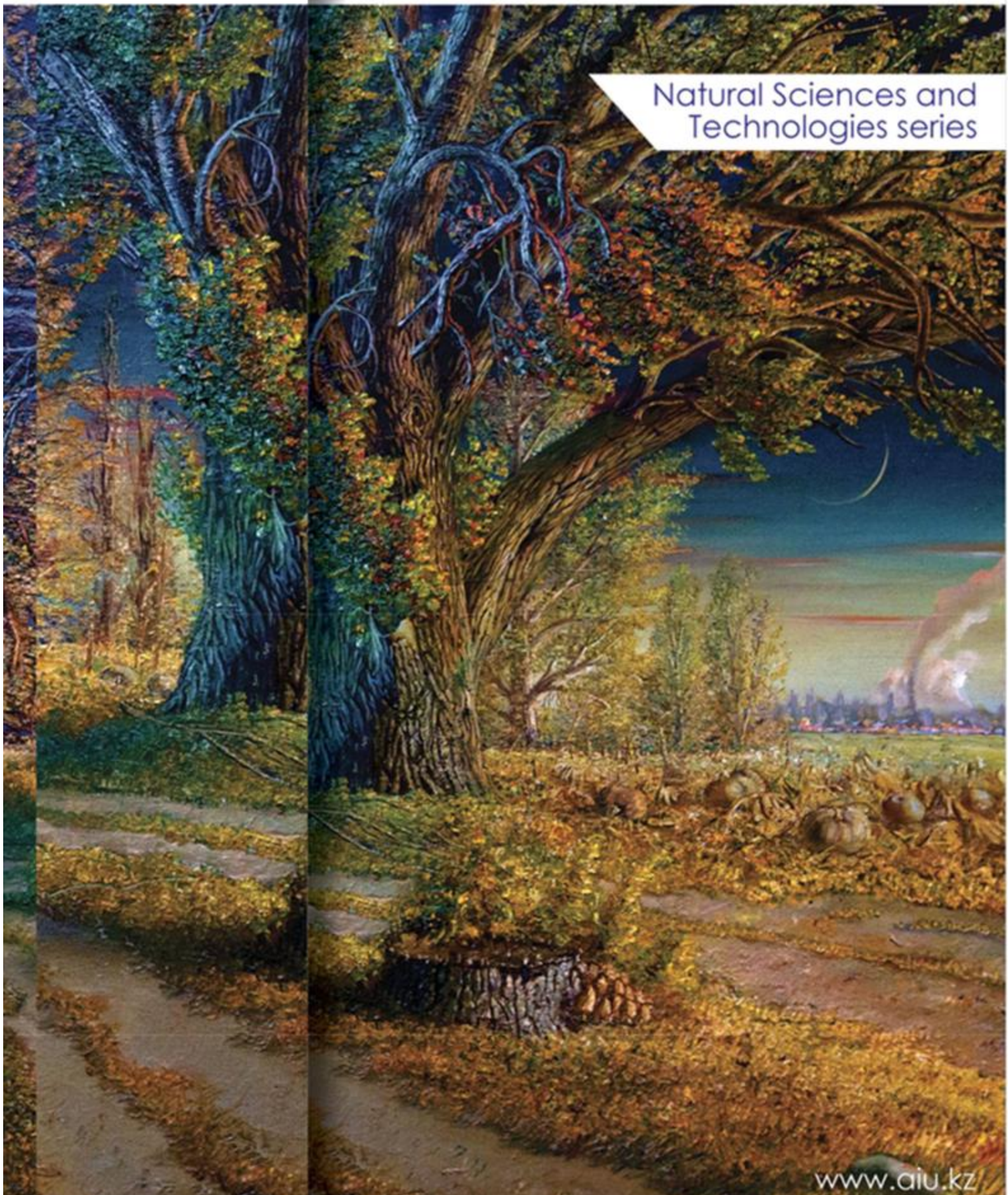


INTERNATIONAL SCIENCE REVIEWS



№1 (7) 2025

Natural Sciences and
Technologies series





INTERNATIONAL SCIENCE REVIEWS

Natural Sciences and Technologies series

Has been published since 2020

№1 (7) 2025

Astana

INTERNATIONAL SCIENCE REVIEWS. NATURAL SCIENCES AND TECHNOLOGIES SERIES ЖУРНАЛЫНЫҢ РЕДАКЦИЯСЫ

БАС РЕДАКТОР

Қалимолдаев Мақсат Нұрадилович, техникалық ғылымдар докторы, ҚР ҰҒА академигі, профессор, ҚР ҒЖБМ ҒК «Ақпараттық және есептеу технологиялары институты бас директорының кеңесшісі, бас ғылыми қызметкері (Қазақстан)

