин көп емес.	НҚ сәйкес
Орташа массасы, г	5 г ± 5%	ҚР МФ I, т. 1, 2.9.5
pH	5,8-6,2	ҚР МФ I, т.1, 2.2.3
Масса біркелкілігі	1 құтының ішіндегі салмағының орташа салмағынан ауытқуы 20 құтының 18-і үшін 7%-дан аспайтын, 20-ның 2-і үшін – 15%-дан аспайтын болса рұқсат етіледі.	ҚР МФ I, т. 1, 2.9.5

22 – кестенің жалғасы

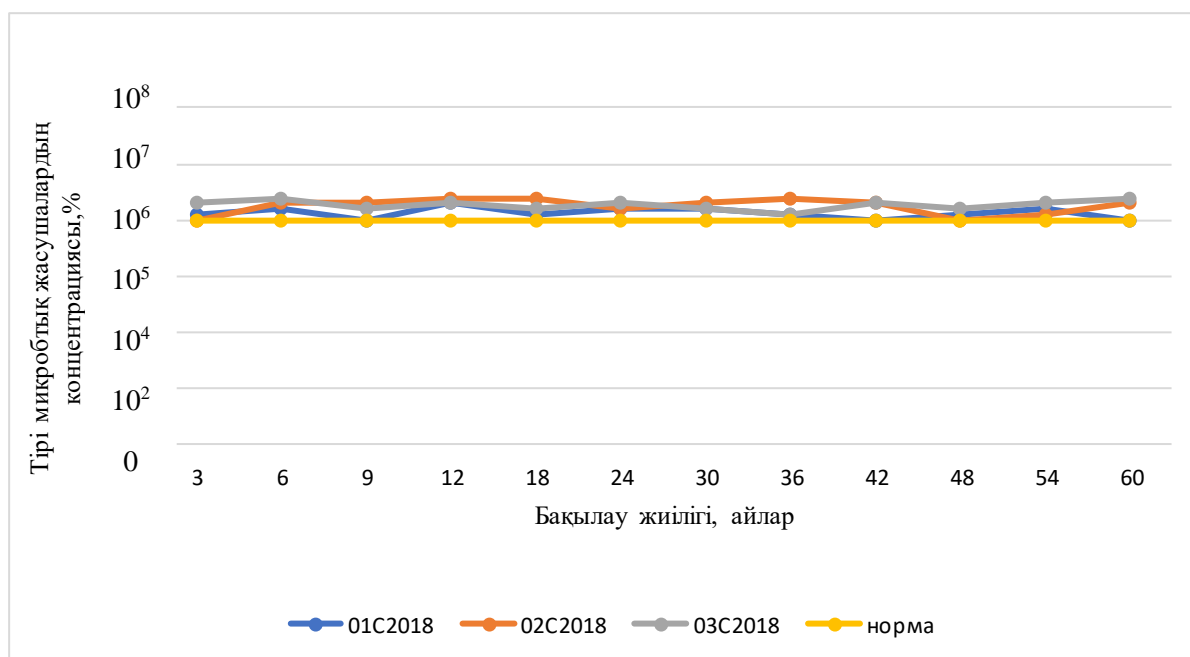
1	2	3
Микробиологиялық тазалығы	1 г препаратта басқа өміршең аэробты микроорганизмдердің болуына жол берілмейді. 1 г препаратта басқа грамм теріс бактериялардың және <i>Escherichia coli</i> болуына жол берілмейді. 1 г препаратта <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> болуына жол берілмейді. 1 г препаратта 1 г препаратта ашытқы мен зең саңырауқұлақтарының болуына жол берілмейді.	ҚР МФ I, т. 1, 2.6.12 және т. 2, 2.6.13, Ф ЕАЭО 2.3.1.4
Кептірген кездегі массасының жоғалуы, %	3,5 % көп емес	НҚ сәйкес
Сандық анықтау - <i>Bacillus subtilis</i>	1x10 ⁶ КТБ/г	НҚ сәйкес
Орамдау	1 г флаконда, қазақ, орыс тілдерінде нұсқаулықпен бірге қаптамада 10 флакон.	17768-90Е МемСТ НҚ сәйкес
Таңбалау	14192-96 МемСТ сәйкес	ҚР ДСМ № ҚР ДСМ-11 27.01.21ж., 14192-96 МемСТ
Тасымалдау	17768-90 МемСТ сәйкес	17768-90Е МемСТ ҚР ДСМ № ҚР ДСМ-19 16.02.2021ж.
Сақтау шарттары	2 ⁰ С-тан 8 ⁰ С-қа дейінгі температурада	НҚ сәйкес
Жарамдылық мерзімі	60 ай	НҚ сәйкес
Негізгі фармакологиялық әсері	Бактерияға қарсы, пробиотикалық әсерге ие	

3.7 *B. subtilis* лиофилизатының сақтау уақытындағы тұрақтылығын зерттеу және жарамдылық мерзімін анықтау

B. subtilis лиофилизатының тұрақтылығын зерттеу және сақтау мерзімдерін белгілеу «Дәрілік затты өндіруші дәрілік заттардың тұрақтылығын зерттеулерді, оларды сақтау және қайта бақылау мерзімін белгілеуді жүргізу

қағидаларын бекіту туралы» ҚР ДСМ 2020 жылғы 28 қазандағы № ҚР ДСМ-165/2020, бұйрығының талаптарына сәйкес 60 ай аралығында ұзақ мерзімді сынақтар жағдайында жүргізілді. *B. subtilis* лиофилизатының тұрақтылығын ұзақ мерзімді зерттеулер келесі параметрлердің тұрақтылығын анықтау арқылы жүргізілді: «Сипаттама», «Сәйкестендіру», «Сандық анықтау», «Кептіру кезіндегі массаның жоғалуы», «Қайта қалпына келу уақыты» және «Микробиологиялық тазалық». Сапа параметрлерін бақылау жиілігі тұрақтылықты зерттеудің бірінші жылында әр 3 ай сайын және зерттеудің екінші жылында әр 6 ай сайын жүргізілді. Тұрақтылықты сынау біріншілік қаптама тығыз бекітілген, герметикалығы қамтамасыз етілген флакондарда жүргізілді. Тұрақтылықты зерттеу нәтижелері бойынша ұзақ мерзімді сынау жүргізу шарттары 2⁰С-тан 8⁰С-қа дейінгі температурада, (60±5) % салыстырмалы ылғалдылық көрсеткішінде *B. subtilis* лиофилизатының сапа көрсеткіштері шектік мөлшерден асқан жоқ және ауытқулар болмады, бұл көрсетілген уақыт ішінде тірі микробтық жасушалардың тұрақтылығын растауға мүмкіндік берді.

Тұрақтылықты сынау шеңберінде *B. subtilis* лиофилизатының өмірге қабілеттілігін анықтау нәтижелері 21 - суретте көрсетілген.



Сурет 21 - *Bacillus subtilis* тірі микробтық жасушаларының уақытқа тәуелді кинетикалық сызығы

B. subtilis лиофилизатының тұрақтылығын зерттеу және сақтау мерзімдерін белгілеу нәтижелері 23, 24, 25 - кестелерде берілген.

Кесте 23 – *B. subtilis* лиофилизатының тұрақтылығын сынау (1 серия)

Қаптау: Тығындалған қақпағы бар флакондар Сынақ басталу мерзімі: 06.2018ж. Сынақ аяқталу мерзімі: 06.2023ж. Серия: 01С2018																
Сапа көрсеткіштері	Зерттеулер шарттары	Зерттеулер әдісі	Ауытқу нормалары	Бақылау мерзімділігі, айлар												
				0	3	6	9	12	18	24	30	36	42	48	54	60
Сипаттамасы	Температура (2 ⁰ С-тан 8 ⁰ С-қа дейін), салыстырмалы ылғалдылығы (60±5) %	НҚ сәйкес	Криссталды ұнтақ немесе крем түсті кеуекті масса. Гигроскопиялық	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес
Сәйкестендіру <i>Bacillus subtilis</i> (морфологиялық, культуралдық және биохимиялық қасиеттері)		НҚ сәйкес	<i>Морфологиялық қасиеттері</i> Жіңішке таяқша тәрізді, жіпше немесе тізбектелген, өлшемдері 2-5х0,4-0,6 мкм болатын бір бірден орналасқан грамм оң бактериялар. Олардың микробтың жасушасының енінен аспайтын сопақша споралары бар. Капсула түзбейді. <i>Культуралдық қасиеттері</i> Тығыз қоректік ортада сұрғылт ақ түсті, өлшемдері орташа, мөлдір емес, шеттері толқынды дөңгелек колониялар түзеді. Сұйық қоректік ортада ортаның лайлануымен және бетінде сұрғылт ақ түсті жұқа қабықшаның түзілуімен жүреді. <i>Биохимиялық қасиеттері:</i> Каталаза, уреаза түзеді, глюкоза мен маннитолды ыдыратады, нитраттарды редуцирлейді, цитраттарды жояды және Фогес-Проскауэрге (+), лецитиназа және гемолиз түзбейді.	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес

23 - кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Орташа массасы, г		ҚР МФ I, т. 1, 2.9.5	5 г ± 5%	5,0	5,01	5,0	5,01	5,02	5,02	5,03	5,03	5,0	5,02	5,03	5,02	5,03
pH		ҚР МФ I, т.1, 2.2.3	5,8-6,2	5.9	5.9	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	5.9	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Микробиологиялық тазалығы		ҚР МФ I, т. 1, 2.6.12 және т. 2, 2.6.13	1 г препаратта басқа өміршен аэробты микроорганизмдердің болуына жол берілмейді. 1 г препаратта басқа грамм теріс бактериялардың және <i>Escherichia coli</i> болуына жол берілмейді. 1 г препаратта <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> болуына жол берілмейді. 1 г препаратта 1 г препаратта ашытқы мен зәң саңырауқұлақтарының болуына жол берілмейді.	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес
Кептірген кездегі массасының жоғалуы, %		НҚ сәйкес	3,5 % көп емес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес
Сандық анықтау - <i>Bacillus subtilis</i>		НҚ сәйкес	1x10 ⁶ КТБ/г	1,2x 10 ⁶	1,2x 10 ⁶	1,2x 10 ⁶	1,2x 10 ⁶	1,1x 10 ⁶	1,1x 10 ⁶	1,1x 10 ⁶	1,1x 10 ⁶	1,1x 10 ⁶	1,0x 10 ⁶	1,0x 10 ⁶	1,0x 10 ⁶	1,0x 10 ⁶

Кесте 24 - *B. subtilis* лиофилизатының тұрақтылығын сынау (2 серия)

Қаптау: Тығындалған қақпағы бар флакондар Сынақ басталу мерзімі: 06.2018ж. Сынақ аяқталу мерзімі: 06. 2023ж. Серия: 02С2018																
Сапа көрсеткіштері	Зерттеулер шарттары	Зерттеулер әдісі	Ауытқу нормалары	Бақылау мерзімділігі, айлар												
				0	3	6	9	12	18	24	30	36	42	48	54	60
Сипаттамасы	Температура (2 ⁰ С-тан 8 ⁰ С-қа дейін), салыстырмалы ылғалдылығы (60±5) %	НҚ сәйкес	Криссталды ұнтақ немесе крем түсті кеуекті масса. Гигроскопиялық	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес
Сәйкестендіру <i>Bacillus subtilis</i> (морфологиялық, культуралдық және биохимиялық қасиеттері)		НҚ сәйкес	<i>Морфологиялық қасиеттері</i> Жіңішке таяқша тәрізді, жіпше немесе тізбектелген, өлшемдері 2-5х0,4-0,6 мкм болатын бір бірден орналасқан грамм оң бактериялар. Олардың микробтың жасушасының енінен аспайтын сопақша споралары бар. Капсула түзбейді. <i>Культуралдық қасиеттері</i> Тығыз қоректік ортада сұрғылт ақ түсті, өлшемдері орташа, мөлдір емес, шеттері толқынды дөңгелек колониялар түзеді. Сұйық қоректік ортада органын лайлануымен және бетінде сұрғылт ақ түсті жұқа қабықшаның түзілуімен жүреді. <i>Биохимиялық қасиеттері:</i> Каталаза, уреаза түзеді, глюкоза мен маннитолды ыдыратады, нитраттарды редуцирлейді, цитраттарды жояды және Фогес-Проскауэрге (+), лецитиназа және гемолиз түзбейді.	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес

24 – кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Орташа массасы, г		ҚР МФ I, т. 1, 2.9.5	5 г ± 5%	5,02	5,03	5,03	5,01	5,03	5,02	5,03	5,03	5,0	5,01	5,03	5,03	5,02
pH		ҚР МФ I, т.1, 2.2.3	5,8-6,2	5.9	5.9	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	5.9	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Микробиологиялық тазалығы		ҚР МФ I, т. 1, 2.6.12 және т. 2, 2.6.13	1 г препаратта басқа өміршең аэробты микроорганизмдердің болуына жол берілмейді. 1 г препаратта басқа грамм теріс бактериялардың және <i>Escherichia coli</i> болуына жол берілмейді. 1 г препаратта <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> болуына жол берілмейді. 1 г препаратта ашытқы мен зең саңырауқұлақтарының болуына жол берілмейді.	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес
Кептірген кездегі массасының жоғалуы, %		НҚ сәйкес	3,5 % көп емес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес
Сандық анықтау - <i>Bacillus subtilis</i>		НҚ сәйкес	1x10 ⁶ КТБ/г	1,2x 10 ⁶	1,2x 10 ⁶	1,2x 10 ⁶	1,2x 10 ⁶	1,1x 10 ⁶	1,1x 10 ⁶	1,1x 10 ⁶	1,1x 10 ⁶	1,1x 10 ⁶	1,0x 10 ⁶	1,0x 10 ⁶	1,0x 10 ⁶	1,0x 10 ⁶

Кесте 25 - *B. subtilis* лиофилизатының тұрақтылығын сынау (3 серия)

Қаптау: Тығындалған қақағы бар флакондар Сынақ басталу мерзімі: 06.2018ж. Сынақ аяқталу мерзімі: 06.2023ж. Серия: 03С2018																
Сапа көрсеткіштері	Зерттеулер шарттары	Зерттеулер әдісі	Ауытқу нормалары	Бақылау мерзімділігі, айлар												
				0	3	6	9	12	18	24	30	36	42	48	54	60
Сипаттамасы	Температура (2 ⁰ С-тан 8 ⁰ С-қа дейін), салыстырмалы ылғалдылығы (60±5) %	НҚ сәйкес	Криссталды ұнтақ немесе крем түсті кеукті масса. Гигроскопиялық	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес
Сәйкестендіру <i>Bacillus subtilis</i> (морфологиялық, культуралдық және биохимиялық қасиеттері)		НҚ сәйкес	<i>Морфологиялық қасиеттері</i> Жінішке таяқша тәрізді, жіпше немесе тізбектелген, өлшемдері 2-5х0,4-0,6 мкм болатын бір бірден орналасқан грамм оң бактериялар. Олардың микробтың жасушасының енінен аспайтын сопақша споралары бар. Капсула түзбейді. <i>Культуралдық қасиеттері</i> Тығыз қоректік ортада сұрғылт ақ түсті, өлшемдері орташа, мөлдір емес, шеттері толқынды дөңгелек колониялар түзеді. Сұйық қоректік ортада ортаның лайлануымен және бетінде сұрғылт ақ түсті жұқа қабықшаның түзілуімен жүреді. <i>Биохимиялық қасиеттері:</i> Каталаза, уреаза түзеді, глюкоза мен маннитолды ыдыратады, нитраттарды редуцирлейді, цитраттарды жояды және Фогес-Проскауэрге (+), лецитиназа және гемолиз түзбейді.	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес

25 – кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Орташа массасы, г		ҚР МФ I, т. 1, 2.9.5	5 г ± 5%	5,0	5,03	5,0	5,01	5,03	5,02	5,03	5,03	5,0	5,01	5,03	5,02	5,03
pH		ҚР МФ I, т.1, 2.2.3	5,8-6,2	5.9	5.9	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0	5.9	6.0	6.0	6.0	6.0	6.0
Микробиологиялық тазалығы		ҚР МФ I, т. 1, 2.6.12 және т. 2, 2.6.13	1 г препаратта басқа өміршең аэробты микроорганизмдердің болуына жол берілмейді. 1 г препаратта басқа грамм теріс бактериялардың және <i>Escherichia coli</i> болуына жол берілмейді. 1 г препаратта <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> болуына жол берілмейді. 1 г препаратта 1 г препаратта ашытқы мен зең саңырауқұлақтарының болуына жол берілмейді.	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес
Кептірген кездегі массасының жоғалуы, %		НҚ сәйкес	3,5 % көп емес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес
Сандық анықтау - <i>Bacillus subtilis</i>		НҚ сәйкес	1x10 ⁶ КТБ/г	1,2x 10 ⁶	1,2x 10 ⁶	1,2x 10 ⁶	1,2x 10 ⁶	1,2x 10 ⁶	1,2x 10 ⁶	1,1x 10 ⁶	1,1x 10 ⁶	1,1x 10 ⁶	1,0x 10 ⁶	1,0x 10 ⁶	1,0x 10 ⁶	1,0x 10 ⁶

4 ПРОБИОТИГІ БАР КОЛЛАГЕНДІ МЕМБРАНАЛАРДЫҢ ФАРМАЦЕВТИКАЛЫҚ НЕГІЗДЕМЕСІ

4.1 Пробиотиғі бар коллагенді мембраналардың оңтайлы құрамы мен ұтымды технологиясын жасау

Қазіргі таңда жараларды жергілікті емдеуге арналған дәрілік түрлердің дамуы және жетілуі барысында – биологиялық белсенді қосылыстарды эпидермиялық енгізу үшін аппликациялық таңғыштар кеңінен қолданылуда.

Жараның жазылуы көптеген физиологиялық процестерді қамтиды. Жараның жазылуында қолданылатын таңғыштардың биоүйлесімділігі, биоыдырағыштығы, кеуекті құрылымы және сәйкес механикалық қасиеттері болуы керек (Quinn et al., 1985). Жара таңғыштарына қойылатын бірқатар талаптар: 1) жара бетіне жақсы адгезиясы (жарақат бетіне жабыспай) және оны алып оңай тастау мүмкіндігі; 2) мөлдір, көрінетін және жара экссудатын толық сіңіре алу қабілеті; 3) инфекцияны болдырмау үшін бактериялық инвазияға қарсы жақсы тосқауылмен қамтамасыз етуі; 4) жақсы биоүйлесімділігі және қолжетімділігі.

Патогендік бактериялық инфекциялардан туындаған созылмалы жаралар бүкіл әлемде медициналық қауіп пен денсаулық сақтауда үлкен мәселені тудырады, өйткені бактериялар иммундық жүйемен бәсекелесіп, кейіннен тірі тіндерге еніп, жыл сайын емделудің бұзылуына, тіпті ампутацияға дейін әкеледі. Осыған орай, бактерияға қарсы таңғыштар жаралардың қайта эпителизацияның ерте кезеңінде микробтық инфекциядан қорғау үшін қажет, осылайша тіндердің терең және ауыр инфекциясының алдын алады. Қазіргі уақытта бактерияға қарсы агенттерді қосу арқылы бактерияға қарсы табиғи полимерлер негізіндегі таңғыштар сәтті қолданылуда. Дегенмен, жақсы биоүйлесімділігі бар бактерияға қарсы табиғи полимерлік материалдар салыстырмалы түрде аз, және бактерияға қарсы агенттердің тез шайылуы таңғыштардың бактерияға қарсы белсенділігін әлсіретіп қана қоймайды, сонымен қатар қауіпті жағдайларды тудыруы мүмкін. Осылайша, инфекциямен күрес және жараның жазылуын жақсарту үшін ұзақ мерзімді әсер ететін бактерияға қарсы белсенділігі бар жара таңғыштарын жасау қажеттілігі туындайды.

Фармацевтикалық технологияны дамытудың қазіргі кезеңі жаңа көмекші заттарды іздеуге және қолданыстағы көмекші заттардың қасиетін арттыруға бағытталған. Осыған байланысты көмекші заттарды таңдау олардың дәрілік заттардың әсерін ұзартуға және тиімділікті арттыруға мүмкіндік беретін дәрілік заттармен барынша ұтымды үйлесімділігін ескере отырып жүргізілуі керек.

Коллагенді фармацевтикалық технологияда қолдану оның форма түзуші қабілетіне негізделген. Ерітінділер түрінде ол майлардың, линименттердің негізі, сұйық дәрілік түрлердің пролонгаторы (тамшылар, инъекциялық

ерітінділер), қоюландырғыш және т.б. Ерітінділерді ауада кептіру кезінде мөлдір қабықшалар пайда болады, олар дәрілік қалып ретінде қолданылады. Ерітінділерді мұздатып, лиофильді кептіргеннен кейін тығыздығы коллагеннің және басқа ингредиенттердің бастапқы концентрациясына байланысты жоғары кеуекті құрылымдар (губка, мембрана) алынады. Ерітінділерді бүрку арқылы кептіру немесе құрғақ пленкаларды, губкаларды және басқа өнімдерді диспергирлеу арқылы ұнтақтар алынады, оларды дәрілік түр ретінде және басқа дәрілік қалыптарды өндіруде көмекші заттар ретінде пайдалануға болады.