БАС РЕДАКТОРДЫҢ ОРЫНБАСАРЫ

Мырзағалиева Анар Базаровна, биология ғылымдарының докторы, профессор, бірінші вице-президент, Астана халықаралық университеті (Қазақстан);

РЕДАКТОРЛАР:

- **Сейткан Айнур Сейтканқызы**, техника ғылымдарының кандидаты, PhD, жаратылыстану ғылымдары жоғары мектебінің деканы, Астана халықаралық университеті (Қазақстан);

- **Муканова Асель Сериковна**, PhD, Ақпараттық технологиялар және инженерия жоғары мектебінің деканы, Астана халықаралық университеті (Қазақстан);

- **Абдилдаева Асель Асылбековна**, PhD, қауымдастырылған профессор, Әл-Фараби атындағы ҚазҰУ (Қазақстан);

- **Хлахула Иржи** PhD, профессор, Познаньдағы Адам Мицкевич атындағы университет (Польша);

- **Редферн Саймон А.Т.**, PhD, профессор, Наньян технологиялық университеті (Сингапур);

- **Сяолей Фенг**, PhD, Наньян технологиялық университеті (Сингапур);

- **Шуджаул Мулк Хан**, PhD, профессор, Каид-және-Азам университеті (Пакистан);

- **Базарнова Наталья Григорьевна**, химия ғылымдарының докторы, профессор, Химия және химиялық-фармацевтикалық технологиялар институты (Ресей);

- **Черёмушкина Вера Алексеевна**, биология ғылымдарының докторы, профессор, РҒА СБ Орталық Сібір ботаникалық бағы (Ресей);

- **Тасболатұлы Нұрболат**, PhD, Ақпараттық технологиялар және инженерия жоғары мектебі деканының орынбасары, Астана халықаралық университеті (Қазақстан);

- **Байшоланов Сакен Советович**, география ғылымдарының кандидаты, доцент, Астана халықаралық университеті (Қазақстан);

- **Нуркенов Серик Амангельдинович**, PhD, қауымдастырылған профессор, Астана халықаралық университеті (Қазақстан).

РЕДАКЦИЯ ЖУРНАЛА INTERNATIONAL SCIENCE REVIEWS. NATURAL SCIENCES AND TECHNOLOGIES SERIES

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР

Калимолдаев Максат Нурадилович, доктор технических наук, академик НАН РК, профессор, ГНС, советник генерального директора Института информационных и вычислительных технологии КН МНВО РК (*Казахстан*)

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА

Мырзагалиева Анар Базаровна, доктор биологических наук, профессор, первый вице-президент, Международный университет Астана (*Казахстан*)

РЕДАКТОРЫ:

- **Сейткан Айнур Сейтканкызы**, кандидат технических наук, PhD, декан высшей школы естественных наук, Международный университет Астана (*Казахстан*);
- **Муканова Асель Сериковна**, PhD, декан Высшей школы информационных технологии и инженерии, Международный университет Астана (*Казахстан*);
- **Абдилдаева Асель Асылбековна**, PhD, ассоциированный профессор, Казахский национальный университет имени Аль-Фараби (*Казахстан*);
- **Хлахула Иржи** PhD, профессор, Университет имени Адама Мицкевича в Познани (*Польша*);
- **Редферн Саймон А.Т.**, PhD, профессор, Наньянский технологический университет (*Сингапур*);
- **Фенг Сяолей**, PhD, Наньянский технологический университет (*Сингапур*);
- **Шуджаул Мулк Хан**, PhD, профессор, Университет Каид-и Азама (*Пакистан*);
- **Базарнова Наталья Григорьевна**, доктор химических наук, профессор, Институт химии и химико-фармацевтических технологий (*Россия*);
- **Черёмушкина Вера Алексеевна**, доктор биологических наук, профессор, Центральный Сибирский Ботанический сад СО РАН (*Россия*);
- **Тасболатұлы Нұрболат**, PhD, заместитель декана Высшей школы информационных технологии и инженерии, Международный университет Астана (*Казахстан*);
- **Байшоланов Сакен Советович**, кандидат географических наук, доцент, Международный университет Астана (*Казахстан*);
- **Нуркенов Серик Амангельдинович**, PhD, ассоциированный профессор, Международный университет Астана (*Казахстан*);