Коллаген - жараларды емдеу және регенеративті медицина саласында кенінен қолданылатын табиғи полимерлердің бірі. Коллаген тіндердің жасушадан тыс матрицасының негізгі құрамдас бөлігі болып табылады және терінің барлық құрғақ заттарымен сипатталған тері деңгейінде шамамен 70-80% кездеседі. Коллагеннің жоғары кеуектілігі, сәйкес механикалық қасиеттері, белсенді заттарды тасымалдау қабілеті терінің регенерациясына жақсы ықпал етеді және жараның жазылу процесін жылдамдатады.

Жара таңғыштарының құрамына микробқа қарсы, сонымен қатар жараларды емдеуге ықпал ететін белсенділікке ие биологиялық жүйелерді қосу жаңа бағыт болып табылады.

Bacillus туысының пробиотикалық бактериялары кең ауқымды антибиотиктерді және бактериоциндерді синтездеу қабілетімен танымал [162-164]. Бұл бактериялар өндіретін биосурфактантты липопептидтер антиоксиданттық белсенділікке ие, бұл жараларды емдеуге оң ықпал етеді [165, 166]. Сонымен қатар, *Bacillus* туысының бактерияларымен синтезделген протеолитикалық ферменттер тыртықтың алдын алатын тромболитикалық әсерге, некротикалық тіндердің лизисіне және тіндердің регенерациясына оң әсер етеді [167-168]. Осыған орай, *Bacillus subtilis* (*B.subtilis*) жасушалары енгізілген табиғи полимер коллаген негізіндегі микробқа қарсы және жараны жазатын белсенділігі жоғары таңғыштың фармацевтикалық негіздемесін жасау маңызды.

Осыған орай, оңтайлы иммобилизация әдісін таңдау қажет, ең жиі қолданылатын әдіс – тасымалдаушы бетіндегі жасушалардың адсорбциясы. Бұл процесс микроорганизм мен тасымалдаушы арасындағы әртүрлі әрекеттесулерге (соның ішінде Ван-дер-Ваальс күштері, электростатикалық әсерлесу, коваленттік байланыс және гидрофобты әрекеттесу) негізделген [169, 170]. Микробтық жасушалар кеуекті немесе кеуекті емес беттерге оңай жабысады, өйткені бұл олардың өмірлік циклінің табиғи механизмі. Сондықтан иммобилизацияның жоғарыда аталған түрі ең оңай және сонымен қатар үнемді болып саналады.

Жараны жазатын таңғыштың құрамын әзірлеу үшін тіндердің регенерациясын жылдамдату мақсатында коллаген, қабынуға қарсы және

Ылғалдылығын арттыру мақсатында гиалурон қышқылы, тұрақтылығын қамтамасыз ету үшін консерванттар мен тұрақтандарғыштар енгізілді.

Мембрананың құрамын әзірлеу үшін біз жоғарыда аталған қосалқы заттардың құрамымен ерекшеленетін 6 модельді ұсынамыз (26-кесте).

Кесте 26 – Мембрананың құрам модельдері мен оларды бағалау нәтижелері

Компоненттер	Модельдер					
	1	2	3	4	5	6
<i>Белсенді заттар</i>						
<i>B. subtilis</i> 1,0x10 ⁸ КТБ	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0
<i>Көмекші затт</i>						
Коллаген (мг)	2,0	2,0	2,0	1,0	1,0	1,0
Гиалурон қышқылы (мг)	0,5	0,5	1,0	1,0	-	1,0
Натрий цитрат (мг)	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	-
Натрий хлорид (мг)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5
Спирт 96%	-	-	-	20,00	-	-
Фурацилин	-	-	-	0,20	-	-
Тазартылған су	100,0 дейін	100,0 дейін	100,0 дейін	100,0 дейін	100,0 дейін	100,0 дейін
Сыртқы түрі	1	2	3	4	5	6
	Ақшыл түсті, құрғақ, микро жарықтар байқалды	Ақшыл түсті, құрғақ, кеуекті	Ақшыл түсті, құрғақ, кеуекті	Сарғыш түсті, құрғақ, микро жарықтар байқалды	Ақшыл түсті, құрғақ, микро жарықтар байқалды	Ақшыл түсті, құрғақ, кеуекті

Зерттеу нәтижелерін органолептикалық талдау негізінде құрылымдық қасиеттері сәйкес болмауы және беттерінің тегіс емес, микрожарықтар болуына байланысты №1, №2, №4, №5, №6 модельдер зерттеуден алынды. Органолептикалық қасиеттеріне байланысты ең оңтайлы №3 модель таңдап алынды және әрі қарай зерттеуге алынды. Таңдап алынған модель өзіне тән иісі бар, құрғақ, беткейлік қабаты тегіс, өлшемі 4.0x4.0x0.5 кеуекті мембрана.

Пробиотигі бар коллагенді мембрананың құрамы

Белсенді зат:

B. subtilis

5,0 мл

1,0x10⁸ КТБ

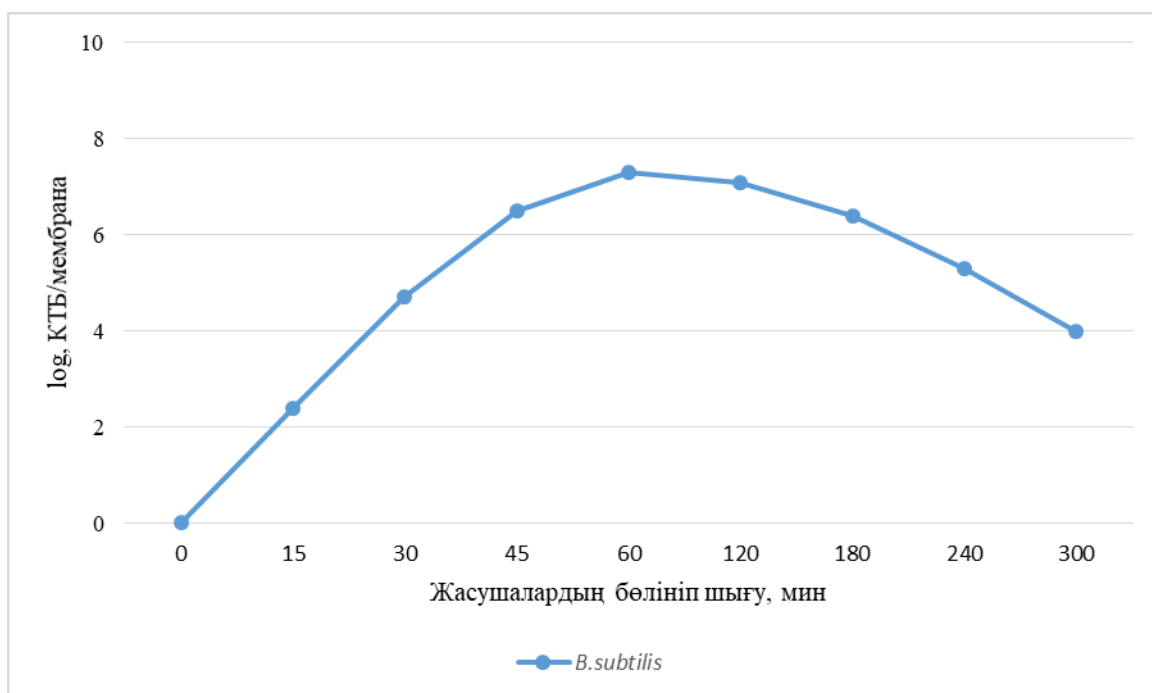
Көмекші заттар:

Коллаген	2,0 мг
Гиалурон қышқылы	1,0 мг
Натрия хлорид	1,5 мг
Натрия цитрат	0,4 мг

Әрі қарай *Bacillus subtilis* жасушаларының коллагенді мембраналардан босап шығуы анықталды.

Белсенді заттың (*B. subtilis* бактерияларының) бөліну жылдамдығы мен толықтығы, оның тасымалдаушымен байланысы туралы ақпарат алу үшін коллагенді мембраналардан бактериялардың бөлініп шығу динамикасы (5 см²) зерттелді. Оны 20 мл физиологиялық ерітіндіге салып, термостатикалық басқарылатын шайқағышта 36 °С температурада 1-5 сағат бойы инкубациялады. Содан кейін картоп-глицеринді ортаға кезекті он есе сұйылтуларды себу арқылы сынама алу жүргізілді және тірі микробтық жасушалардың саны анықталды. Алынған мәліметтер 22 - суретте көрсетілген.

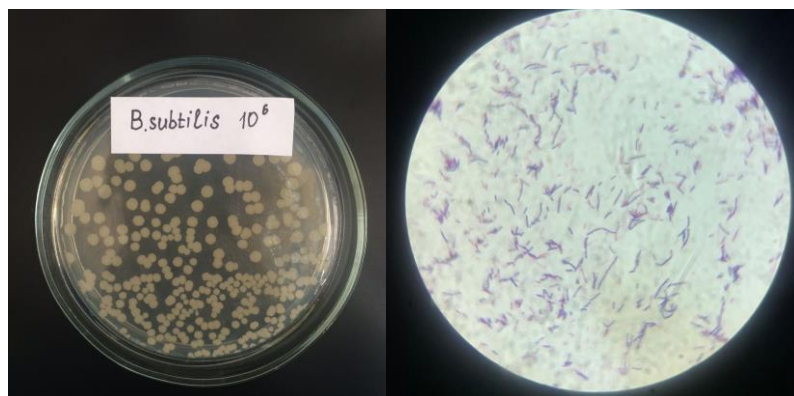
Тәжірибе басталғаннан кейін 15 минуттан кейін ортада бактерия жасушалары табылды және олардың максималды саны 45-тен 120 минутқа дейін экстракцияланды, бұл (1,5-4,1)x10⁶ КТБ/мембрана (22-сурет).



Сурет 22 - *B. subtilis* жасушаларының босап шығу кинетикасы

Жасушалардың ерітіндіге диффузиясы бактериялар санының біртіндеп азаюымен кемінде 5 сағатқа созылды. Қорытындылай келе, коллагенді мембраналар *B. subtilis* жасушаларының босап шығуын ұзартады.

Коллагенді мембраналардан бөлінген *B. subtilis* штаммы 23 - суретте көрсетілген.



Сурет 23 - Коллагенді мембранадан бөлінген *B. subtilis* штаммының культуралдық көрінісі және микроскоппен қарағандағы көрінісі (x100)

Бөлінген колониялар сұрғылт ақ түсті, өлшемдері орташа, мөлдір емес, шеттері толқынды дөңгелек құрғақ колониялар болды. Жіңішке таяқша тәрізді, жіпше немесе тізбектелген, өлшемдері болатын бір бірден орналасқан грамм оң бактериялар. Бактериялардың культуралдық қасиеттері *Bacillus* туысының бактерияларына ұқсас: грамм оң спора түзетін таяқшалар, спора түзу кезінде жасушалар ісінбейді, споралары эллипсоидты, жасуша енінен аспайды. Зерттеу нәтижелеріне сүйене отырып, *B. subtilis* бактерияларының культуралдық қасиеттері коллаген мембраналарын өндіру кезінде тұрақты болып қалатынын көрсетеді.

Коллагенді мембраналардың технологиялық үрдісінің сипаттамасы

Тиісті өндірістік тәжірибе (GMP) талаптарына сәйкес өндірістік процесс ең алдымен өндірісті санитарлық өңдеуден басталады: желдету, дезинфекциялаушы 122 ерітінділерді, өндіріс орындары мен жабдықтарды, персоналды, технологиялық киімді және тазартылған суды дайындау.

1 саты: Шикізатты дайындау. Шикізат пен негізді таразыда өлшедік. Сұйық компоненттерді өлшегіш құралдардың (колба) көмегі арқылы өлшедік. Өндіріс үрдісін бақылау: компоненттер саны, еру толықтығы, араластыру уақыты.

2 саты: Негізді дайындау. Мембрананы алу процесінде 2% коллаген ерітіндісін дайындаймыз. Өндіріс үрдісін бақылау: температура, компоненттер салмағы, араластыру уақыты, біркелкілігі, еру толықтығы.

3 саты: Гомогенизация. Ісінген массаны біртекті болғанға дейін жылдамдығы 15000 айн/мин, 30 минут біртекті масса болғанша гомогенизирлейміз. Өндіріс үрдісін бақылау: жылдамдық, уақыт.

4 саты: Флакондарға құю. Дайын массаны флакондарға құямыз. Біріншілік орамы ретінде флакондарды аламыз.

5 саты: Мұздату. Коллаген массасын -20°C температурада, 120 минут мұздатқышта қатырамыз. Өндіріс үрдісін бақылау: температура, уақыт.

6 саты: Белсенді заттардың концентратын негізге енгізу, мұздату. Қажетті *B. subtilis* суспензиясын негізге енгіземіз, -20°C температурада, 24 сағат мұздатқышта қалдырамыз. Өндіріс үрдісін бақылау: температура, компонент салмағы, араластыру уақыты, біркелкілігі, ісінуі.

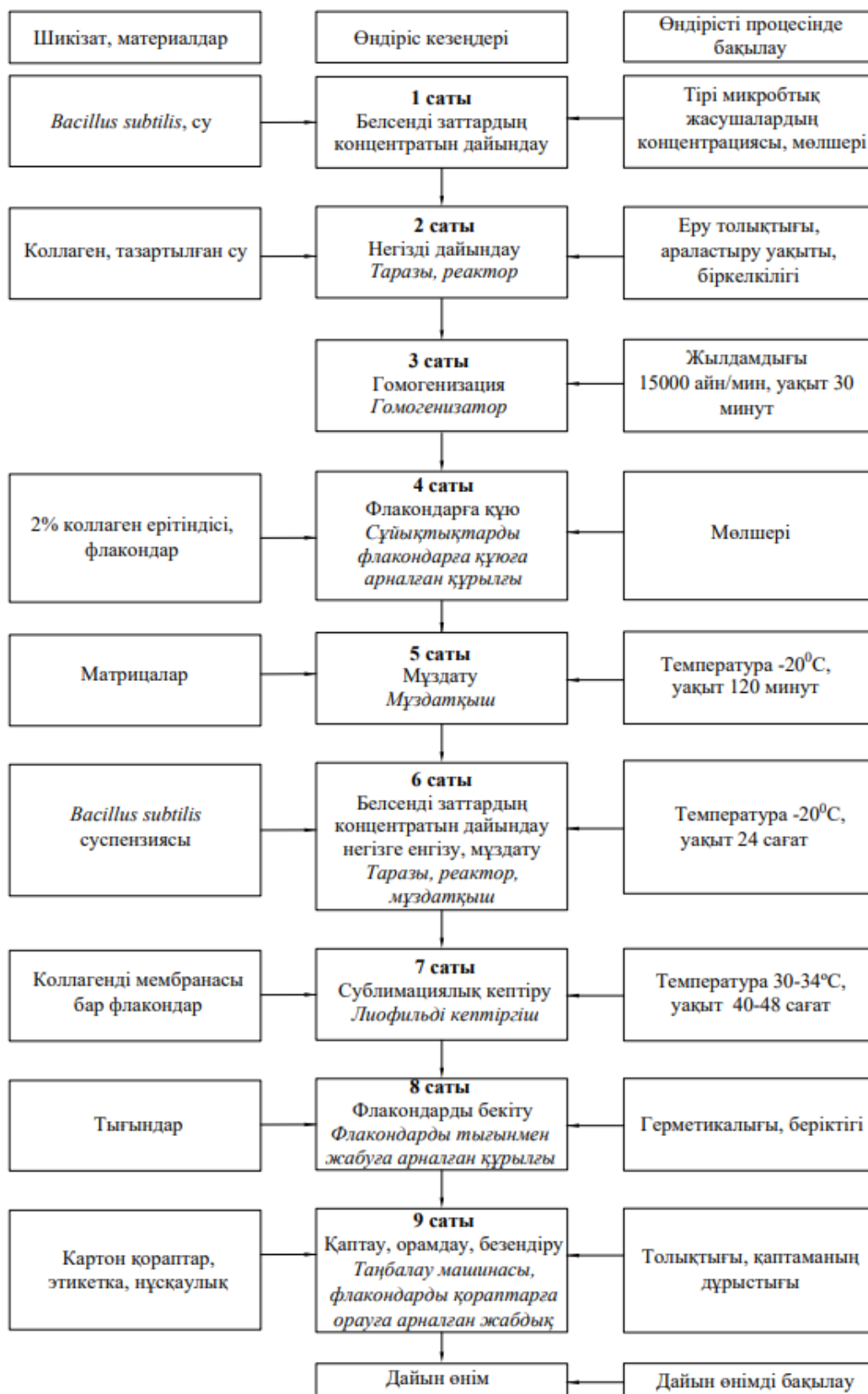
7 саты: Сублимациялық кептіру. Лиофильді кептіргіште $30-34^{\circ}\text{C}$ температурада, 40-48 сағат аралығында кептіреміз. Өндіріс үрдісін бақылау: температура, уақыт.

8 саты: Мембранасы бар флакондарды тығындау. Лиофильді кептіргіштен шығарылған өнімде сақтау кезінде ылғалданбауы үшін флакондар тез жабылады. Өндіріс үрдісін бақылау: герметикалығы, беріктігі.

9 саты: Қаптау, орамдау, безендіру. Мембраналарды қаттауды жартылай автомат машина жүргізеді. Екіншілік орамы медициналық қолдану нұсқаулығы бар картон қорабы. Екіншілік картон орамына мембранасы бар флаконды және медициналық қолдану нұсқаулығын орналастырамыз. Өндіріс үрдісін бақылау: толықтығы, қаптаманың, таңбалаудың дұрыстығы.

Дайын өнімге ҚР МФ және ҚР ДСМ 2021 жылғы 16 ақпандағы № ҚР ДСМ 20 бұйрығына сәйкес сапа спецификасы жасалды.

Пробиотигі бар коллагенді мембраналардың технологиялық сызбасы 24-суретте берілген.



Сурет 24 - Пробиотигі бар коллагенді мембраналарды алудың технологиялық сызбасы

4.2 «Бациколл» шартты атауындағы коллагенді мембраналардың сапа спецификациясын құрастыру

Пробиотиігі бар коллагенді мембраналардың сапа спецификациясын құрастыру «Дәрілік заттарды өндіруші әзірлеген және дәрілік заттарға сараптама кезінде дәрілік заттардың сапасы жөніндегі нормативтік құжатты мемлекеттік сараптама ұйымымен келісу қағидаларын бекіту туралы» ҚР ДСМ 2021 жылғы 17 ақпанда бекіткен № ҚР ДСМ-20 бұйрығы, ҚР МФ және ЕАЭО Ф, РФ МФ бойынша жүргізілді.

Пробиотиігі бар коллагенді мембраналардың сипаттамасы, сәйкестендіруі, сутектік көрсеткіші, сандық анықтау, микробиологиялық тазалығы, кептіргендегі массасының жоғалуы, ісіну дәрежесі, орамдау, таңбалау, тасымалдау, сақтау мерзімі, негізгі фармакологиялық әсері анықталынды, нәтижесі 27 - кестеде көрсетілген.

«Бациколл» шартты атаудағы коллагенді мембраналардың сапа спецификациясы құрастырылып, нормативтік құжат жобасы жасалынды (Қосымша Б).

Кесте 27 - Сапа көрсеткіштерін анықтау

Сапа көрсеткіштері	Ауытқу нормалары	Зерттеу әдістері
Сипаттамасы	Ақшыл, құрғақ, жұмсақ, өзіне тән иісі бар эластикалық кеуекті мембараналар.	НҚ сәйкес
Сәйкестендіру <i>Bacillus subtilis</i> (морфологиялық, культуралдық және биохимиялық қасиеттері)	<i>Морфологиялық қасиеттері</i> Жіңішке таяқша тәрізді, жіпше немесе тізбектелген, өлшемдері 2-5x0,4-0,6 мкм болатын бір бірден орналасқан грамм оң бактериялар. Олардың микробтың жасушасының енінен аспайтын сопақша споралары бар. Капсула түзбейді. <i>Культуралдық қасиеттері</i> Тығыз қоректік ортада сұрғылт ақ түсті, өлшемдері орташа, мөлдір емес, шеттері толқынды дөңгелек колониялар түзеді. Сұйық қоректік ортада ортаның лайлануымен және бетінде сұрғылт ақ түсті жұқа қабықшаның түзілуімен жүреді. <i>Биохимиялық қасиеттері:</i> Каталаза, уреаза түзеді, глюкоза мен маннитолды ыдыратады, нитраттарды редуцирлейді, цитраттарды жояды және Фогес-Проскауэрге оң реакция береді, лецитиназа және гемолиз түзбейді.	НҚ сәйкес
pH (потенциометрия)	5,8-6,2	ҚР МФ I, т.1, 2.2.3

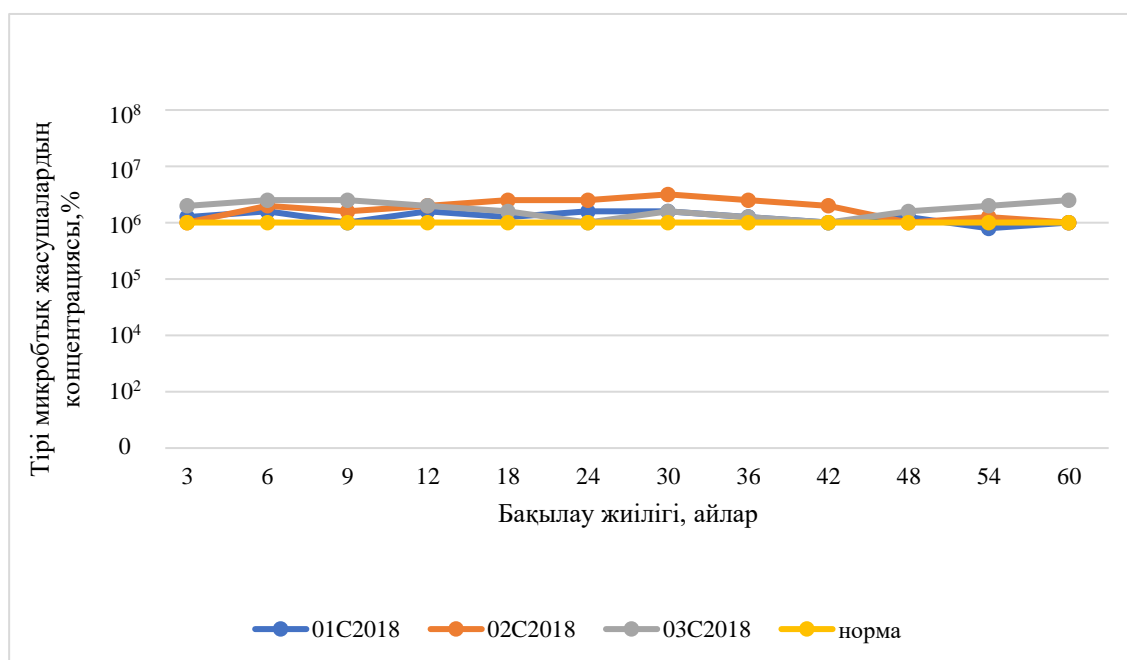
27 – кестенің жалғасы

1	2	3
Сандық анықтау: - <i>B. subtilis</i>	1x10 ⁶ КТБ/г	Микробиологиялық әдіс, НҚ сәйкес
Микробиологиялық тазалығы	1 г препаратта басқа өміршең аэробты микроорганизмдердің болуына жол берілмейді. 1 г препаратта басқа грамм теріс бактериялардың және <i>Escherichia coli</i> болуына жол берілмейді. 1 г препаратта <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> болуына жол берілмейді. 1 г препаратта 1 г препаратта ашытқы мен зең саңырауқұлақтарының болуына жол берілмейді.	ҚР МФ I, т. 1, 2.6.12 және т. 2, 2.6.13, Ф ЕАЭО 2.3.1.4
Кептіргендегі массасының жоғалуы	15% көп емес	НҚ сәйкес
Ісіну дәрежесі, г	2,5	НҚ сәйкес
Орамдау	Картон қораптарға салынған, шыны флакондарда 40×40 мм өлшемдері	17768-90Е МемСТ НҚ сәйкес
Таңбалау	Флаконның этикеткасында мембрананың аты, серия №, дайындау уақыты, сақтау мерзімі, сақтау шарттары.	ҚР ДСМ № ҚР ДСМ-11 27.01.21ж., 14192-96 МемСТ
Тасымалдау	17768-90 МемСТ сәйкес	17768-90Е МемСТ ҚР ДСМ № ҚР ДСМ-19 16.02.2021ж.
Сақтау шарттары	Күннің тікелей көзінен қорғалған, температурасы (2 ⁰ С-тан 8 ⁰ С-қа дейін) және ауа ылғалдылығы 60±5 % аспайтын жерде сақталуы тиіс.	НҚ сәйкес ДСМ № ҚР ДСМ-19
Сақтау мерзімі	5 жыл	НҚ сәйкес
Негізгі фармакологиялық әсері	Жараны жазатын, микробтарға қарсы	НҚ сәйкес

4.3 Пробиотигі бар коллагенді мембраналардың сақтау уақытындағы тұрақтылығын зерттеу және жарамдылық мерзімін анықтау

Пробиотигі бар коллагенді мембрананың тұрақтылығын зерттеу және сақтау мерзімдерін белгілеу «Дәрілік затты өндіруші дәрілік заттардың

тұрақтылығын зерттеулерді, оларды сақтау және қайта бақылау мерзімін белгілеуді жүргізу қағидаларын бекіту туралы» ҚР ДСМ 2020 жылғы 28 қазандағы № ҚР ДСМ-165/2020, бұйрығының талаптарына сәйкес 60 ай аралығында ұзақ мерзімді сынақтар жағдайында жүргізілді. Коллагенді мембраналардың тұрақтылығын ұзақ мерзімді зерттеулер келесі параметрлердің тұрақтылығын анықтау арқылы жүргізілді: «Сипаттама», «Сәйкестендіру», «Сандық анықтау», «Кептіру кезіндегі массаның жоғалуы» және «Микробиологиялық тазалық». Сапа параметрлерін бақылау жиілігі тұрақтылықты зерттеудің бірінші жылында әр 3 ай сайын және зерттеудің екінші жылында әр 6 ай сайын жүргізілді. Тұрақтылықты сынау біріншілік қаптама тығыз бекітілген, герметикалығы қамтамасыз етілген флакондарда жүргізілді. Тұрақтылықты зерттеу нәтижелері бойынша ұзақ мерзімді сынау жүргізу шарттары 2⁰С-тан 8⁰С-қа дейінгі температурада, (60±5) % салыстырмалы ылғалдылық көрсеткішінде пробиотигі бар коллагенді мембраналардың сапа көрсеткіштері шектік мөлшерден асқан жоқ және ауытқулар болмады, бұл көрсетілген уақыт ішінде белсенді компоненттердің тұрақтылығын растауға мүмкіндік берді. Тұрақтылықты сынау шеңберінде коллагенді мембраналардың құрамындағы *B. subtilis* штаммының өмірге қабілеттілігін анықтау нәтижелері 25 - суретте көрсетілген.



Сурет 25 - Коллагенді мембраналардың құрамындағы *B. subtilis* жасушаларының жалпы мөлшерінің уақытқа тәуелді кинетикалық қисығы

Пробиотигі бар коллагенді мембраналардың тұрақтылығын анықтау нәтижелері 33, 34, 35- кестелерде көрсетілген.

Кесте 28 - Пробиотигі бар коллагенді мембраналардың сақтау уақытындағы тұрақтылығын зерттеу нәтижелері (1серия)

Қаптау: Тығындалған қақпағы бар флакондар Сынақ басталу мерзімі: 06.2018ж. Сынақ аяқталу мерзімі: 06.2023ж. Серия: 01С2018																
Сапа көрсеткіштері	Зерттеулер шарттары	Зерттеулер әдісі	Ауытқу нормалары	Бақылау мерзімділігі, айлар												
				0	3	6	9	12	18	24	30	36	42	48	54	60
Сипаттамасы	Температура (2 ⁰ С-тан 8 ⁰ С-қа дейін), салыстырмалы ылғалдылығы (60± 5) %	НҚ сәйкес	Ақшыл, құрғақ, жұмсақ, өзіне тән иісі бар кеуекті мембраналар. Формасы домалақ, шеттері тегіс.	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес
Сәйкестендіру <i>Bacillus subtilis</i> (морфологиялық, культуралдық және биохимиялық қасиеттері)		НҚ сәйкес	<p><i>Морфологиялық қасиеттері</i> Жінішке таяқша тәрізді, жіпше немесе тізбектелген, өлшемдері 2-5х0,4-0,6 мкм болатын бір бірден орналасқан грамм оң бактериялар. Олардың микробтың жасушасының енінен аспайтын сопақша споралары бар. Капсула түзбейді.</p> <p><i>Культуралдық қасиеттері</i> Тығыз қоректік ортада сұрғылт ақ түсті, өлшемдері орташа, мөлдір емес, шеттері толқынды дөңгелек колониялар түзеді. Сұйық қоректік ортада ортаның лайлануымен және бетінде сұрғылт ақ түсті жұқа қабықшаның түзілуімен жүреді.</p> <p><i>Биохимиялық қасиеттері:</i> Каталаза, уреаза түзеді, глюкоза мен маннитолды ыдыратады, нитраттарды редуцирлейді, цитраттарды жояды және Фогес-Проскауэрге оң реакция береді, лецитиназа және гемолиз түзбейді.</p>	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес

28 - кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	
Орташа массасы, г		ҚР МФ I, т. 1, 2.9.5	0,50±5%	0.50	0.49	0.50	0.51	0.50	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	
pH		ҚР МФ I, т.1, 2.2.3	5,8-6,2	6.1	6.2	6.1	6.3	6.1	6.5	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	
Микробиологиялық тазалығы		ҚР МФ I, т. 1, 2.6.12 және т. 2, 2.6.13	1 г препаратта басқа өміршең аэробты микроорганизмдердің болуына жол берілмейді. 1 г препаратта басқа грамм теріс бактериялардың және <i>Escherichia coli</i> болуына жол берілмейді. 1 г препаратта <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> болуына жол берілмейді. 1 г препаратта 1 г препаратта ашытқы мен зен саңырауқұлақтарының болуына жол берілмейді.	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес
Сандық анықтау, - <i>Bacillus subtilis</i>		НҚ сәйкес	1x10 ⁶ КТБ/г	1,5* 10 ⁶	1,5* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶
Кептіргендегі массасының жоғалуы		НҚ сәйкес	15% көп емес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес

Кесте 29 - Пробиотигі бар коллагенді мембраналардың сақтау уақытындағы тұрақтылығын зерттеу нәтижелері (2 серия)

Қаптау: Тығындалған қақпағы бар флакондар Сынақ басталу мерзімі: 06.2018ж. Сынақ аяқталу мерзімі: 06.2023ж. Серия: 02С2018																
Сапа көрсеткіштері	Зерттеулер шарттары	Зерттеулер әдісі	Ауытқу нормалары	Бақылау мерзімділігі, айлар												
				0	3	6	9	12	18	24	30	36	42	48	54	60
Сипаттамасы	Температура (2 ⁰ С-тан 8 ⁰ С-қа дейін), салыстырмалы ылғалдылығы (60± 5) %	НҚ сәйкес	Ақшыл, құрғақ, жұмсақ, өзіне тән иісі бар кеуекті мембраналар. Формасы домалақ, шеттері тегіс.	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес
Сәйкестендіру <i>Bacillus subtilis</i> (морфологиялық, культуралдық және биохимиялық қасиеттері)		НҚ сәйкес	<i>Морфологиялық қасиеттері</i> Жінішке таяқша тәрізді, жіпше немесе тізбектелген, өлшемдері 2-5х0,4-0,6 мкм болатын бір бірден орналасқан грамм оң бактериялар. Олардың микробтың жасушасының енінен аспайтын сопақша споралары бар. Капсула түзбейді. <i>Культуралдық қасиеттері</i> Тығыз қоректік ортада сұрғылт ақ түсті, өлшемдері орташа, мөлдір емес, шеттері толқынды дөңгелек колониялар түзеді. Сұйық қоректік ортада ортаның лайлануымен және бетінде сұрғылт ақ түсті жұқа қабықшаның түзілуімен жүреді. <i>Биохимиялық қасиеттері:</i> Каталаза, уреаза түзеді, глюкоза мен маннитолды ыдыратады, нитраттарды редуцирлейді, цитраттарды жояды және Фогес-Проскауэрге оң реакция береді, лецитиназа және гемолиз түзбейді.	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес

29 - кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Орташа массасы, г		ҚР МФ I, т. 1, 2.9.5	0,50±5%	0.50	0.49	0.50	0.53	0.50	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51
pH		ҚР МФ I, т.1, 2.2.3	5,8-6,2	6.1	6.2	6.1	6.3	6.1	6.5	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2
Микробиологиялық тазалығы		ҚР МФ I, т. 1, 2.6.12 және т. 2, 2.6.13	1 г препаратта басқа өміршен аэробты микроорганизмдердің болуына жол берілмейді. 1 г препаратта басқа грамм теріс бактериялардың және <i>Escherichia coli</i> болуына жол берілмейді. 1 г препаратта <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> болуына жол берілмейді. 1 г препаратта 1 г препаратта ашытқы мен зәң саңырауқұлақтарының болуына жол берілмейді.	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес
Сандық анықтау, - <i>Bacillus subtilis</i>		НҚ сәйкес	1x10 ⁶ КТБ/г	1,5* 10 ⁶	1,5* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶
Кептіргендегі массасының жоғалуы		НҚ сәйкес	15% көп емес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес

Кесте 30 - Пробиотигі бар коллагенді мембраналардың сақтау уақытындағы тұрақтылығын зерттеу нәтижелері (3 серия)

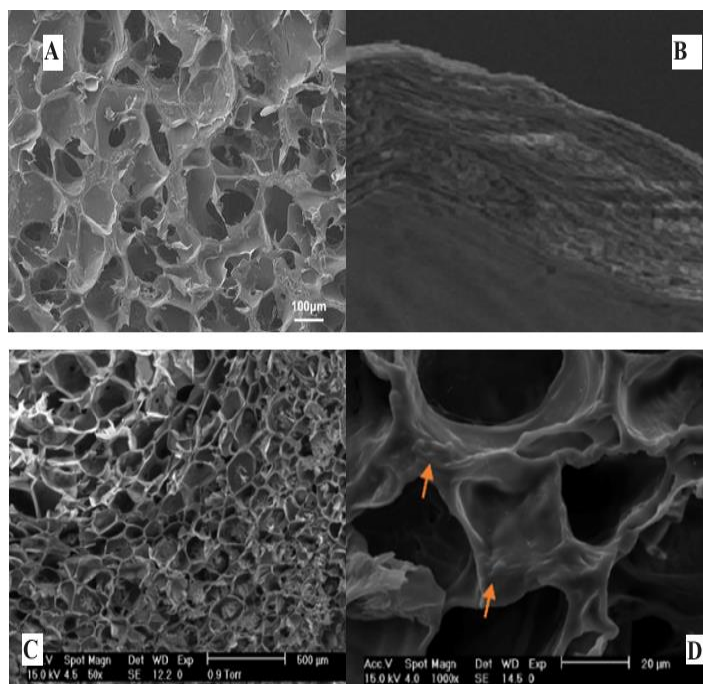
Қаптау: Тығындалған қақпағы бар флакондар Сынақ басталу мерзімі: 06.2018ж. Сынақ аяқталу мерзімі: 06.2023ж. Серия: 03С2018																
Сапа көрсеткіштері	Зерттеулер шарттары	Зерттеулер әдісі	Ауытқу нормалары	Бақылау мерзімділігі, айлар												
				0	3	6	9	12	18	24	30	36	42	48	54	60
Сипаттамасы	Температура (2 ⁰ С-тан 8 ⁰ С-қа дейін), салыстырмалы ылғалдылығы (60± 5) %	НҚ сәйкес	Ақшыл, құрғақ, жұмсақ, өзіне тән иісі бар кеуекті мембраналар. Формасы домалақ, шеттері тегіс.	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес
Сәйкестендіру <i>Bacillus subtilis</i> (морфологиялық, культуралдық және биохимиялық қасиеттері)		НҚ сәйкес	<p><i>Морфологиялық қасиеттері</i> Жінішке таяқша тәрізді, жіпше немесе тізбектелген, өлшемдері 2-5х0,4-0,6 мкм болатын бір бірден орналасқан грамм оң бактериялар. Олардың микробтың жасушасының енінен аспайтын сопақша споралары бар. Капсула түзбейді.</p> <p><i>Культуралдық қасиеттері</i> Тығыз қоректік ортада сұрғылт ақ түсті, өлшемдері орташа, мөлдір емес, шеттері толқынды дөңгелек колониялар түзеді. Сұйық қоректік ортада ортаның лайлануымен және бетінде сұрғылт ақ түсті жұқа қабықшаның түзілуімен жүреді.</p> <p><i>Биохимиялық қасиеттері:</i> Каталаза, уреаза түзеді, глюкоза мен маннитолды ыдыратады, нитраттарды редуцирлейді, цитраттарды жояды және Фогес-Проскауэрге оң реакция береді, лецитиназа және гемолиз түзбейді.</p>	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес

30 - кестенің жалғасы

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Орташа массасы, г		ҚР МФ I, т. 1, 2.9.5	0,50±5%	0.50	0.49	0.50	0.53	0.50	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51
pH		ҚР МФ I, т.1, 2.2.3	5,8-6,2	6.1	6.2	6.1	6.3	6.1	6.5	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2	6.2
Микробиологиялық тазалығы		ҚР МФ I, т. 1, 2.6.12 және т. 2, 2.6.13	1 г препаратта басқа өміршен аэробты микроорганизмдердің болуына жол берілмейді. 1 г препаратта басқа грамм теріс бактериялардың және <i>Escherichia coli</i> болуына жол берілмейді. 1 г препаратта <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>Pseudomonas</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> болуына жол берілмейді. 1 г препаратта 1 г препаратта ашытқы мен зәң саңырауқұлақтарының болуына жол берілмейді.	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес
Сандық анықтау, - <i>Bacillus subtilis</i>		НҚ сәйкес	1x10 ⁶ КТБ/г	1,5* 10 ⁶	1,5* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶	1,4* 10 ⁶
Кептіргендегі массасының жоғалуы		НҚ сәйкес	15% көп емес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес	сәй кес

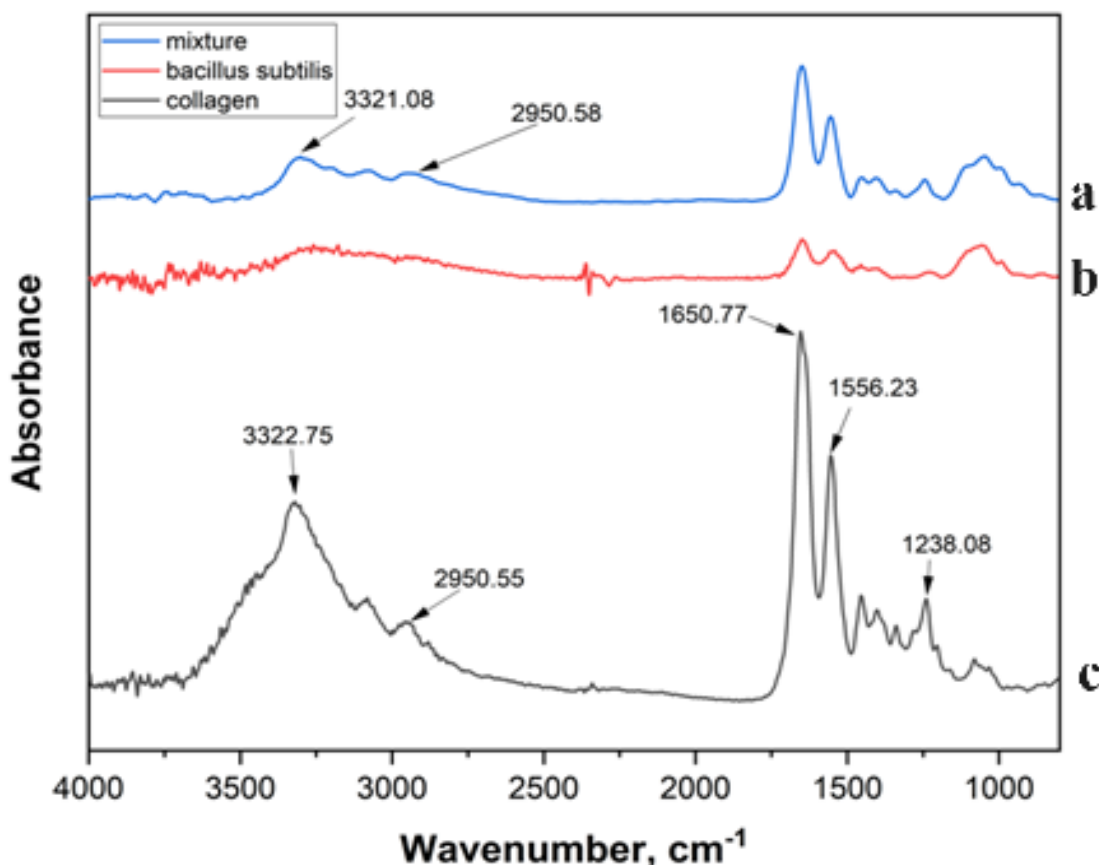
4.5 Мембраналардың химиялық құрылымы және олардың компоненттері арасындағы өзара байланысын анықтау

Лиофилденген коллаген, коллаген/*B.subtilis* макроқұрылымы және кеуектерінің өлшемі сканерлеуші электрондық микроскопия (SEM) көмегімен талданды. А, В суреттерінде пробиотиктерсіз мембраналардың көлденең қимасының және бойлық кесінділерінің SEM микросуреттері көрсетілген. Сонымен қатар, С, D суреттерінде коллаген/*B.subtilis* мембрананың микросуреттері көрсетілген. Коллаген мембранасы өзара байланысқан, жақсы қалыптасқан микроканалдармен және қабырғасының қалыңдығының жұқалығымен өзара байланысты, жоғары макрокеукті макроқұрылымды көрсетеді. Макрокеукті құрылымның қалыптасуы мұз кристалдарының (үлкен және кіші) түзілуіне байланысты болады. Мұздату кезінде бөлінетін немесе жинақталған, кейіннен лиофилденген зат мұз кристалдары бар микроканалдары бар кеукті макроқұрылымның пайда болуына әкеледі. Микроарналардың көлемінің азаюы өзара байланысқан, өзара байланысқан және жоғары макрокеукті макроқұрылымды құрайтын мұз кристалдарының қиындығының артуына байланысты. 26 суретте макроқұрылымның қабырғасында ұсталған пробиотикалық бактериялардың болуын көрсетеді, бұл лиофилизация процесінен кейін мембрана кеуектерінің ішінде бактериялардың сақталуын растайды.