**EDITORIAL TEAM OF THE JOURNAL INTERNATIONAL SCIENCE REVIEWS.
NATURAL SCIENCES AND TECHNOLOGIES SERIES**

CHIEF EDITOR

Maksat Kalimoldayev, Doctor of Technical Sciences, Academician of NAS RK, Professor, SRF, CEO's counselor «The Institute of Information and Computational Technologies» CS MSHE RK (Kazakhstan)

DEPUTY CHIEF EDITOR

Anar Myrzagaliyeva, Doctor of Biological Sciences, Professor, First Vice-President, Astana International University (Kazakhstan)

EDITORS:

- **Ainur Seitkan**, Candidate of Technical Sciences, PhD, Dean of the Higher School of Natural Sciences, Astana International University (Kazakhstan);
- **Assel Mukanova**, PhD, Dean of the Higher School of Information Technology and Engineering, Astana International University (Kazakhstan);
- **Assel Abdildayeva**, PhD, Associate Professor, of the Department of Artificial Intelligence and Big Data, Al-Farabi Kazakh National University (Kazakhstan);
- **Jiri Chlachula**, PhD, Dr.Hab., Full Professor, Adam Mickiewicz University, Poznań (Poland);
- **Simon A.T. Redfern**, PhD, Professor, Nanyang Technological University (Singapore);
- **Xiaolei Feng**, PhD, Nanyang Technological University (Singapore);
- **Khan Shujaul Mulk**, PhD, Professor, Quaid-i-Azam University (Pakistan);
- **Natal'ya Bazarnova**, Doctor of Chemical Sciences, Professor, Institute of Chemistry and Chemical-Pharmaceutical Technologies (Russia);
- **Vera Cheryomushkina**, Doctor of Biological Sciences, Professor, Central Siberian Botanical Garden SB RAS (Russia);
- **Nurbolat Tasbolatuly**, PhD, Deputy Dean of the Higher School of Information Technology and Engineering, Astana International University (Kazakhstan);
- **Saken Baisholanov**, Candidate of Geographical Sciences, Associate Professor, Astana International University (Kazakhstan);
- **Serik Nurkenov**, PhD, Associate Professor, Astana International University (Kazakhstan).

Editorial address: 8, Kabanbay Batyr avenue, of.316, Nur-Sultan,
Kazakhstan, 010000

Tel.: (7172) 24-18-52 (ext. 316)

E-mail: natural-sciences@aiu.kz

International Science Reviews NST - 76153

International Science Reviews

Natural Sciences and Technologies series

Owner: Astana International University

Periodicity: quarterly

Circulation: 500 copies

CONTENT

1. A.A. Kussainova, O.Bulgakova Blood mtDNA Copy Number as a Potential Indicator of X-ray Radiation Exposure in Animals.....	7
2. А.Маллер, Ж.Адамжанова Идентификации почвенных бактерий города Астана с последующей оценкой их антибиотикорезистентности.....	14
3. А. М. Султанкулов К вопросу о формировании устойчивых университетов	32
4. А. М. Султанкулов, А. С. Сейткан, М.К. Карибаева Анализ экологической осведомленности студентов МУА	38
5. Ж.Сугурбаев Обоснование использования метода проб Питерсена в образовательной практике	47
6. А.Тыныкулова, Б.Таңырыс Проектирование платформы для автоматизированной генерации и оценки тестовых заданий	53
7. Д.Байғожанова, Н.Тасболатұлы, Қ.Нартай Архитектура интеллектуального управления в управленческих веб-приложениях с использованием MLOps и машинного обучения	62
8. М.И.Есбота, Г.Ж.Таганова Выбрать правильный стек технологий для разработки приложений искусственного интеллекта	71
9. Н. Ж.Жарасхан, С.А.Наурызбаева Посткванттық криптографиялық алгоритмдерді қауіпсіздік пен стандарттауға қолдану және бағалау критерийлері.....	81
10. А.Н.Сұлтанғазиева, Ж.Р.Абдуханова , Д.С.Молдаш Обзор методов и технологий для выявления ложных новостей на основе анализа текста и машинного обучения...	90
11. Т.Ә Талдықбаева, Ж.Т.Абдуллаева Определение фейковых отзывов с помощью машинного обучения.....	98
12. Т.Б.Бекбосынова Применение методов машинного обучения для автоматического распознавания опухолей головного мозга на мрт-снимках.....	104
13. А.Нарынбай Разработка и исследование алгоритмов сегментации и распознавания объектов на медицинских изображениях на основе нейронных сетей.....	111
14. Н.Г.Турсынбек Методы стратегического прогнозирования в финансовом менеджменте.....	117