Сурет 26 - Коллаген және коллаген/ *B.subtilis* микроқұрылымы
Коллаген мембранасының бойлық кесіндісі (А), масштаб жолағы 100 мкм; көлденең қиманың микросуреттері (В); коллаген/*B. subtilis* мембранасының бойлық кесіндісі (С), масштаб жолағы 500 мкм; коллаген/*B. subtilis* көлденең қимасы (D), масштаб жолағы 20 мкм

Мембраналардың химиялық құрылымы және олардың компоненттері арасындағы өзара байланысы ИҚ спектроскопиясы арқылы анықталды. Функционалды топтар pike MIRacle ATR аксессуарымен жабдықталған Cary 660 FTIR (Agilent, Санта-Клара, Калифорния, АҚШ) көмегімен жасалған Фурье түрлендіретін инфрақызыл спектроскопиямен сипатталды (шағылыстың толық әлсіреу режимі). Спектрлер бөлме температурасында 800-ден 4000 cm^{-1} -ге дейінгі толқындық сандар диапазонында өлшенді.



Сурет 27 - ИҚ-Фурье-коллаген спектрлері, *Bacillus subtilis* және олардың қоспалары

Синтезделген материалдардың химиялық құрылымдық құрамы FTIR талдауы арқылы дәл анықталды. Коллаген, *Bacillus subtilis* және олардың қоспаларының FTIR спектрлері 27-суретте көрсетілген. Коллаген спектрлері жануарлардан алынған I типті коллаген спектрлеріне ұқсас және сәйкес келеді (Rizk & Mostafa, 2016). Амид А жолағы $3322,75 \text{ cm}^{-1}$ кезінде байқалды, ал амид В жолағы $2950,55 \text{ cm}^{-1}$ кезінде байқалды. Амид А жолағы сутегі байланысының пайда болуына әкелуі мүмкін ОН тобының болуын растайды. Амид Б

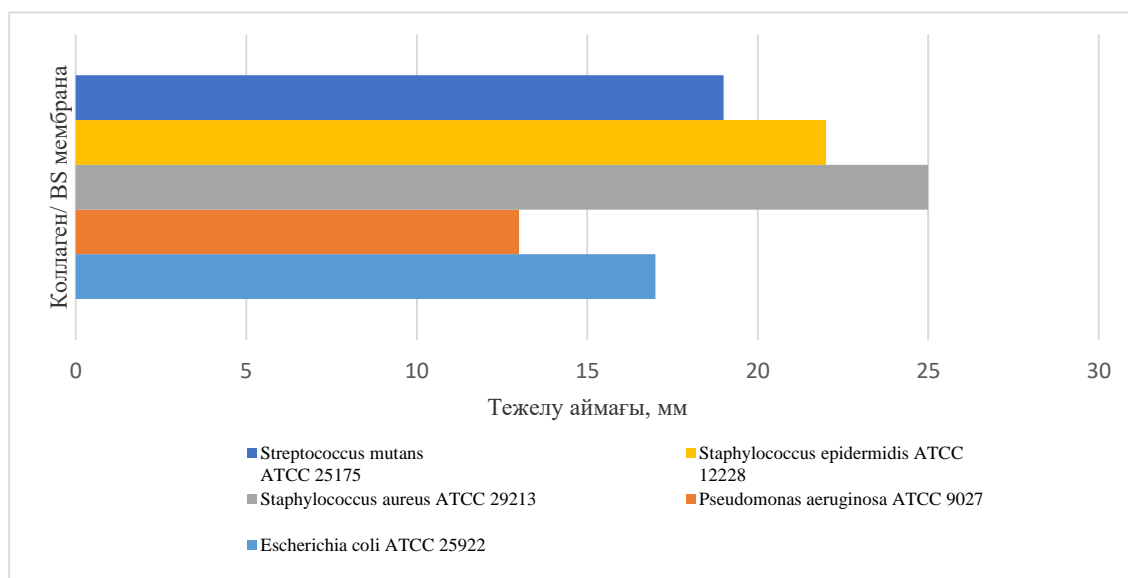
асимметриялық алкил аймағының болуын дәлелдейді -СН. Коллагендегі ақуыздың екіншілік құрылымын амид I растады, ол 1650, 77 см⁻¹ -де тіркелген айқын шыңды көрсетеді. Коллагеннің қос спиральды құрылымы 1556, 26 см⁻¹ максимумы бар амид II жолағымен расталды, ал жаңадан синтезделген коллагеннің үш спиральды құрылымы 1238, 08 см⁻¹ амид III шыңымен расталды. Жалпы, зерттеушілердің нәтижелеріне сәйкес, FTIR синтезделген коллагеннің спиральды құрылымы бар екенін дәлелдеді (Ahmed et al., 2020; Riaz et al., 2018). 27b суретте *Bacillus subtilis* спектрі цитозин, аденин немесе хинин сияқты қосылыстарда, сондай-ақ екіншілік аминдерде болатын NH топтарының валенттік тербелісіне байланысты болуы мүмкін шамамен 3320 см⁻¹ ерекше әлсіз сіңіру жолағын көрсетеді. 1650,77 см⁻¹ -ден 1080 см⁻¹ -ге дейінгі диапазонда байқалған әлсіз сіңіру жолақтары расталған коллаген спектрімен бірдей үлгіге ие болды. Синтезделген бактериялардың химиялық құрамына қарамастан, жасушаның ИҚ спектрі негізінен 1650,77 см⁻¹ (амид I), 1556, 23 см⁻¹ (амид II) және 1238,08 см⁻¹ (амид III) сіңіру жолақтарымен сипатталды (Филип және басқалар, 2004). *Bacillus subtilis* және коллаген қоспасының ИҚ спектрлері таза коллагенмен салыстырғанда А және В амидтерінің шыңдарында төмен қарқындылық жолақтарын көрсетеді. Бұл төмендеу қосымша тербелмелі режимдер мен спектрлік ерекшеліктерді әкелетін әлсіз *Bacillus subtilis* сіңіру жолақтарының болуымен түсіндіріледі. Коллаген мен *Bacillus subtilis* арасындағы өзара әрекеттесу тербелмелі режимдерді тежейді, бұл қарқындылықтың төмендеуіне әкеледі. А және В амидтерінің шыңдары, әдетте, белгілі бір тербеліс режимдеріне байланысты коллагеннің FTIR спектрлерінде байқалады. *Bacillus subtilis* болуы кедергі тудырады, бұл шыңдардың қарқындылығын төмендетеді. Сонымен қатар, спектрлерде таза коллаген спектрлерінде де, *Bacillus subtilis* спектрлерінде де байқалған бірдей толқындық сандарда пайда болатын сіңіру шыңдары бар I, II және III амидтер үшін байқалатын сіңіру жолақтары байқалды. 27 - суретте көрсетілгендей сіңіру жолақтарының бұл ұлғаюы коллагеннің табиғатының жоғары қарқындылығымен түсіндіріледі.

4.5 Коллагенді/*B.subtilis* мембраналардың бактерияға қарсы белсенділігін анықтау

Ашық жара микробтардың колонизациясы үшін қолайлы орта болып табылады. Антибиотиктер бактериялық инфекциялардың дамуын болдырмауда кеңінен қолданылады. Жара инфекцияларын емдеуге арналған бірқатар антибиотиктер бар, алайда оларды қайталап қолдану бактериялық төзімділікке алып келуі мүмкін. Жара инфекцияларына жауапты бактериялардың 70 %-дан астамы клиникалық түрде қолданылатын антибиотиктердің кем дегенде біреуіне төзімділік көрсетеді. Антибиотиктерге төзімді бактериялардың саны үлкен қарқынмен өсуде, яғни бактериялар табиғи және синтетикалық

антибиотиктердің көпшілігіне төзімді болып, жаңа терапевтік баламалардың шұғыл қажеттілігіне әкеледі. *Bacillus* тектес пробиотикалық бактериялар қалыпты тері микробиотасын сақтай отырып, инфекцияның алдын алу мүмкіндігін көрсетеді. Жалпы алғанда, жұқтырған жаралардың көпшілігі полимикробты болып табылады және әдетте сыртқы ортада табылған патогендік микробтармен немесе шырышты қабаттарда немесе теріде болатын эндогендік микробтармен ластанған. Жараның пайда болуының бастапқы кезеңдерінде грамм-оң микроорганизмдер, атап айтқанда *S. aureus* және т.б. кейінгі кезеңдерінде грамм теріс *Escherichia coli* мен *P. aeruginosa* табылды, олар терінің терең қабаттарына еніп, тіндердің елеулі зақымдануын тудырады. Сондықтан бұл бактерия түрлеріне *Bacillus* бактерияларының антагонистік әсерінің жоғары екендігін ескере отырып, коллаген/*B.subtilis* мембраналарының антагонистік әсерін анықтадық.

Коллаген/ *B.subtilis* мембраналарының антагонистік белсенділігі агардағы диффузия әдісімен анықталды. Ол үшін *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 және *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 эталондық штаммдары суспензиясы алдын ала егілген агар ортасының бетіне коллаген/ *B.subtilis* дискілері орналастырылды, микроағзалардың тежелу аймақтары өлшенді. Коллаген/*B.subtilis* мембраналары *Escherichia coli* ATCC 25922 – 17 мм, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027 – 13 мм, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 – 25 мм, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 - 22 мм, *Streptococcus mutans* ATCC 25175 - 19 мм тежелу аймақтарын көрсетті. Нәтижелері 28 - суретте көрсетілген.



Сурет 28 – Коллаген/ *B.subtilis* мембраналарының микроорганизмдердің эталондық штаммдарына қарсы микробтық әсері

4.6 *Bacillus subtilis* штаммының зиянсыздығын, вируленттілігін, уыттылығын, токсигенділігін анықтау

Клиникалық емес зерттеулер Б. Атчабаров атындағы іргелі және қолданбалы медицина ғылыми-зерттеу институтының базасында *Bacillus spp.* штаммдарының зиянсыздығы, вируленттілігі, уыттылығы, токсигенділігі және пробиотигі бар коллагенді мембраналардың жараны жазатын әсері анықталды. Эксперименттік модельдер топтарға бөлу мен зертханалық жануарларды таңдау А.Н. Мироновтың редакциясымен шыққан «Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств» нұсқаулығына сәйкес жасалды. Тәжірибелік зерттеулер тексіз зертханалық ақ тышқандар мен теңіз шошқаларына жүргізілді. Зертханалық жануарлар алдын ала 2 апталық карантиннен өткен С.Ж. Асфендияров атындағы ҚазҰМУ виварийінен алынды. Зертханалық жануарларды ұстау виварийдің стандартты бақыланатын жағдайында табиғи жарық режимінде, қалыпты тамақ рационын сақтай отырып, арнайы торларда жүзеге асырылды. Топтарға бөлу әр сериядағы жануарлардың массасына байланысты іріктелді. Таңбалау түрлі-түсті белгілерді қолдану арқылы жүзеге асырылды. Барлық зерттеулер С.Д. Асфендияров атындағы ҚазҰМУ Жергілікті этикалық комиссиясының отырысы мақұлдаған зерттеу хаттамасына және «Тәжірибелер үшін немесе өзге де ғылыми мақсаттарда пайдаланылатын омыртқалы жануарларды қорғау туралы» Еуропалық конвенцияның қағидаттарына сәйкес жүргізілді.

а) Зиянсыздығын тексеру

Сынақтар карантиннен өткен және бұрын эксперименттерде қолданылмаған, салмағы 14-16 г болатын бір жыныстағы 5 сау тексіз ақ тышқандарға жүргізілді. Жануарларды ұстау және азықтандыру виварийдің стандартты бақыланатын жағдайында, табиғи жарық режимінде жүргізілді. Тәжірибеге дейін жануарлардың салмағы өлшенді және сынақтан 3-5 сағат бұрын тамақтандырылмады. Жануардың жағдайы тегіс және жылтыр түктеріне, көздерінің таза болуына, мұрыннан, көзден, ауыздан бөліністің болмауына, тәбеттің жақсы болуына, қағуға және басқа тітіркендіргіштерге қалыпты реакция болуына байланысты тексеріліп отырды. 1 топтың жануарларына тазартылған су, 2 топқа сыналатын препараттың дозасы бір жануарға 0,5 мл (10^9 КТБ/0,5мл) көлемде, 3 топқа сыналатын препараттың дозасы бір жануарға 0,5 мл (10^{10} КТБ/0,5мл), 4 топқа сыналатын препараттың дозасы бір жануарға 0,5 мл (10^{11} КТБ/0,5мл) болатындай, әр тышқанның асқазанына бір рет шприцке арналған арнайы саптаманың көмегімен, 0,1 мл/с жылдамдықпен енгізілді. 5 тәулік бойы жануарлар бақылауға алынды, нәтижесінде өлім болған жоқ. Зерттеу нәтижелері 31 кестеде көрсетілген.

Кесте 31 – Зиянсыздықты тексеру кезіндегі жауарлар тобы

1- топ (бақылау тобы)	2- топ (10^9 КТБ/0,5мл)	3 -топ (10^{10} КТБ/0,5мл)	4- топ (10^{11} КТБ/0,5мл)	Өлім саны
5/0	5/0	5/0	5/0	0

б)Вируленттілігін тексеру

Вируленттілікті зерттеу тексіз ақ тышқандарға зерттелетін препараттың сынақ дозаларын бір рет құрсақішілік енгізу арқылы жүзеге асырылады. Тәжірибеде 1 сынақ дозасына 10 тышқан қолданылады. Сынақтан бұрын тышқандардың топтық дене салмағы анықталады. Оларды тамақтандыру мен ауыз сумен қамтамасыз ету қалыпты жағдайда жүргізілді. Жануардың жағдайы тегіс және жылтыр түктеріне, көздерінің таза болуына, мұрыннан, көзден, ауыздан бөліністің болмауына, тәбеттің жақсы болуына, қағуға және басқа тітіркендіргіштерге қалыпты реакция болуына байланысты тексеріліп отырды. 1 топтың жануарларына тазартылған су, 2 топқа сыналатын препараттың дозасы бір жануарға 0,5 мл (10^8 КТБ/0,5мл) көлемде, 3 топқа сыналатын препараттың дозасы бір жануарға 0,5 мл (10^9 КТБ/0,5мл), 4 топқа сыналатын препараттың дозасы бір жануарға 0,5 мл (10^{10} КТБ/0,5мл) болатындай, тышқандарға бір рет шприцке арналған арнайы саптаманың көмегімен, 0,1 мл/с жылдамдықпен құрсақішілік енгізілді. 7 тәулік бойы жануарлар бақылауға алынды, бақылау мерзімі аяқталғаннан кейін тышқандардың топтық дене салмағы анықталды. Нәтижесінде өлім болған жоқ, зерттеу нәтижелері 32 кестеде көрсетілген.

Кесте 32 - Вируленттілігін тексеру кезіндегі жауарлар тобы

1- топ (бақылау тобы)	2- топ (10^8 КТБ/0,5мл)	3 -топ (10^9 КТБ/0,5мл)	4- топ (10^{10} КТБ/0,5мл)	Өлім саны
10/0	10/0	10/0	10/0	0

в)Уыттылығын тексеру

Уыттылық зерттеу тексіз ақ тышқандарға зерттелетін препараттың сынақ дозаларын бір рет құрсақішілік енгізу арқылы жүзеге асырылады. Тәжірибеде бір сынақ дозасы үшін 10 тышқан қолданылады. Тәжірибеге дейін жануарлардың топтық салмағы өлшенеді. Оларды тамақтандыру мен ауыз сумен қамтамасыз ету қалыпты жағдайда жүргізілді. Жануардың жағдайы тегіс

және жылтыр түктеріне, көздерінің таза болуына, мұрыннан, көзден, ауыздан бөліністің болмауына, тәбеттің жақсы болуына, қағуға және басқа тітіркендіргіштерге қалыпты реакция болуына байланысты тексеріліп отырды. 1 топтың жануарларына тазартылған су, 2 топқа сыналатын препараттың дозасы бір жануарға 0,5 мл ($0,5 \times 10^9$ КТБ/0,5 мл) көлемде, 3 топқа сыналатын препараттың дозасы бір жануарға 0,5 мл ($1,0 \times 10^9$ КТБ/0,5мл), 4 топқа сыналатын препараттың дозасы бір жануарға 0,5 мл ($2,0 \times 10^9$ КТБ/0,5мл) болатындай, тышқандарға бір рет шприцке арналған арнайы саптаманың көмегімен, 0,1 мл/с жылдамдықпен құрсақішілік енгізілді. 5 тәулік бойы жануарлар бақылауға алынды, бақылау мерзімі аяқталғаннан кейін тышқандардың топтық дене салмағы анықталды. Нәтижесінде өлім болған жоқ, зерттеу нәтижелері 33- кестеде көрсетілген.

Кесте 33 – Уыттылығын тексеру кезіндегі жауарлар тобы

1- топ (бақылау тобы)	2- топ ($0,5 \times 10^9$ КТБ/0,5мл)	3 -топ ($1,0 \times 10^9$ КТБ/0,5мл)	4- топ ($2,0 \times 10^9$ КТБ/0,5мл)	Өлім саны
10/0	10/0	10/0	10/0	0

з)Токсигенділігін тексеру

Токсигенділігін зерттеу тексіз ақ тышқандарға зерттелетін препараттың сынақ дозаларын бір рет құрсақішілік енгізу арқылы арқылы жүзеге асырылады.

Тәжірибеде бір сынақ дозасы үшін 10 тышқан қолданылады. Тәжірибеге дейін жануарлардың топтық салмағы өлшенеді. Оларды тамақтандыру мен ауыз сумен қамтамасыз ету қалыпты жағдайда жүргізілді. Жануардың жағдайы тегіс және жылтыр түктеріне, көздерінің таза болуына, мұрыннан, көзден, ауыздан бөліністің болмауына, тәбеттің жақсы болуына, қағуға және басқа тітіркендіргіштерге қалыпты реакция болуына байланысты тексеріліп отырды. 1 топтың жануарларына тазартылған су, 2 топқа сыналатын препараттың дозасы бір жануарға 0,1 мл көлемде, 3 топқа сыналатын препараттың дозасы бір жануарға 0,5 мл, 4 топқа сыналатын препараттың дозасы бір жануарға 1,0 мл болатындай, тышқандарға бір рет шприцке арналған арнайы саптаманың көмегімен, 0,1 мл/с жылдамдықпен құрсақішілік енгізілді. 5 тәулік бойы жануарлар бақылауға алынды, бақылау мерзімі аяқталғаннан кейін тышқандардың топтық дене салмағы анықталды. Нәтижесінде өлім болған жоқ, зерттеу нәтижелері 34 - кестеде көрсетілген.

Кесте 34 – Токсигенділігін тексеру кезіндегі жауарлар тобы

1- топ (бақылау тобы)	2- топ (0,1мл)	3 -топ (0,5мл)	4- топ (1,0мл)	Өлім саны
10/0	10/0	10/0	10/0	0

4.7 Пробиотигі бар коллагенді мембраналардың жараны жазатын әсерін тексеру

Коллаген/*B.subtilis* мембраналарының жараны жазатын фармакологиялық әсерін анықтау үшін салмағы (400,0±20,0) г болатын теңіз шошқаларының тәжірибелік шартты түрде таза жазық 2,0x2,0 см кесілген жараларына зерттеу жүргізілді.

Коллаген/*B.subtilis* мембраналарының жазық жараларды емдеуге әсері 20 теңіз шошқаларына 4 топқа (әрқайсысы 5 жануар) бөлінген, ем жүргізілген және ем жүргізілмеген топтарды салыстыру арқылы зерттелді. Теңіз шошқаларындағы жараларды емдеу күніне бір рет жара беттеріне коллаген мембраналарын қолдану арқылы ашық әдіспен жүргізілді. Зерттелетін коллаген және коллаген/*B.subtilis* мембраналарының емдік тиімділігі жара бетінің ауданы мен жазылу уақытына байланысты бағаланды. Бұл тәжірибелердің нәтижелері 35 -кестеде берілген.

Кесте 35 - Жануарлардың тәжірибелік топтары мен теңіз шошқаларының кесілген жаралар ауданының мөлшері (мм²)

Жануарлардың тәжірибелік топтары	Қабылдаған ем	Жануарлар саны
1 топ – бақылаушы	Ем жүргізілмеген	5
2 топ - зерттелетін	Коллаген мембраналары	5
3 топ - зерттелетін	Коллаген/ <i>B.subtilis</i> мембраналары	5
4 топ - салыстырмалы препарат	Метилурацил жақпа майы	5

Алынған зерттеу нәтижелері бойынша, жараны жазатын, тері тіндерінің регенерациясын қалпына келтіретін Метилурацил жақпа майымен емделген жануарлардың жараларының жазылу уақыты 9 күн болды, сонымен қатар коллаген және *Bacillus subtilis* бар мембрана жараларды емдеудің ең үлкен белсенділігіне ие болды. Таза коллагенмен ем жүргізілген жануарлар тобының барлық жануарларының жараларының жазылуы уақыты 12 күн болды. Зерттеу нәтижелері 36 – кестеде көрсетілген.

Кесте 36 - Жануарлардың кесілген жаралар ауданының мөлшері мен жазылу күндері

Жануарлар тобы	Ем ұзақтығы, күндері						
	0	3	6	9	12	14	21
Ем жүргізілмеген (бақылаушы)	2x2	2,0x1,9	1,8x1,7	1,8x1,6	1,7x1,6	1,0x1,1	0
Коллаген мембранасы	2x2	1,6x1,8	1,4x1,6	1,0x0,8	0	0	0
Коллаген/ <i>B.subtilis</i> мембранасы	2x2	1,4x1,3	1,0x0,8	0	0	0	0
Метилурацил жақпа майы	2x2	1,0x1,2	0,8x0,5	0	0	0	0



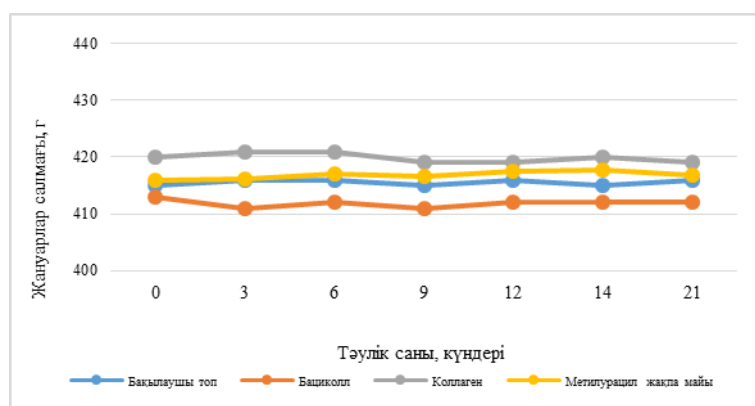
(a)



(б)

Сурет 29 - Жараны жазатын әсерінің теңіз шошқаларына зерттелуі

Барлық топ жануарларының дене салмағының өзгеруі 30 - суретте көрсетілген.



Сурет 30 - Жараны жазатын әсерін зерттеудегі теңіз шошқаларының салмағының көрсеткіштері

4.8 Пробиотигі бар коллагенді мембраналарды өндірудің технико-экономикалық негіздемесі

Пробиотигі бар коллагенді мембрананың технико-экономикалық негіздемесі жүргізілді. Бациколл шартты атауындағы коллагенді мембраналарды өндіру жобасын іске асыру «Антиген» ЖШС ғылыми өндірістік базасында жүзеге асыру көзделіп отыр (37 - кесте).

Кесте 37 – Бациколл шартты атауындағы коллагенді мембрананың технико-экономикалық негіздемесі

№	Материалдың атауы	Өлшем бірлігі	Шығыстар нормасы, г	Бағасы (тенге)	Құны (тенге)
НЕГІЗГІ ШИКІЗАТ					
1	<i>Bacillus</i> биомассасы	кг	30	80 000	2 400 000
2	Коллаген	кг	50	38 548	1 927 375
3	Гиалурон қышқылы	кг	20	45 990	919 800
4	Натрий цитраты	кг	5	1220	6100
5	Натрий хлориді	кг	15	735	11 025
6	Тазартылған су	л	1000	40	40 000
Барлығы негізгі шикізат					5 304 300
ҚОСЫМША МАТЕРИАЛДАРЫ					
1	Шыны құтылар	шт	10 000	30	300 000
2	Қораптар	шт	10 000	50	500 000
3	Этикетка	дана	10 000	5	50 000
4	Басқа да қосымша материалдар			100 000	100 000
Барлығы қосымша материалдар					950 000
БАСҚА ДА ӨНДІРІСТІК ШЫҒЫНДАР					
1	Еңбекақы төлеу қоры				190 000
2	Коммуналдық төлемдер				120 000
3	Логистика				550 000
4	Басқа да қосымша шығындар				500 000
Барлығы басқа да өндірістік шығындар					1 360 000
БАРЛЫҒЫ					7 614 300
ТОЛЫҒЫМЕН ӨЗІНДІК ҚҰНЫ					
Өндірістік құны					7 614 300
Административтік шығындар				30%	2 284 290
Коммерциялық шығындар				20%	1 522 860
1					2
ТОЛЫҚ ӨЗІНДІК ҚҰНЫ					11 421 450

37 – кестенің жалғасы

1		2
Бір өнімнің өзіндік құны		1142
САТУ ШАРТЫНЫҢ БАҒАСЫ		
Толық өзіндік құны		11 421 450
Ең төменгі пайда (рентабельділігі)	30%	3 426 435
10 000 БІРЛІК ӨНІМГЕ ШАҚҚАНДАҒЫ ЕҢ ТӨМЕНГІ ЕСЕПТЕУ БАҒАСЫ		14 847 885
Бір бірлік өнімнің құны		1484

Бір өнім бірлігінің бөлшек сауда бағасы 30% рентабельділікпен есептегенде – 1483 теңгені құрады. 30% таза пайда және 10 000 бірлік өнімнің құны – 11 421 450 тг болғанда жобаның өзін өзі өтеу мерзімі 2 жыл 8 ай болды.

Осыған орай, пробиотигі бар коллагенді мембрананың өндіріс жағдайында өндірудің орындылығын және жүргізілген қаржылық талдау әзірленген жобаның жоғары кірістілігін көрсетті.

ҚОРЫТЫНДЫ

Диссертациялық жұмыс С.Ж. Асфендияров атындағы «Қазақ ұлттық медицина университеті» КеАҚ (Алматы қ., Қазақстан Республикасы), Б. А. Атчабаров атындағы «Іргелі және қолданбалы медицина ғылыми зерттеу институты» (Алматы қ., Қазақстан Республикасы) және Гданьск медициналық университеті (Гданьск қ., Польша), Антиген ғылыми-өндірістік кәсіпорыны, әл-Фараби атындағы Қазақ Ұлттық университетінің Физика-химиялық зерттеу және талдау орталығының базаларында орындалды.

Диссертациялық жұмыс нәтижесінде жоғары продуцентті қасиетке ие, *Bacillus spp.* штаммдары таза күйінде бөлініп алынып, олардың морфологиялық, культуралдық, биохимиялық, молекулалық генетикалық қасиеттері анықталды, 8 бацилла штаммдарының нуклеотидтік талдауға негізделген 16S рРНҚ гендерінің тізбегі бойынша *Bacillus subtilis* O-3 (BSS11), *Bacillus subtilis* Md1-42 (BSS17), *Bacillus subtilis* Khozestan2 (BSS19), *Bacillus thuringiensis* F3 (BSS25), *Bacillus toyonensis* FORT 102 (BSS21), *Bacillus acidiproducens* NiuFun (BSS16), *Bacillus cereus* WAB2133 (BSS13), *Bacillus safensis* AS-08 (BSS12) штаммдарына сәйкестендірілді және 16S рРНҚ гендік тізбегінің нәтижелері Ұлттық биотехнологиялық ақпарат орталығы (NCBI) GenBank дерекқорына сақталды.

Bacillus spp. штаммдарының грамм оң және грамм теріс бактерияларға (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus group B*, *Streptococcus mutans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes*, *E.coli*, *Serratia marcescens*, *Proteus Vulgaris*) және ашытқы саңырауқұлақтарының штаммдарына (*Candida albicans*, *Candida krusei*) қарсы жоғары белсенділік көрсететіні анықталды. Пенициллин G (PEN, 10 мкг/диск), ампициллин (AMP, 10 мкг/диск), амоксициллин (АМОХ, 30 мкг/диск), амоксициллин-клавулан қышқылы (АМС, 30 мкг/диск), карбенициллин (САР, 100 мкг/диск), клоксациллин (СХ, 5 мкг/диск), эритромицин (ЕРО, 15 мкг/диск), азитромицин (АЗМ, 15 мкг/диск), цефепим (FEP, 30 мкг/диск), цефепим/клавулановая кислота (FEC-40 мкг/диск), цефалатин (KF, 30 мкг/диск), цефотаксим (СТХ, 30 мкг/диск), гентамицин (СН, 120 мкг/диск), стрептомицин (STR, 10 мкг/диск), тобрамицин (ТОВ, 10 мкг/диск), тетрациклин (ТЕТ, 30 мкг/диск) антибиотиктеріне қарсы жоғары сезімталдық көрсетті, полимиксин (РВ, 300 ӘБ/диск) және бацитромицин (В, 10 мкг/диск) антибиотиктеріне төзімді екенін көрсетті.

Bacillus spp. штаммдарының метаболомикалық құрамын газды хромато – масс спектрометрия (Agilent MSD ChemStation) әдісі арқылы анықталынды. ГХ-МС деректерін талдау негізінде олардың көпшілігі алкалоидтар, күрделі эфирлер, эфирлер және фенолды қосылыстар сияқты ұшпа заттарды құрады. Күрделі эфирлер мен эфирлерден басқа, *Bacillus* бактерияларының құрамында спирттер, кетондар, май қышқылдары және хош иісті қосылыстар сияқты

әртүрлі кластарға жататын ұшпа қосылыстар түзетіні анықталды. Сонымен қатар, қауіпсіздігін бақылау мақсатында, зиянсыздығы, вируленттілігі, уыттылығы, токсигенділігі анықталды, Экономикалық жәрдемдесу және даму ұйымының (OECD) модификацияланған жіктемесіне сәйкес уыттылықтың V класына, яғни, іс жүзінде улы емес заттарға жатқызылды.

Зерттеу нәтижесінде алынған пробиотикалық қасиетке ие штамм негізінде «Бациколл» шартты атаудағы коллагенді мембраналардың оңтайлы құрамы мен ұтымды технологиясы құрастырылып, ҚР МФ талаптарына сәйкес НҚ жобасы жасалынды және «Бациколл» шартты атауы берілді. Алынған мембраналардың сипаттамасы, сәйкестендіруі, сандық анықталуы, микробиологиялық тазалығы сонымен қатар, басқа да сапа көрсеткіштері анықталды. Алынған өнімнің тұрақтылығы зерттелінді, тұрақтылықты зерттеу нәтижелері бойынша ұзақ мерзімді сынау жүргізу шарттары 2⁰С-тан 8⁰С-қа дейінгі температурада, (60±5) % салыстырмалы ылғалдылық көрсеткішінде пробиотигі бар коллагенді мембраналардың сапа көрсеткіштері шектік мөлшерден асқан жоқ және ауытқулар болмады, бұл көрсетілген уақыт ішінде белсенді компоненттердің тұрақтылығын растауға мүмкіндік берді.

«Бациколл» шартты атаудағы мембрананың жараны жазатын фармакологиялық әсері айқындалды. Алынған зерттеу нәтижелері бойынша, жараны жазатын, тері тіндерінің регенерациясын қалпына келтіретін Метилурацил жақпа майымен емделген және *Bacillus subtilis* бар мембранамен ем жүргізілген жануарлар жараларының жазылу уақыты 9 күн болды және жараларды емдеудің ең үлкен белсенділігіне ие болды.

«Бациколл» шартты атаудағы коллагенді мембрананың технико-экономикалық негіздемесі жүргізілді, нәтижесінде бір өнім бірлігінің бөлшек сауда бағасы 30% рентабельділікпен есептегенде – 1483 теңгені құрады. 30% таза пайда және 10 000 бірлік өнімнің құны – 11 421 450 тг болғанда жобаның өзін өзі өтеу мерзімі 2 жыл 8 ай болды.

Осыған орай, «Бациколл» шартты атаудағы коллагенді мембрананың өндіріс жағдайында өндірудің орындылығын және жүргізілген қаржылық талдау әзірленген жобаның жоғары кірістілігін көрсетті.

ҚОЛДАНЫЛҒАН ӘДЕБИЕТТЕР ТІЗІМІ

- 1 Мемлекет басшысының 2020 жылғы 1 қыркүйектегі Қазақстан халқына «Жаңа жағдайдағы Қазақстан: іс-қимыл кезеңі» атты Жолдауы
URL: <https://adilet.zan.kz/kaz/docs/K2000002020>.
- 2 Қазақстан Республикасы Премьер-Министрінің 2020 жылғы 6 қазандағы № 132- өкімі «Фармацевтика және медицина өнеркәсібін дамыту жөніндегі 2020 - 2025 жылдарға арналған кешенді жоспарды бекіту туралы»
URL: <https://adilet.zan.kz/kaz/docs/R2000000132>.
- 3 Қазақстан Республикасы Үкіметінің 2018 жылғы 20 желтоқсандағы № 846 қаулысы «Қазақстан Республикасының өңдеу өнеркәсібін дамытудың 2023 – 2029 жылдарға арналған тұжырымдамасын бекіту туралы»
URL: <https://adilet.zan.kz/kaz/docs/P1800000846>.
- 4 Қазақстан Республикасы Үкіметінің 2021 жылғы 12 қазандағы № 725 қаулысы «"Дені сау ұлт" әрбір азамат үшін сапалы және қолжетімді денсаулық сақтау" ұлттық жобасын бекіту туралы»
URL: <https://adilet.zan.kz/kaz/docs/P2100000725>.
- 5 Baruzzi F., Quintieri L., Morea M., Caputo L. Antimicrobial Compounds Produced by *Bacillus* spp. and Applications in Food // A. Méndez, Ed. Formatex Microbiology Series Publication, Spain: Formatex. – 2011. – P. 1102–1111.
- 6 Грязнева Т.Н. Биологически активные вещества, продуцируемые бактериями рода *Bacillus* // Лечащий врач. – 2013. – № 4. – С. 54–63.
- 7 Abdelnasser S.M., M. Yahya S.M., Mohamed W.F., Asker M.M., Abu Shady H.M., Mahmoud M.G., Gadallah M.A. Antitumor Exopolysaccharides Derived from Novel Marine *Bacillus*: Isolation, Characterization Aspect and Biological Activity // Asian Pac J Cancer Prev. – 2017. – Vol. 18(7). – P. 1847-1854.
- 8 Осипова И.Г., Михайлова Н.А., Сорокулова И.Б. и др. Споровые пробиотики // Журн. микробиол. – 2003. – № 3. – С. 113-119
- 9 Bilal M., Si W., Barbe F., Chevaux E., Sienkiewicz O., Zhao X. Effects of novel probiotic strains of *Bacillus pumilus* and *Bacillus subtilis* on production, gut health, and immunity of broiler chickens raised under suboptimal conditions // Poult Sci. – 2021. – Vol. 100(3). – P. 100871.
- 10 Jeżewska-Fraćkowiak J. et al. The promises and risks of probiotic *Bacillus* species // Acta Biochim Pol. – 2018. – Vol. 65(4). – P. 509-519.
- 11 Kritas S.K., Morrison R.B. Evaluation of probiotics as a substitute for antibiotics in a large pig nursery // Vetern Rec. – 2005. – Vol. 156. – P. 447–448.
- 12 Hosoi T., Hirose R., Saegusa S., et al. Cytokine responses of human intestinal epithelial-like Caco-2 cells to the nonpathogenic bacterium *Bacillus subtilis* (natto) // Int J Food Microbiol. – 2003. – Vol. 82. – P. 255–264.
- 13 Lilly D.M., Stillwell R.H. Probiotics: growth promoting factors produced by microorganisms // Science. 1965. – №147. – P.747-748.

- 14 Fuller R. Probiotics in man and animals // J. Appl Bacteriol. –1989. № 66. – P.365-378.
- 15 Guarner F., Schaafsma G. J. Probiotics// Int J food Microbiol. –1998. № 39. – P. 237-238.
- 16 Конь И.Я. Пробиотические и кисломолочные продукты в питании детей раннего возраста // Лечащий врач. – 2007. - № 1. С. 38-46.
- 17 Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization FAO/WHO. Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria. 2001. <https://www.researchgate.net/publication>.
- 18 Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization FAO/WHO. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food; Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food: London, Ontario, Canada, 2002. <https://www.researchgate.net/publication>.
- 19 John I. Allen, Linda A. Lee. Terri D.A., Richard Fedorak, Probiotics: What They Are and What They Can Do for You//The American Gastroenterological Association. – 2008. – №4. – p. 16.
- 20 Walker R., Buckley M.. Probiotic microbes: the scientific basis. // Applied and Environmental Microbiology. A report from the American Academy of Microbiology. – 2006. – 22 p.
- 21 Holzapfel W.H., Haberer P., Geisen R. et al. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition // Am. J. Clin. Nutr. - 2001. – Vol. 73. – P. 365-373
- 22 Андреева И.В. Современные доказательные данные эффективности применения *Lactobacillus rhamnosus* GG и *Bifidobacterium lactis* Bb-12 в педиатрической практике // Вопросы современной педиатрии. –2011. Т.10. –№ 1. С.50-57.
- 23 Arab J. World Gastroenterology Organization practice guideline: Probiotics and prebiotics // Gastroenterology. – 2009; –№10 (1). – С. 33–42.
- 24 Гришель А.И, Кишкурно Е.П. Пробиотики и их роль в современной медицине // Вестник фармации – 2009. –№ 1 (43). – С.1-4.
- 25 Камалова А.А. Обоснование и результаты применения пробиотиков при гастродуоденальной патологии // Практическая медицина –2011. – № 1 (49). – С.86-88.
- 26 Бондаренко В.М., Грачева Н.М., Мацулевич Т.В., Воробьев А.А. Микрoэкологические изменения кишечника и их коррекция с помощью лечебно-профилактических препаратов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колонопроктологии–2003. –Приложение – №20. – С.66-76.
- 27 Мазанкова Л.Н., Лыкова Е.А. Пробиотики: характеристика препаратов и выбор в педиатрической практике // Детские инфекции. –2004. –№1. – С.18-23

- 28 Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Joint FAO/WHO (Food and Agriculture Organization/World Health Organisation)/Working Group. London, Ontario, Canada, 2002
[https://www.scirp.org/\(S\(lz5mqp453edsnp55rrgjt55.\)\)](https://www.scirp.org/(S(lz5mqp453edsnp55rrgjt55.))).
- 29 Ускова М.А. Изучение свойств пробиотических молочнокислых бактерий как биологически активных компонентов пищи: автореф. канд.биол. наук. – М., –2010. –28 с.
- 30 Dunne C. Adaptation of bacteria to the intestinal niche: probiotics and gut disorder *Inflamm. Bowel Dis.*, 2001.– P. 136-145.
- 31 Modler H.W. , McKellar R.C. , Yaguchi M. , Bifidobacteria and Bifidogenic Factors *Can. Inst. Food. Sci. Technol. J.*, – 1990. – №23 (1) – P. 29-41.
- 32 Зрячкин Н.И. Новый подход к классификации пребиотиков, пробиотиков и синбиотиков //Фарматека. – 2007. – №2. – С.58.
- 33 Han S.K. , Shin Y.J. , Lee D.Y. , *et al.* Lactobacillus rhamnosus HDB1258 modulates gut microbiota-mediated immune response in mice with or without lipopolysaccharide-induced systemic inflammation *BMC Microbiol.*, – 2021. – №21 (1) – P. 1-15.
- 34 Jang H.J. , Kim J.H. , N.-K. Lee, H.D. Paik Inhibitory effects of Lactobacillus brevis KU15153 against Streptococcus mutans KCTC 5316 causing dental caries *Microb. Pathog.*, – 2021. –№.157. – P. 104938.
- 35 Chandrashekar P. , Minoeei F. , Arreguin W. , Masigol M. , Steinbach-Rankins J.M. , Perspectives on existing and novel alternative intravaginal probiotic delivery methods in the context of bacterial vaginosis infection *AAPS J.*, –2021. – № 23 (3) – P. 1-16.
- 36 Callewaert C. , Knudsen N., Karoglan A., Güel M.I, Paetzold B. Skin microbiome transplantation and manipulation: current state of the art *Comput. Struct. Biotechnol. J.*, –2021. –№19. –P. 624-631.
- 37 Cassani L. , Gomez-Zavaglia A. , Simal-Gandara J. Technological strategies ensuring the safe arrival of beneficial microorganisms to the gut: From food processing and storage to their passage through the gastrointestinal tract *Food Res. Int.*, –2020. –№.129. – P. 108852.
- 38 Feng K. , Huang R. , Wu R. , *et al.* A novel route for double-layered encapsulation of probiotics with improved viability under adverse conditions *Food Chem.*, – 2020. –№.310. – P. 125977.
- 39 Wilkinson M.G. Flow cytometry as a potential method of measuring bacterial viability in probiotic products: a review *Trends Food Sci. Technol.*, – 2018. №78. – P. 1-10
- 40 Ta L.P. , Bujna E. , Antal O. , *et al.* Effects of various polysaccharides (alginate, carrageenan, gums, chitosan) and their combination with prebiotic saccharides (resistant starch, lactosucrose, lactulose) on the encapsulation of probiotic bacteria Lactobacillus casei 01 strain *Int. J. Biol. Macromol.*, –2021. –

№.183 –P.1136-1144.

41 Xiao Y., Han C., Yang H., Liu M., Meng X., Liu B., Layer (whey protein isolate) -by-layer (xanthan gum) microencapsulation enhances survivability of *L. bulgaricus* and *L. paracasei* under simulated gastrointestinal juice and thermal conditions *Int. J. Biol. Macromol.*, –2020. –№.148. – P.238-247.

42 Yasmin I., Saeed M., Pasha I., Zia M.A. Development of whey protein concentrate-pectin-alginate based delivery system to improve survival of *B. longum* BL-05 in simulated gastrointestinal conditions *Probiotics Antimicrob. Proteins*, 11 (2) (2019), pp. 413-426.

43 Bhattarai D.P., Aguilar L.E., Park C.H., Kim C.S. A review on properties of natural and synthetic based electrospun fibrous materials for bone tissue engineering *Membranes (Basel)*, – 2018. – №.8 (3). – 62 p.

44 Shahriar S.M.S., Mondal J., Hasan M.N., Revuri V., Lee D.Y., Lee Y.K. Electrospinning nanofibers for therapeutics delivery *Nanomaterials*, –2019. – №.9 (4). – 532 p.

45 Afzaal M., Saeed F., M.U., Arshad M.T., Nadeem M., Saeed T., Tufail The effect of encapsulation on the stability of probiotic bacteria in ice cream and simulated gastrointestinal conditions *Probiotics Antimicrob. Proteins*. – 2019. – №.11 (4). – P. 1348-1354.

46 Stojanov S., Berlec A. Electrospun nanofibers as carriers of microorganisms, stem cells, proteins, and nucleic acids in therapeutic and other applications *Front. Bioeng. Biotechnol.*, – 2020. – №8. – P. 1-16

47 Yao M., Chen J., Li L. Ameliorating DSS-induced colitis in mice using a *Lactobacillus salivarius* li01 encapsulated delivery system (P20–026-19) *Curr. Dev. Nutr.*, – 2019. – №3 (1). – 2000500 p.

48 Zupančič Š., Rijavec T., Lapanje A., Petelin M., Kristl, J., Kocbek P. Nanofibers with incorporated autochthonous bacteria as potential probiotics for local treatment of periodontal disease *Biomacromolecules*. – 2018. – №.19 (11). – P.4299-4306.

49 Yao M., Xie J. H., Du D.J., McClements H., Xiao, Li L. Progress in microencapsulation of probiotics: a review *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, – 2020. – №19 (2). – P. 857-874.

50 Xie J., Yao M., Lu Y., Yu M., Li L. Impact of encapsulating a probiotic (*Pediococcus pentosaceus* Li05) within gastro-responsive microgels on *Clostridium difficile* infections *Food Funct.*, – 2021. – №12 (7). – P. 3180-3190.

51 Maltesen M.J., van de Weert M. Drying methods for protein pharmaceuticals *Drug Discov Today Technol.*, – 2005. – №2(3). – P.81-88.

52 Kavitate D., Kandasamy S., Devi P.B., Shetty P.H. Recent developments on encapsulation of lactic acid bacteria as potential starter culture in fermented foods – a review *Food Biosci.*, – 2018. – №21. – P. 34-44.

53 Templer S.J., Brito M.O. Bacterial skin and soft tissue infections // Hospital

Phys. – 2009. – Vol. 26. – P. 9-16.

54 Green B.N., Johnson C.D., Egan J.T., Rosenthal M., Griffith E.A., Evans M.W. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview for manual therapists // *J. Chiropractic Med.* – 2012. – Vol. 11. – P. 64-76.

55 Ranghar S., Sirohi P., Verma P., Agarwal V. Nanoparticle-based drug delivery systems: promising approaches against infections. *Brazilian Arch. Biol. Technol.* – 2014. – Vol. 57. – P. 209-222.

56 Rudramurthy G.R., Swamy M.K., Sinniah U.R., Ghasemzadeh A. Nanoparticles: alternatives against drug-resistant pathogenic microbes // *Molecules.* – 2016. – Vol. 21. – P. 836.

57 Singh R., Smitha M., Singh S.P. The role of nanotechnology in combating multi-drug resistant bacteria // *J. Nanosci. Nanotechnol.* – 2014. – Vol. 14. – P. 4745-4756.

58 Duc L.H., Hong H.A., Barbosa T.M., Henriques A.O., Cutting S.M. Characterization of *Bacillus* probiotic available for human use // *Applied and Environmental Microbiology.* – 2004. – Vol. 70. – P. 2161-2171.

59 I.S. Savitskaya, A.S. Kistaubayeva, I.E. Digel, D.H. Shokatayeva Physicochemical and Antibacterial Properties of Composite Films Based on Bacterial Cellulose and Chitosan for Wound Dressing Materials // *Eurasian Chemico-Technological Journal.* – 2017. – Vol. 19. - № 3. – P. 45-64.

60 Savitskaya I.S., Shokatayeva D.H., Kistaubaeva A.S., Ignatova L.V., Digel I.E., Antimicrobial and wound healing properties of a bacterial cellulose based material containing *B. subtilis* cells // *Heliyon.* – 2019. – №5. – P. 1-11.

61 Gallant-Behm C.L., Yin H.Q., Liu S., Heggors J.P., Langford R.E., Olson M.E., Hart D.A., Burrell R.E. Comparison of disc diffusion and time kill-kinetic assays for the evaluation of antimicrobial wound dressing efficacy. *In vitro. WoundRepair and Regeneration.* – 2005. – Vol. 13(4). – P. 412–421.

62 Godic T., Bogovic K., Bojana M. Partial Characterisation of Bacteriocins Produced by *Bacillus cereus* Isolates from Milk and Milk Products. Bacteriocins Produced by *B. cereus* from Milk // *Food Technol. and Biotechnol.* – 2003. – Vol. 41(2). – P. 121–129.

63 Санитарно-эпидемиологические правила СП 1.3.2322-08. Безопасность работы с микроорганизмами III–IV групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней, ИПС «Консультант Плюс» (некоммерческая интернет-версия) (Электронный ресурс). URL: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_76323.

64 Updated list of QPS status recommended biological agents in support of EFSA risk assessments // *EFSA Journal.* – 2021. – Vol. 19(7). – P. 6689

65 Baruzzi F., Quintieri L., Morea M., Caputo L. Antimicrobial Compounds Produced by *Bacillus* spp. and Applications in Food // A. Méndez, Ed. *Formatex Microbiology Series Publication*, Spain: Formatex. – 2011. – P. 1102–1111.

- 66 Грязнева Т.Н. Биологически активные вещества, продуцируемые бактериями рода *Bacillus* // Лечащий врач. – 2013. – № 4. С. 54–63.
- 67 Abdelnasser S.M., M. Yahya S.M., Mohamed W.F., Asker M.M., Abu Shady H.M., Mahmoud M.G., Gadallah M.A. Antitumor Exopolysaccharides Derived from Novel Marine *Bacillus*: Isolation, Characterization Aspect and Biological Activity // Asian Pac J Cancer Prev. – 2017. – Vol. 18(7). – P. 1847-1854.
- 68 Su Y., Liu C., Fang H., Zhang D. *Bacillus subtilis*: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine // Microb Cell Fact. – 2020. – Vol. 19(1). – 173p.
- 69 Осипова И.Г., Михайлова Н.А., Сорокулова И.Б. и др. Споровые пробиотики // Журн. микробиол. – 2003. – № 3. – С. 113-119.
- 70 Sorokulova I. Modern Status and Perspectives of *Bacillus* Bacteria as Probiotics // J Prob Health. – 2013. – Vol. 1. – 106 p.
- 71 Ng S.C., Hart A.L., Kamm M.A., Stagg A.J., Knight S.C. Mechanisms of action of probiotics: recent advances // Inflamm Bowel Dis. – 2009. – Vol. 15(2). – P. 300-10.
- 72 Yan F., Polk D.B. Probiotics: progress toward novel therapies for intestinal diseases // Curr Opin Gastroenterol. – 2010. – Vol. 26(2). – P. 95-101.
- 73 O'Hara A.M., Shanahan F. Mechanisms of action of probiotics in intestinal diseases // ScientificWorldJournal. – 2007. – Vol. 7. – P. 31-46.
- 74 Iqbal Z., Ahmed S., Tabassum N., Bhattacharya R., Bose D. Role of probiotics in prevention and treatment of enteric infections: a comprehensive review // 3 Biotech. – 2021. – Vol. 11(5). – P. 242.
- 75 Yan F., Polk D.B. Probiotics and immune health // Curr Opin Gastroenterol. – 2011. – Vol. 27(6). – P. 496-501.
- 76 Blum S. Schiffrin E.J. Intestinal microflora and homeostasis of the mucosal immune response: implications for probiotic bacteria? // Curr Issues Intest Microbiol. – 2003. – Vol. 4(2). – P. 53-60.
- 77 Sánchez B., Delgado S., Blanco-Míguez A., Lourenço A., Gueimonde M., Margolles A. Probiotics, gut microbiota, and their influence on host health and disease // Mol Nutr Food Res. – 2017. – Vol. 61(1). – P. 70-79.
- 78 Bilal M., Si W., Barbe F., Chevaux E., Sienkiewicz O., Zhao X. Effects of novel probiotic strains of *Bacillus pumilus* and *Bacillus subtilis* on production, gut health, and immunity of broiler chickens raised under suboptimal conditions // Poult Sci. – 2021. – Vol. 100(3). – 100871 p.
- 79 Бондаренко В.М., Воробьев А.А. Дисбиозы и препараты с пробиотической функцией // Журнал микробиологии. – 2004. – №. 3. – С. 84-92.
- 80 Yitbarek K, et al. The effect of *Bacillus Calmette-Guerin* (BCG) vaccination in preventing severe infectious respiratory diseases other than TB: Implications for the COVID-19 pandemic // Vaccine. – 2020. – Vol. 38(41). – P. 6374-6380.

- 81 Wang X, et al. Bioinspired oral delivery of gut microbiota by self-coating with biofilms // *Sci Adv.* – 2020. – Vol. 6(26). – 1952 p.
- 82 Смирнов В.В., Резник С.Р., Василевская В.А. Споровые аэробные бактерии - продуценты биологически активных веществ.- К.: Наукова думка, –1983. – 148 с.
- 83 Jeżewska-Fraćkowiak J. et al. The promises and risks of probiotic *Bacillus* species // *Acta Biochim Pol.* – 2018. – Vol. 65(4). – P. 509-519.
- 84 Mingmongkolchai S., Panbangred W. *Bacillus* probiotics: an alternative to antibiotics for livestock production // *J Appl Microbiol.* – 2018. – Vol. 124(6). – P. 1334-1346.
- 85 Alexopoulos C., Georgoulakis I.E., Tzivara A., et al. Field evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* spores, on the health status and performance of sows and their litters // *J Anim Physiol Anim Nutr.* – 2004. – Vol. 88. – P. 381–392.
- 86 Kritas S.K., Morrison R.B. Evaluation of probiotics as a substitute for antibiotics in a large pig nursery // *Vetern Rec.* – 2005. – Vol. 156. – P. 447–448.
- 87 Hosoi T., Hirose R., Saegusa S., et al. Cytokine responses of human intestinal epithelial-like Caco-2 cells to the nonpathogenic bacterium *Bacillus subtilis* (natto) // *Int J Food Microbiol.* – 2003. – Vol. 82. – P. 255–264.
- 88 Nakano M.M., Zuber P. Anaerobic growth of a "strict aerobe" (*Bacillus subtilis*). *Annu Rev Microbiol.* – 1998. – Vol. 52. – P. 165–190.
- 89 Fujiya M., Musch M.W., Nakagawa Y., et al. The *Bacillus subtilis* quorum-sensing molecule CSF contributes to intestinal Homeostasis via OCTN2, a host cell membrane transporter // *Cell Host Microbe.* – 2007. – Vol. 1. – P. 299–308.
- 90 Graça, M.F.P.; Miguel, S.P.; Cabral, C.S.D.; Correia, I.J. Hyaluronic acid—Based wound dressings: A review. *Carbohydr. Polym.* –2020. –№241. – P. 116-364.
- 91 Sudarsan, S., Franklin, D.S., Guhanathan S. Imbibed salts and pH-responsive behaviours of sodium-alginate based eco-friendly biopolymeric hydrogels-A solventless approach. *MMAIJ.* – 2015. – №11. – P. 24–29.
- 92 Karmanov A.P., Kanarsky A.V., Kocheva L.S., Belyy V.A., Semenov E.I., Rachkova N.G., Bogdanovich N.I., Pokryshkin S.A., Chemical structure and polymer properties of wheat and cabbage lignins—Valuable biopolymers for biomedical applications. *Polymer.* –2021. – №220. – 123571 p.
- 93 Chalitangkoon, J.; Monvisade, P. Synthesis of chitosan-based polymeric dyes as colorimetric pH-sensing materials: Potential for food and biomedical applications. *Carbohydr. Polym.* –2021. – №260. –117836 p.
- 94 Alven, S.; Aderibigbe, B.A. Chitosan and Cellulose-Based Hydrogels for Wound Management. *Int. J. Mol. Sci.* –2020. –№21.– 9656p.
- 95 Hussain Z., Thu H.E., Shuid A.N., Katas H., Hussain F. Recent Advances in Polymer-based Wound Dressings for the Treatment of Diabetic Foot Ulcer: An

- Overview of State-of-the-art. *Curr. Drug Targets*. – 2017. – №18. – P.527–550.
- 96 Alven S., Nqoro X., Aderibigbe B.A. Polymer-Based Materials Loaded with Curcumin for Wound Healing Application. *Polymers*. –2020. – №12. –2286 p.
- 97 Ahmad N., Ahmad M.M., Alruwail N.K., Alrowaili Z.A., Alomar F.A., Akhtar S., Alsaidan O.A., Alhakamy N.A., Zafar A., Elmowafy M.; et al. Antibiotic-loaded psyllium husk hemicellulose and gelatin-based polymeric films for wound dressing application. *Pharmaceutics*. – 2021. – №13. – 236 p.
- 98 98.Fang Q., Yao Z., Feng L., Liu T.,Wei S., Xu P., Guo R., Cheng B; Wang X. Antibiotic-loaded chitosan-gelatin scaffolds for infected seawater immersion wound healing. *Int. J. Biol. Macromol.* – 2020. –№159. – P.1140–1155.
- 99 Lee C.H., Singla A., Lee Y. Biomedical applications of collagen. *Int. J. Pharm.* –2001. –;№221. –P.1–22.
- 100 Zhang L.,Webster T.J. Nanotechnology and nanomaterials: Promises for improved tissue regeneration. *Nano Today*. –2009. – №4. – P.66–80.
- 101 Krafts K.P. Tissue repair The hidden drama. *Organogenesis*. – 2012. – № 6. –P.225-233.
- 102 Sorg H., Tilkorn D.J., Hager S., Hauser J., Mirastschijski U., Skin Wound Healing: An Update on the Current Knowledge and Concepts. *Eur. Surg. Res.* – 2017. – №58 –P.81–94.
- 103 Catanzano O., Esposito V.D., Acierno S., Ambrosio M.R., Caro C.D., Avagliano C., Russo P., Russo R., Miro A., Ungaro F., et al. Alginate-Hyaluronan composite hydrogels accelerate wound healing process. *Carbohydr. Polym.* –2015. –№.131. – P. 407–414.
- 104 Ambekar R.S., Kandasubramanian B. Advancements in nanofibers for wound dressing: A review. *Eur. Polym. J.* – 2019. – №117. – P. 304–336.
- 105 Kus K.J., Ruiz B. Wound Dressings-A Practical Review. *Curr. Dermatol. Rep.* –2020. – № 9. – P.298–308.
- 106 Debele T.A., Su W. Polysaccharide and protein-based functional wound dressing materials and applications. *Int. J. Polym. Mater. Polym. Biomater.* –2020. – P.1–22.
- 107 Rodrigues M., Kosaric N. Bonham, Gurtner C.A., Wound healing: A cellular perspective. *Physiol. Rev.* – 2018. –№99. – P.665–706.
- 108 Pereira R., Carvalho A., Vaz D.C., Gil M.H., Mendes A., Bártolo P. Development of novel alginate based hydrogel films for wound healing applications. *Int. J. Biol. Macromol.* – 2013. – №52. – P.221–230.
- 109 Boateng J.S., Matthews K.H., Stevens H.N.E., Eccleston G.M. Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review. *J. Pharm. Sci.* – 2008. – №97. – P. 2892–2923.
- 110 Fredric S. Gowda D.V., Yashashwini M. Wafers for wound healing. *J. Chem. Pharm. Res.* –2015. – №7. – 450–468.
- 111 Aderibigbe B.A., Buyana B. Alginate in Wound Dressings. *Pharmaceutics*. –

2018. – №10. – 42 p.

112 Patel S., Srivastava S., Singh M.R., Singh D. Mechanistic insight into diabetic wounds: Pathogenesis, molecular targets and treatment strategies to pace wound healing. *Biomed. Pharmacother.* –2019. –№112. –108615 p.

113 Alven S., Khwaza V., Oyedeji O.O., Aderibigbe B.A. Polymer-Based Scaffolds Loaded with Aloe vera Extract for the Treatment of Wounds. *Pharmaceutics.* – 2021. –№13. – 961p.

114 Irastorza A., Zarandona I., Andonegi M., Guerrero P., de la Caba K. Food Hydrocolloids The versatility of collagen and chitosan: From food to biomedical applications. *Food Hydrocoll.* – 2021. –№116. – 106633p.

115 Majid Q.A., Fricker A.T.R., Gregory D.A., Davidenko N., Hernandez C.O., Jabbour R.J., Owen T.J., Basnett P., Lukasiwicz B., Stevens M.; et al. Natural Biomaterials for Cardiac Tissue Engineering: A Highly Biocompatible Solution. *Front. Cardiovasc. Med.* – 2020. –№ 7. –192p.

116 Grabska-Zielińska, S.; Sionkowska A., Coelho C.C., Monteiro F.J. Silk Fibroin/collagen/chitosan scaffolds cross-linked by a glyoxal solution as biomaterials toward bone tissue regeneration. *Materials.* – 2020. –№15. –3433 p.

117 Abdulghani S., Mitchell G.R. Biomaterials for in situ tissue regeneration: A review. *Biomolecules.* – 2019. – №9. – 750p.

118 Ricard-Blum S. The collagen family. *Cold Spring Harb Perspect. Biol.* – 2011. – №3. – 004978p.

119 Amirrah I.N., Farhanulhakim M., Razip M., Tabata Y., Bt R., Idrus, H.; Nordin A., Fauzi M.B. Antibacterial-Integrated Collagen Wound Dressing for Diabetes-Related Foot Ulcers: An Evidence-Based Review of Clinical Studies. *Polymers.* – 2020. – №12. – 2168p.

120 Agrawal P., Soni S., Mittal G., Bhatnagar A. Role of polymeric biomaterials as wound healing agents. *Int. J. Low Extrem. Wounds.*– 2014. –№13. – P.180–120.

121 Gaspar-pintiliescu A., Stanciuc A., Craciunescu O. Natural composite dressings based on collagen, gelatin and plant bioactive compounds for wound healing: A review. *Int. J. Biol. Macromol.* –2019. –№138. –P. 854–865.

122 Chattopadhyay S., Raines R.T. Review collagen-based biomaterials for wound healing. *Biopolymers.*– 2014. – №101. – P.821–833.

123 Gould L.J. Topical Collagen-Based Biomaterials for Chronic Wounds: Rationale and Clinical Application. *Adv. Wound Care.* – 2016. – №5. – P.19–31.

124 Brett D. A Review of Collagen and Collagen-based Wound Dressings. *Wound Repair Regen.* – 2018. № 20. – P. 347–356.

125 Dong C., Lv Y. Application of collagen scaffold in tissue engineering: Recent advances and new perspectives. *Polymers.* – 2016. – №8. – 42p.

126 Государственная фармакопея РК. I том. – Алматы «Жибек жолы», 2008. – 592 с.

- 127 EUCAST 2023 clinical breakpoints are now available in AMRcloud. <https://amrcloud.net/en/post/20230130-eucast>.
- 128 Global Laboratory Standards for a Healthier World. <https://clsi.org>.
- 129 Pereira, I.; Severino, P.; Santos, A.C.; Silva, A.M.; Souto, E.B. Linalool bioactive properties and potential applicability in drug delivery systems. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2018, *171*, 566-578.
- 130 Zhang, S. B.; Qin, Y. L.; Li, S. F.; Lv, Y. Y.; Zhai, H. C.; Hu, Y. S.; Cai, J. P. Antifungal mechanism of 1-nonanol against *Aspergillus flavus* growth revealed by metabolomic analyses. *Applied microbiology and biotechnology* 2021, *105*(20), 7871–7888.
- 131 Togashi N., Shiraishi, A., Nishizaka M., Matsuoka K., Endo K., Hamashima H., Inoue Y., Antibacterial activity of long-chain fatty alcohols against *Staphylococcus aureus*. *Molecules*.-2007. - №12. - P.139–148.130.
- 132 Eom M.R., Weon J.B., Jung Y.S., Ryu G.H., Yang W.S., Ma C.J. Neuroprotective compounds from *Reynoutria sachalinensis*. *Arch. Pharmacol Res.* – 2017. №40. - 704–712.
- 133 Izumo T., Ichiki C., Saitou K., Otsuka M., Ohmori S., Kamei C., Effects of ethanol, acetoin and 2,3-butanediol on EEG power spectra in conscious rats. *Biol. Pharm. Bull.*- 1998. - №21. – P. 29–33.
- 134 Kim H.S., Arellano K., Park H., Todorov S.D., Kim B., Kang H., Park Y.J., Suh D.H., Jung E.S., Ji Y. et al. Assessment of the safety and anti-inflammatory effects of three *Bacillus* strains in the respiratory tract. *Environ. Microbiol.* – 2021. – №23. – P.3077–3098.
- 135 Dhakshinamoorthy D., Sundaresan S., Iyadurai A., Subramanian K.S., Janavi G.J., Paliyath G., Subramanian J., Hexanal Vapor Induced Resistance against Major Postharvest Pathogens of Banana (*Musa acuminata* L.). *Plant Pathol.J.*–2020.-№36.–P.133–147.
- 136 Zhang J.H., Sun H.L., Chen S.Y., Zeng L., Wang T.T. Anti-fungal activity, mechanism studies on α -Phellandrene and Nonanal against *Penicillium cyclopium*. *Bot. Stud.* -2017.-№58.- 13p.
- 137 Tao N., Jia L., Zhou H. Anti-fungal activity of *Citrus reticulata* Blanco essential oil against *Penicillium italicum* and *Penicillium digitatum*. *Food Chem.* - 2014.-№153. – P. 265–271.
- 138 Chan P.C. NTP toxicity studies of toxicity studies of 2,4-decadienal (CAS No. 25152-84-5) administered by gavage to F344/N Rats and B6C3F1 mice. *Toxic. Rep. Ser.* – 2011. P.1–94.
- 139 Armand J., De Forni, M., Recondo G., Cals L., Cvitkovic E. Munck J. Flavonoids: A new class of anticancer agents? Preclinical and clinical data of flavone acetic acid. *Prog. Clin. Biol. Res.* – 1988.-№280- P. 235–241.
- 140 Andersen A. Final report on the safety assessment of benzaldehyde. *Int. J. Toxicol.*-2006.-№25. – P. 11–27.

- 141 Tangavelou A.C., Viswanathan M.B., Balakrishna K., Patra A., Phytochemical Analysis in the Leaves of *Chamaecrista nigricans* (Leguminosae). *Pharm. Anal. Acta.* – 2018.-№9.- 3p.
- 142 Altinoz M.A., Ozpinar A., Seyfried T.N., Caprylic (Octanoic) Acid as a Potential Fatty Acid Chemotherapeutic for Glioblastoma. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids.*-2020.-№159.-102142.
- 143 Kim S.A., Rhee M.S. Antibacterial activity of caprylic acid for potential application as an active antiseptic ingredient in consumer antiseptics. *Int. J. Antimicrob. Agents.*-2016.- №48. – P.765–767.
- 144 Zhang H., Dolan H.L., Ding Q., Wang S., Tikekar R.V. Antimicrobial action of octanoic acid against *Escherichia coli* O157:H7 during washing of baby spinach and grape tomatoes. *Food Res. Int. (Ott. Ont.)*.- 2019.- №125.- 108523p.
- 145 Johnson W., Heldreth Jr., Bergfeld B., Belsito W.F., Klaassen D.V., et al. Final report of the Cosmetic Ingredient Review Expert Panel on the safety assessment of pelargonic acid (nonanoic acid) and nonanoate esters. *Int. J. Toxicol.*-2011.-№30. – P.228–269.
- 146 Jang, Y.W.; Jung, J.Y.; Lee, I.K.; Kang, S.Y.; Yun, B.S. Nonanoic Acid, an Antifungal Compound from *Hibiscus syriacus* Ggoma. *Mycobiology*.- 2012.-№. 40. – P.145–146.
- 147 Manrique Vergara D., González Sánchez M.E. Ácidos grasos de cadena corta (ácido butírico) y patologías intestinales [Short chain fatty acids (butyric acid) and intestinal diseases]. *Nutricion Hospitalaria*.- 2017.- 34. P.58–61.
- 148 To N.B., Nguyen Y.T., Moon J.Y., Ediriweera M.K., Cho S.K., Pentadecanoic Acid, an Odd-Chain Fatty Acid, Suppresses the Stemness of MCF-7/SC Human Breast Cancer Stem-Like Cells through JAK2/STAT3 Signaling. *Nutrients*.- 2020.- №12.- 1663p.
- 149 Galdiero E., Ricciardelli A., D'Angelo C., de Alteriis E., Maione A. Albarano L., Casillo A., Corsaro M.M., Tutino M.L. Pentadecanoic acid against *Candida albicans*-*Klebsiella pneumoniae* biofilm: Towards the development of an anti-biofilm coating to prevent polymicrobial infections. *Res. Microbiol.*-2021. - №172. – 103880p.
- 150 Sales-Campos H., Souza P.R., Peghini B.C., da Silva J.S., Cardoso C.R. An overview of the modulatory effects of oleic acid in health and disease. *Mini Rev. Med. Chem.*-2013. - №13. P.201–210.
- 151 Aparna V., Dileep K.V., Mandal P.K., Karthe P., Sadasivan C., Haridas M. Anti-inflammatory property of n-hexadecanoic acid: Structural evidence and kinetic assessment. *Chem. Biol. Drug Des.*-2012.- №80.-P.434–439.
- 152 Ben Hartigh L.J., Conjugated Linoleic Acid Effects on Cancer, Obesity, and Atherosclerosis: A Review of Pre-Clinical and Human Trials with Current Perspectives. *Nutrients*. - 2019.- №11. -370 p.
- 153 Shen, T., Chen, L., Liu, Y., Shi, S., Liu, Z., Cai, K., Liao, C., Wang, C.

- Decanoic acid modification enhances the antibacterial activity of PMAP-23RI-Dec. *Eur. J. Pharm. Sci. Off. J. Eur. Fed. Pharm. Sci.* -2021, 157, – 105609p.
- 154 Huang, W.C., Tsai, T.H., Chuang, L.T., Li, Y.Y., Zouboulis, C.C., Tsai, P.J. Anti-bacterial and anti-inflammatory properties of capric acid against *Propionibacterium acnes*: A comparative study with lauric acid. *J. Dermatol. Sci.* - 2014, -№73, P.232–240.
- 155 Jayaraj, R.L., Beiram, R., Azimullah, S., Mf, N.M.; Ojha, S.K.; Adem, A.; Jalal, F.Y. Valeric Acid Protects Dopaminergic Neurons by Suppressing Oxidative Stress, Neuroinflammation and Modulating Autophagy Pathways. *Int. J. Mol. Sci.* 2020, 21, 7670.
- 156 Felczykowska, A.; Pastuszek-Skrzypczak, A.; Pawlik, A.; Bogucka, K.; Herman-Antosiewicz, A.; Guzow-Krzemińska, B. Antibacterial and anticancer activities of acetone extracts from in vitro cultured lichen-forming fungi. *BMC Complement. Altern. Med.* 2017, 17, 300.
- 157 Shen, Y.J.; Shen, Y.C.; Lee, W.S.; Yang, K.T. Methyl palmitate protects heart against ischemia/reperfusion-induced injury through G-protein coupled receptor 40-mediated activation of the PI3K/AKT pathway. *Eur. J. Pharmacol.* 2021, 905, 174183.
- 158 Shaaban, M.T.; Ghaly, M.F.; Fahmi, S.M. Antibacterial activities of hexadecanoic acid methyl ester and green-synthesized silver nanoparticles against multidrug-resistant bacteria. *J. Basic Microbiol.* 2021, 61, 557–568.
- 159 El-Agamy, D.S.; Elkablawy, M.A.; Abo-Haded, H.M. Modulation of cyclophosphamide-induced cardiotoxicity by methyl palmitate. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 2017, 79, 399–409.
- 160 Mao, X.; Yang, Q.; Chen, D.; Yu, B.; He, J. Benzoic Acid Used as Food and Feed Additives Can Regulate Gut Functions. *BioMed Res. Int.* 2019, 2019, 5721585.
- 161 Assadian, O. From antiseptics to antibiotics—And back? *GMS Krankenhaushygiene Interdiszip.* 2007, 2, Doc26.
- 162 Смирнов В.В., Резник С.Р., Вьюницкая В.А. Современные представления о механизмах лечебно профилактического действия пробиотиков из бактерий рода *Bacillus*// Журнал Микробиологии. – 2002. - Т. 24. - № 4. - С. 92-112.
- 163 Urdaci M.C., Pinchuk I. Antimicrobial activity of *Bacillus* probiotics. In *Bacterial Spore Formers—Probiotics and Emerging Applications* // Horizon Bioscience: Norfolk, UK. – 2004. – P. 171–182.
- 164 Piewngam P., Zheng Y., Nguyen T.H., Dickey S.W., Joo H.S., Villaruz A.E., Chiou J., Glose K.A., Fisher E.L., Hunt R.L. et al. Pathogen elimination by probiotic *Bacillus* via signalling interference // *Nature*. – 2018. – Vol. 562. – P. 532.
- 165 Jha S.S., Joshi S.J. Lipopeptide production by *Bacillus subtilis* R1 and its possible applications // *Braz J Microbiol.* – 2016. – Vol. 47(4). – P. 955-964.

- 166 Pradhan A.K., Rath A., Pradhan N., Hazra R.K., Nayak R.R., Kanjilal S. Cyclic lipopeptide biosurfactant from *Bacillus tequilensis* exhibits multifarious activity // 3 Biotech. – 2018. – Vol. 8(6). – P. 261.
- 167 Грязнева Т.Н. Биологически активные вещества, продуцируемые бактериями рода *Bacillus* // Лечащий врач. – 2013. – № 4. – С. 54–63.
- 168 Abdelnasser S.M., M. Yahya S.M., Mohamed W.F., Asker M.M., Abu Shady H.M., Mahmoud M.G., Gadallah M.A. Antitumor Exopolysaccharides Derived from Novel Marine *Bacillus*: Isolation, Characterization Aspect and Biological Activity // Asian Pac J Cancer Prev. – 2017. – Vol. 18(7). – P. 1847-1854.
- 169 Su Y., Liu C., Fang H., Zhang D. *Bacillus subtilis*: a universal cell factory for industry, agriculture, biomaterials and medicine // Microb Cell Fact. – 2020. – Vol. 19(1). – P. 173.
- 170 Górecka E, Jastrzębska M. Immobilization techniques and biopolymer carriers // Biotechnol Food Sci. – 2011. – Vol. 75. – P. 65–86.

Қосымша А

УТВЕРЖДЕН



Генеральный директор
ТОО НПП «Антиген»
доктор ветеринарных наук,
профессор

Н.Н. Ахметсадыков

« 01 » 10 20 22 г.

СОГЛАСОВАН

РГП на ПХВ «Национальный центр
экспертизы лекарственных средств и
медицинских изделий» КМ и ФК МЗ
РК

« ___ » _____ 20 __ г.

ПРОЕКТ

НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

Торговое наименование лекарственного препарата:

На казахском языке

На русском языке

Международное непатентованное наименование: Нет

Лекарственная форма: Лиофилизат для приготовления раствора и
местного применения

Дозировка: 1 млрд

Наименование и страна организации-производителя:

НАО КазНМУ С.Д. Асфендиярова, Республика Казахстан

Наименование и страна держателя регистрационного
удостоверения: НАО КазНМУ С.Д. Асфендиярова, Республика
Казахстан

Номер нормативного документа: НД ХХХ-01

Срок введения установлен с

Вводится впервые с « ___ » _____ 202 __ г

Срок действия до « ___ » _____ 202 __ г

Қосымша Б

УТВЕРЖДЕН



Генеральный директор
ТОО НПІ «Антиген»
доктор ветеринарных наук,
профессор

И.Н. Ахметсадыков

« 01 » 10 2022 г.

СОГЛАСОВАН

РГП на ПХВ «Национальный центр
экспертизы лекарственных средств и
медицинских изделий» КМ и ФК МЗ
РК

« _ » _____ 20__ г.

ПРОЕКТ

НОРМАТИВНЫЙ ДОКУМЕНТ

Торговое наименование лекарственного препарата:

На казахском языке Бациколл

На русском языке Бациколл

Международное непатентованное наименование: Нет

Лекарственная форма: Губка (мембрана) для наружного
применения

Дозировка: 1 млрд

Наименование и страна организации-производителя:

НАО КазНМУ С.Д. Асфендиярова, Республика Казахстан

Наименование и страна держателя регистрационного
удостоверения: НАО КазНМУ С.Д. Асфендиярова, Республика
Казахстан

Номер нормативного документа: НД ХХХ-00

Срок введения установлен с

Вводится впервые с « ___ » _____ 202__ г

Срок действия до « ___ » _____ 202__ г

Қосымша В

ТОО НПП «Антиген»

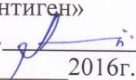
«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ТОО НПП «Антиген»
доктор ветеринарных наук,
профессор



ОПЫТНО-ПРОМЫШЛЕННЫЙ РЕГЛАМЕНТ на производство биомембран с пробиотиками

Согласовано:

Директор НПП «Антиген»
Ахметсадыков Н.Н. 
«___» _____ 2016г.

Рекомендовано к утверждению:

Заведующий лабораторией клеточной
биотехнологии Абдел З.Ж. _____
«___» _____ 2016г.

Разработчики:

Зав.производством
доцент модуля фармацевт-технолог
Устенова Г.О.
pHd Койлыбаева М.К.

Алматы 2016 г.

Қосымша Г

ТОО НПП «Антиген»

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ТОО НПП «Антиген»
Доктор ветеринарных наук
Н.Н. Ахметсадыков



«01» октября 2019 г.

Акт

внедрения результатов научно-исследовательской работы ТОО Научно-производственное предприятие «Антиген»

Наименование предложения: «Внедрение технологии получения коллагеновых мембран с пробиотиками»

Тема PhD диссертационной работы: «Пробиотигі бар коллагенді мембрананы алу технологиясы, биологиялық зерттеу және стандарттау»

Форма внедрения: Практическое применение технологии получения коллагеновых мембран с пробиотиками в ТОО НПП «Антиген»

Ответственный за внедрение, исполнитель:

Сторона 1

Койлыбаева М.К. – докторант, научно-педагогического направления по специальности «Фармация» НАО «КазНМУ им.С.Д.Асфендиярова»

Устенова Г.О. – д.фарм.н., профессор, заведующая кафедрой фармацевтической технологии НАО «КазНМУ им.С.Д.Асфендиярова»

Сторона 2

Ахметсадыков Н.Н. - Директор ТОО НПП «Антиген», д.в.н.

Эффективность внедрения: Внедрить способ получения коллагеновых мембран с пробиотиками.

Предложение, замечание организации, осуществляющего внедрение: нет

Срок внедрение с 1 октября 2019г. - постоянно



Қосымша Ж

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ҒЫЛЫМ ЖӘНЕ ЖОҒАРЫ БІЛІМ МИНИСТРЛІГІ
ҒЫЛЫМ КОМИТЕТІ
«ҰЛТТЫҚ МЕМЛЕКЕТТІК ҒЫЛЫМИ-
ТЕХНИКАЛЫҚ САРАПТАМА ОРТАЛЫҒЫ»
АКЦИОНЕРЛІК ҚОҒАМЫ



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО
ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН
КОМИТЕТ НАУКИ
АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
«НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ГОСУДАРСТВЕННОЙ
НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ»

050026, Қазақстан Республикасы
Алматы қаласы, Бөгенбай батыр көшесі, 221
Тел.: +7 (727) 378-05-09
Email: info@ncste.kz http://www.ncste.kz

050026, Республика Казахстан
город Алматы, улица Бөгенбай батыра, 221
Тел.: +7 (727) 378-05-09
Email: info@ncste.kz http://www.ncste.kz

№ 4548/15-03-02 от 20.09.2023

**Койлыбаева Молдир
Кудайбергеновна**

На № ФЛ-1008
от 18.09.2023 г.

АО «НЦГНТЭ» предоставляет информацию о наличии публикаций Койлыбаевой Молдир Кудайбергеновны в научных изданиях, входящих в международные информационные ресурсы Web of Science (Clarivate Analytics) и Scopus (Elsevier).

1. «MOLECULES» (Switzerland), ISSN 1420-3049, годы охвата в Web of Science Core Collection с 1997 года по настоящее время, в Scopus с 1996 года по настоящее время. Предметная область – химия: химия (разное), неорганическая химия, физическая и теоретическая химия, аналитическая химия; фармакология, токсикология и фармацевтика: лекарствоведение, поиск новых лекарств; биохимия, генетика и молекулярная биология: молекулярная медицина; биохимия и молекулярная биология; химия.

2. «International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management, SGEM» (Bulgaria), ISSN 1314-2704, годы охвата в Scopus 2006, с 2013 года по 2022 год. Предметная область – науки о Земле и планетах: инженерная геология и геотехническая инженерия, геология.

Публикации Койлыбаевой М.К.:

1. Koilybayeva Moldir, Shynykul Zhanserik, Ustenova Gulbaram, Abzaliyeva Symbat, Alimzhanova Mereke, Amirkhanova Akerke, Turgumbayeva Aknur, Mustafina Kamilya, Yeleken Gulnur, Raganina Karlygash, Kapsalyamova Elmira. Molecular Characterization of Some Bacillus Species from Vegetables and Evaluation of Their Antimicrobial and Antibiotic Potency // MOLECULES. – 2023. – Vol. 28, Iss. 7. – Article number 3210.

Статья выявлена в базах данных Web of Science Core Collection и Scopus. В момент ее опубликования в 2023 году журнал «MOLECULES» имел Impact Factor за 2021 год равный 4,927 и квартиль по биохимии и молекулярной биологии – Q2; квартиль по химии, междисциплинарным трудам – Q2. Имел CiteScore за 2021 год равный 5,9 и процентиль по химии

(разное) – 83; процентиль по физической и теоретической химии – 73; процентиль по неорганической химии – 73; процентиль по лекарствоведению – 72; процентиль по аналитической химии – 71; процентиль по поиску новых лекарств – 66; процентиль по молекулярной медицине – 53.

2. Koilybayeva Moldir, Ustenova Gulbaram, Mustafina Kamilya, Bатыrbayeva Dinara, Alibaeva Zhazira. The study of wound-healing actions of collagen membranes with probiotics for topical application // International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management, SGEM. – 2018. – Vol. 18, Iss. 6. – P. 761–768. – 18th International Multidisciplinary Scientific Geoconference, SGEM 2018.

Публикация выявлена в базе данных Scopus. В момент ее опубликования в 2018 году сборник материалов конференций «International Multidisciplinary Scientific GeoConference Surveying Geology and Mining Ecology Management, SGEM» имел CiteScore за 2017 год равный 0,3 и процентиль по инженерной геологии и геотехнической инженерии – 18; процентиль по геологии – 12.

**И.о. Председателя Правления
АО «НЦГНТЭ»**

Р. Манатбаев

*Исп.: Сванкулова Д.М.
Тел.: 378-08-96*

Согласовано

20.09.2023 15:53 Пернекулов Марат Мухтарович
20.09.2023 15:55 Мамытбаева Шолпанай Галкиевна
20.09.2023 16:00 Нусипова Жулдыз Алябековна
20.09.2023 16:05 Елеукенова Камарсулу Агимедуллиевна
20.09.2023 17:01 Исагали Мадина Айгаликызы








Подписано

20.09.2023 17:03 Манатбаев Рустем Кусайнгазыевич

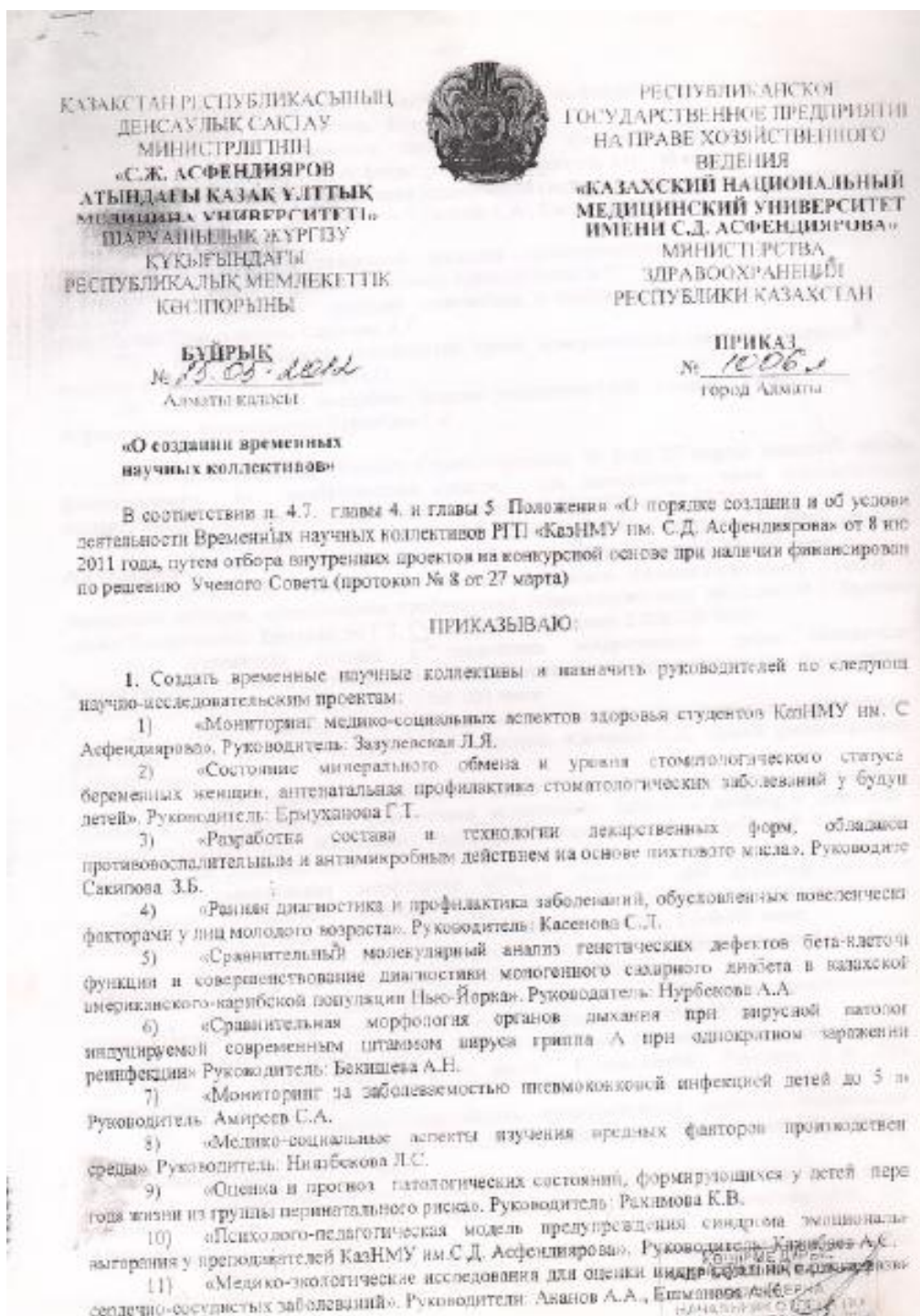


Данный электронный документ DOC ID KZSLSG82023100115498AE1C41 подписан с использованием электронной цифровой подписи и отправлен посредством информационной системы «Казахстанский центр обмена электронными документами» Doculite.kz.

Для проверки электронного документа перейдите по ссылке: <https://doculite.kz/landing?verify=KZSLSG82023100115498AE1C41>

Тип документа	Исходящий документ
Номер и дата документа	№ 4548/15-03-02 от 20.09.2023 г.
Организация/отправитель	АО "НАЦИОНАЛЬНЫЙ ЦЕНТР ГОСУДАРСТВЕННОЙ НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ ЭКСПЕРТИЗЫ"
	ФЛ КОЙЛЫБАЕВА МОЛДИР КУДАЙБЕРГЕНОВНА
Электронные цифровые подписи документа	 Согласовано: Пернекулов Марат Муктарович без ЭЦП Время подписи: 20.09.2023 15:53
	 Согласовано: Мамытбаева Шолпанай Галкиевна без ЭЦП Время подписи: 20.09.2023 15:55
	 Согласовано: Нусипова Жулдыз Аязбековна без ЭЦП Время подписи: 20.09.2023 16:00
	 Согласовано: Елеукенова Камарсулу Агимедуллиевна без ЭЦП Время подписи: 20.09.2023 16:05
	 Согласовано: Исагали Мадина Айгаликызы без ЭЦП Время подписи: 20.09.2023 17:01
	 Акционерное общество "Национальный центр государственной научно-технической экспертизы" Подписано: МАНАТБАЕВ РУСТЕМ МПУUwYJ...JLLMHVZi+ Время подписи: 20.09.2023 17:03
	 Акционерное общество "Национальный центр государственной научно-технической экспертизы" ЭЦП канцелярии: МӨЛКОВА БЕКЗАТ MIVeYJ...Y5KpdaA== Время подписи: 20.09.2023 17:47

Қосымша Е



- 12) «Болонский процесс в КазНМУ им.С.Д. Асфендиярова как условие гарантии качества образования». Руководитель: Тулебаев К.А.
- 13) «Развитие экспертного потенциала для этического регулирования научных исследований в КазНМУ им.С.Д. Асфендиярова». Руководитель: Мустафина А.Р.
- 14) «Исследования достижений медицинской геологии и развития модели интестарения в Республике Казахстан». Руководители: Тулебаев К.А., Калмаханов С.Б. Сумма финансирования: 1 800 000 тенге.
- 15) «Современные тенденции развития мультидисциплинарных исследований в КазНМУ им.С.Д. Асфендиярова». Жетекшісі: Каракушикова А.С.
- 16) «Исследование фракций гемоглобина и показателей оксидативного стресса у обеспокоенных». Руководитель: Садықас А.С.
- 17) «Q-тетраокроматин лимфоцитов крови новорожденных раннего постнатального периода». Руководитель: Кудрина Н.О.
- 18) «Разработка и внедрение модели университетской клиники КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова». Руководитель: Курабаев К.К.

2. Согласно решению Ученого Совета (протокол № 8 от 27 марта) утвердить суммы финансирования из внебюджетных средств, для выполнения ниже перечисленных внутривузовских научно-исследовательских проектов с 1.05.2012 г до 31.12.2012 года:

- 1) «Мониторинг медико-социальных аспектов здоровья студентов КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова». Руководитель: Затулевская Л.Я. Сумма финансирования: 1 300 000 тенге.
- 2) «Состояние минерального обмена и уровня стоматологического статуса у беременных женщин, антенатальная профилактика стоматологических заболеваний у будущих детей». Руководитель: Ермаханова Г.Т. Сумма финансирования: 2 000 000 тенге.
- 3) «Разработка состава и технологии лекарственных форм, обладающих противовоспалительным и антимикробным действием на основе пектового масла». Руководитель: Сасипова З.Б. Сумма финансирования: 1 500 000 тенге.
- 4) «Ранняя диагностика и профилактика заболеваний, обусловленных поведенческими факторами у лиц молодого возраста». Руководитель: Юсенова С.Д. Сумма финансирования: 1 000 000 тенге.
- 5) «Сравнительный молекулярный анализ генетических дефектов бета-клеточной функции и совершенствование диагностики моногенного сахарного диабета в казахской американско-карибской популяции Нью-Йорка». Руководитель: Нурбекова А.А. Сумма финансирования: 2 000 000 тенге.
- 6) «Сравнительная морфология органов дыхания при вирусной патологии индуцируемой современным штаммом вируса гриппа А при однократном заражении ренифекцией». Руководитель: Бекитшева А.Н. Сумма финансирования: 2 500 000 тенге.
- 7) «Мониторинг за заболеваемостью пневмококковой инфекцией детей до 5 лет». Руководитель: Амиреев С.А. Сумма финансирования: 1 500 000 тенге.
- 8) «Медико-социальные аспекты изучения вредных факторов производства среды». Руководитель: Ниязбекова Л.С. Сумма финансирования: 2 000 000 тенге.
- 9) «Оценка и прогноз патологических состояний, формирующихся у детей переноса жизни из группы первичного риска». Руководитель: Рахимова К.В. Сумма финансирования: 1 700 000 тенге.
- 10) «Психолого-педагогическая модель предупреждения синдрома эмоционального выгорания у преподавателей КазНМУ им.С.Д. Асфендиярова». Руководитель: Кажыбаев Т. Сумма финансирования: 300 000 тенге.
- 11) «Медико-экологические исследования для оценки индивидуального риска развития сердечно-сосудистых заболеваний». Руководители: Асылбаев А.А., Ешманова А.К. Сумма финансирования: 1 000 000 тенге.
- 12) «Болонский процесс в КазНМУ им.С.Д. Асфендиярова как условие гарантии качества образования». Руководитель: Тулебаев К.А. Сумма финансирования: 1 800 000 тенге.

13) «Развитие экспертного потенциала для этического регулирования науки и исследований в КазНМУ им С.Д. Асфендиярова». Руководитель: Мустафина А.Р. Сумма финансирования: 2 000 000 тенге.

14) «Использование достижений медицинской геологии в развитии модели антивозрастных в Республике Казахстан». Руководитель: Тулубаев К.А., Калмаханов С.Б. Сумма финансирования: 1 800 000 тенге.

15) «Современные тенденции развития мультидисциплинарных исследований КазНМУ им С.Д. Асфендиярова». Руководитель: Караушикова А.С. Сумма финансирования: 4 000 000 тенге.

16) «Исследование фракций гемоглобина и показателей оксидативного стресса эритроцитов». Руководитель: Саджакас А.С. Сумма финансирования: 1 000 000 тенге.

17) «Q-гетерохроматин лимфоцитов крови поврежденных раннего постнатального периода». Руководитель: Кудрина Н.О. Сумма финансирования: 1 500 000 тенге.

18) «Разработка и внедрение модели университетской клиники КазНМУ им С.Д. Асфендиярова». Руководитель: Куралбаев К.К. Сумма финансирования: 1 200 000 тенге.

3. Отделу по учету и мониторингу кадров заключить трудовые соглашения (договора) работниками привлекаемыми к реализации проекта сроком на один год с 01.05.12г. по 31.12.12г. соответственно с календарным планом работ.

4. Департаменту экономики и финансов обеспечить финансирование деятельности временных научных коллективов в соответствии с утвержденной сметой по проектам.

5. Отделу менеджмента НИР ознакомить заинтересованных лиц с настоящим приказом.

6. Контроль за исполнением настоящего приказа возложить на проректора по научной работе и инновационным проектам Караушикову А.С. и проректора по экономическим вопросам Айнабекову П.Д.

Основание: Положение «Об порядке создания и об условиях деятельности Временных научных коллективов РГП «КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова» от 8 июня 2011 года, решение Ученого Совета (протокол № 8 от 27 марта).

Ректор

А. Аканов

Подготовил:

Зам. начальника отдела менеджмента НИР



А.Б. Даниярова

Согласовано:

Проректор по клинической работе и общим вопросам

М. Мирабеков

Проректор по научной работе и инновационным проектам

А.С. Караушикова

Проректор по экономическим вопросам

П.Д. Айнабекова

Заместитель директора

Г.Т. Токтабулатова

Департамента по экономическим вопросам

Начальник отдела по учету и мониторингу кадров

Е.В. Амирлинова

Начальник отдела правовой и паспортно-визовой работы

С.Ш. Шавкметов

КОПИЯ ВРУЧЕНА
КОПИЯ ВРУЧЕНА

Қосымша И



АКТ
внедрения результатов научно-исследовательской работы по научно-техническому
проекту
«Фармацевтические и фармакологические аспекты разработки и исследования
биологических препаратов»

НПП «Антиген»
(наименование учреждения, где внедряется работа)
Наименование предложения: республиканского значения
Внедрение материалов и результатов научно-технического проекта по теме
«Фармацевтические и фармакологические аспекты разработки и исследования
биологических препаратов»
Внедрены в инициативном порядке

Автор: руководитель проекта Устенова Г.О.

Форма внедрения: методы получения коллагена и фибриногена для создания
биологических препаратов на их основе

Эффективность внедрения: совершенствование методов получения биопокрытий на
основе коллагена и фибриногена – экономическая эффективность

Предложения, замечания учреждения, осуществляющего внедрение:
Нет

Сроки внедрения: с 1.11.2016 г. – постоянно

Ответственный за внедрение: Директор НПП «Антиген» Ахметсадыков Н.Н.
Исполнитель: д.фарм.н., доцент Устенова Г.О.

Қосымша К

СТ ТОО 10802-1907-037-2019

СТАНДАРТ ОРГАНИЗАЦИИ

ТОВАРИЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
«Научно-производственное предприятие «АНТИГЕН»

УДК 664.38
КП ВЭД 01.49.24

МКС 67.120.99

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор
ТОО НПП «Антиген»
доктор ветеринарных наук,
профессор



Н.Н. Ахметсадыков
2019 г.

МАССА КОЛЛАГЕНОВАЯ
СТ ТОО 10802-1907-037-2019

Срок действия с 11.11.2019 г.
до 11.11.2024 г.


РАЗРАБОТАНО

Заведующая лабораторией
ТОО НПП «Антиген»
Кандидат биологических наук
М.З. Кауламбаева
2019 г.



Держатель подлинника:
ТОО НПП «Антиген»
040905, Алматинская область
Карасайский район, с.Абай,
ул.Азербайева, 4
т. 8 (727) 389 04 68, 389 04 69


Қосымша Л

	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»		
	Локальная этическая комиссия (ЛЭК)	Заключение	Редакция: 1 Страница 1 из 2

Заключение

Локальная этическая комиссия (ЛЭК)
 НАО «Казахский национальный медицинский университет им. С.Д.
 Асфендиярова»

1.	ФИО докторанта	Койлыбаева Молдир Кудайбергеновна
2.	Специальность (образовательная программа) докторантуры	PhD докторантуры по специальности 6D110400 «Фармация»
3.	Период обучения в докторантуре	2015 - 2018 гг.
4.	Тема диссертации, дата утверждения	Тема: «Пробиотиғі бар коллагенді мембрананы алу технологиясы, биологиялық зерттеу және стандарттау» Дата утверждения: Приказ №3 «Об утверждении тем диссертации и научных руководителей PhD докторантов» от 10.10.2015 г.
5.	Данные о научных консультантах – Ф.И.О. (при его наличии), должности и места работы, ученые степени, гражданство	Отечественный руководитель: Д.ф.н., профессор Устенова Г.О. к.м.н., профессор Мустафина К.К. Зарубежный руководитель: Malgorzata Sznitowska, professor Dr. Krzysztof Waleron, professor Dr.
6.	Объекты исследования	48 белые беспородные мыши и 18 морских свинок.
7.	Нарушения в процессе планирования, оценки, отбора и проведения научных исследований	Нарушения не выявлены.

	«С.Ж. АСФЕНДИЯРОВ АТЫНДАҒЫ ҚАЗАҚ ҰЛТТЫҚ МЕДИЦИНА УНИВЕРСИТЕТІ» КЕАҚ НАО «КАЗАХСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ С.Д.АСФЕНДИЯРОВА»	
	Локальная этическая комиссия (ЛЭК)	Заключение
		Редакция: 1 Страницы 2 из 2

8.	Нарушения в процессе распространения результатов научных исследований	Нарушения не выявлены.
9.	Каким образом проводилась защита прав, безопасности и благополучия объектов исследования (в случае наличия объектов живой природы и среды обитания)?	Защита прав, безопасности и благополучия объектов исследования проводилась по соблюдению руководств по проведению клинических исследований.

Заместитель председателя ЛЭК



Т.Салиев

Қосымша М



GDYŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY
WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej

KATEDRA I ZAKŁAD MIKROBIOLOGII FARMACEUTYCZNEJ

Al. Gen. J. Hallera 107
80-416 Gdańsk
tel. 58 349 19 72



Krajowy Naukowy
Ośrodek Wiodący

Dr hab. Krzysztof Waleron

Gdańsk, 14.12.2017

Head of Department of Pharmaceutical Microbiology,
Faculty of Pharmacy, Medical University of Gdańsk,
gen. Hallera 107, 80-416 Gdańsk, Poland

This is to certify that listed works were performed with participation of Koilybayeva Moldir during her stage at the Microbiology laboratories under the care of Dr Joanna Jonca Dr hab. Krzysztof Waleron. The tasks were performed within the days 01.11.2017-15.12.2017

List of performed tasks:

1. Separation of Bacillus from various sources;
2. Preparation of overnight cultures of selected strains of bacteria:
The aerobic bacteria: *Staphylococcus aureus* ATCC9027, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Enterococcus hirae* ATCC 1052 (Gram positive bacteria), *Escherichia coli* ATCC8739, *Pseudomonas aeruginosae* ATCC9027 (Gram negative bacteria), *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Proteus Vulgaris* NCTC 4635, *Serratia marcescens* ATCC 274, *Klebsiella pneumonia* ATCC13883, *Salmonella enterica* ATCC 13076, *Shigella sonnei* ATCC25931, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus group B*, (growth in an aerobic atmosphere for 24 hours at 37°C)
Yeast: *Candida albicans* ATCC10231, *Candida krusei*.
3. Determination of the antagonistic activity of the isolated staff of *B. subtilis* against test cultures of *Staphylococcus aureus* ATCC9027, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Enterococcus hirae* ATCC 1052 (Gram positive bacteria), *Escherichia coli* ATCC8739, *Pseudomonas aeruginosae* ATCC9027 (Gram negative bacteria), *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Proteus Vulgaris* NCTC 4635, *Serratia marcescens* ATCC 274, *Klebsiella pneumonia* ATCC13883, *Salmonella enterica* ATCC 13076, *Shigella sonnei* ATCC25931, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus group B*, *Candida albicans* ATCC10231, *Candida krusei*;
4. Isolation of bacterial genomic DNA strains of the bacillus genus using CTAB;
5. Determination of isolated DNA by PCR and electrophoresis;
6. Preparation of an article for publication in Scopus indexed journal.

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu
Mikrobiologii Farmaceutycznej
Krzysztof Waleron
Dr hab. Krzysztof Waleron

Қосымша Н



GDAŃSKI UNIWERSYTET MEDYCZNY

WYDZIAŁ FARMACEUTYCZNY z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej

KATEDRA I ZAKŁAD MIKROBIOLOGII FARMACEUTYCZNEJ

Al. Gen. J. Hallera 107

80-416 Gdańsk

tel. 58 349 19 72



Krajowy Naukowy
Ośrodek Wiodący

Dr hab. Krzysztof Waleron

Gdańsk, 22.02.2018

Head of Department of Pharmaceutical Microbiology,
Faculty of Pharmacy, Medical University of Gdańsk,
gen. Hallera 107, 80-416 Gdańsk, Poland

This is to certify that listed works were performed with participation of Koilybayeva Moldir during her stage at the Microbiology laboratories under the care of Dr Joanna Jonca Dr hab. Krzysztof Waleron. The tasks were performed within the days 05.02.2018-23.02.2018
List of performed tasks:

1. Separation of *Bacillus* from various sources;
2. Preparation of overnight cultures of selected strains of bacteria:
The aerobic bacteria: *Staphylococcus aureus* ATCC9027, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Enterococcus hirae* ATCC 1052 (Gram positive bacteria), *Escherichia coli* ATCC8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC9027 (Gram negative bacteria), *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Proteus Vulgaris* NCTC 4635, *Serratia marcescens* ATCC 274, *Klebsiella pneumonia* ATCC13883, *Salmonella enterica* ATCC 13076, *Shigella sonnei* ATCC25931, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus group B*, (growth in an aerobic atmosphere for 24 hours at 37°C)
Yeast: *Candida albicans* ATCC10231, *Candida krusei*.
3. Determination of the antagonistic activity of the isolated staff of *B. subtilis* against test cultures of *Staphylococcus aureus* ATCC9027, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990, *Enterococcus hirae* ATCC 1052 (Gram positive bacteria), *Escherichia coli* ATCC8739, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC9027 (Gram negative bacteria), *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048, *Proteus Vulgaris* NCTC 4635, *Serratia marcescens* ATCC 274, *Klebsiella pneumonia* ATCC13883, *Salmonella enterica* ATCC 13076, *Shigella sonnei* ATCC25931, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus group B*, *Candida albicans* ATCC10231, *Candida krusei*;
4. Isolation of bacterial genomic DNA strains of the bacillus genus using CTAB protocol;
5. Determination of isolated DNA by PCR and electrophoresis;
6. Determination of the sensitivity of strains of the genus bacillus to antibiotics (Erythromycin, Amoxicillin, Ampicillin, Carbenicillin, Gentamicin, Streptomycin, Cefepime / Clavulanic Acid, Tobramycin, Tetracycline, Polymyxin, Penicillin, Bacitromycin, Azithromycin, Levomycetin, Cefotaxime, Cloxacillin, Cefepime, Amoxicillin / Clavulanic Acid)
7. Preparation of a suspension of the investigated microorganisms (inoculum) and measurement of the optical density by the method of spectrophotometric (densitometric)
8. Lyophilization of isolated strains;
9. Determination of the viability of microbial cells after lyophilization;
10. Production of collagen membranes with strains;
11. Determination of antagonistic activity of membranes on pathogenic strains;
12. Determination of bacterial viability *Bacillus* in collagen membranes;
13. Preparation of an article for publication in Scopus indexed journal.

KIEROWNIK
Katedry i Zakładu
Mikrobiologii Farmaceutycznej
Krzysztof Waleron
dr hab. Krzysztof Waleron