МРНТИ 34.23.33. : 34.35.21

Идентификации почвенных бактерий города Астана с последующей оценкой их антибиотикорезистентности

А.Маллер*, Ж.Адамжанова

Высшая школа естественных наук, Международный университет Астана, Астана, Казахстан

*Автор-корреспондент

Аннотация: В данной статье рассматривается методика выделения и идентификации почвенных микроорганизмов с последующей оценкой их антибиотикорезистентности. В ходе выполнения данной работы была изучена антибиотикорезистентность микроорганизмов, обитающих в почве жилого комплекса район Жагалау, ЖК Аружан города Астаны. Из проб почвы были выделены 10 чистых культур бактерий (штаммы F1–F10), для которых были определены видовая принадлежность с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии и профиль чувствительности к ряду распространённых антибиотиков (пенициллин, тетрациклин, эритромицин, левомицетин). Исследование микрофлоры почвы района выявило высокое разнообразие почвенных микроорганизмов. Были выделены представители как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, включая спорообразующие формы. В частности, идентифицированы такие виды, как *Bacillus megaterium* и *Pseudomonas aeruginosa*. Для выделения микроорганизмов использовался метод посева на питательные среды, после чего проводилась их идентификация с применением с помощью масс-спектрометрии. Оценка устойчивости к антибиотикам осуществлялась методом диск-диффузии на агаре Мюллера-Хинтона. В ходе исследования были выделены различные бактериальные изоляты, среди которых обнаружены штаммы с устойчивостью к антибиотикам. Полученные результаты подчеркивают необходимость мониторинга антибиотикорезистентности в почвенных экосистемах и дальнейшего изучения механизмов устойчивости микроорганизмов. Научная новизна работы заключается в проведении комплексного исследования антибиотикорезистентности микроорганизмов почвы города Астана.

Ключевые слова: почвенные бактерии, MALDI-TOF MS, антибиотикорезистентность, диск-диффузионный метод, идентификация.

Введение

Проблема антибиотикорезистентности является одной из самых острых в области медицины, экологии и здравоохранения в целом. В последние десятилетия отмечается значительное увеличение числа случаев, когда микроорганизмы, ранее поддававшиеся лечению с помощью антибиотиков, приобретают устойчивость к этим препаратам. Этот процесс не только усложняет лечение инфекционных заболеваний, но и создает угрозу для общественного здоровья на глобальном уровне. Антибиотикорезистентность ведет к увеличению числа тяжелых и смертельных заболеваний, продлению сроков госпитализации и повышению финансовых затрат на медицинскую помощь.

Одним из важнейших факторов, способствующих развитию антибиотикорезистентности, является загрязнение окружающей среды, в том числе почвы, антибиотиками. Антропогенные воздействия, такие как чрезмерное и ненадлежащее использование антибактериальных средств в сельском хозяйстве, промышленности и здравоохранении, приводят к тому, что антибиотики оказываются в почвенных экосистемах. Микроорганизмы, находящиеся в почве, могут адаптироваться к присутствию этих веществ, что способствует развитию устойчивости к антибиотикам. В свою очередь, резистентные микроорганизмы могут передаваться в другие среды, включая воду, воздух, а также попадать в организм человека и животных, увеличивая риск распространения инфекций, трудно поддающихся лечению [1].

Особое внимание необходимо уделить крупным городам, где антропогенная нагрузка на экологическую среду значительно выше. В городах с высокой плотностью населения,

интенсивным транспортным движением и развитой промышленностью, как в столице Казахстана — городе Астана, почва может служить источником накопления антибиотикорезистентных микроорганизмов. В условиях мегаполиса повышенная концентрация антибиотиков в почве может быть связана с несоответствующим использованием антибактериальных средств в медицинской и ветеринарной практике, а также с загрязнением сточными водами, содержащими остатки препаратов.

Изучение антибиотикорезистентности микроорганизмов почвы города Астана становится особенно актуальным в контексте глобальных усилий по борьбе с антибиотикорезистентностью. Понимание распространения и механизма развития устойчивости в таких специфических экосистемах, как почва города, является необходимым шагом для разработки эффективных методов профилактики и контроля. Это также помогает оценить риски для здоровья населения и окружающей среды, что подчеркивает важность проведения таких исследований в мегаполисах с высокими уровнями загрязнения и антропогенной активности. Антибиотикорезистентность представляет собой эволюционный механизм микроорганизмов, позволяющий им выживать в присутствии антибиотиков. Этот процесс обусловлен генетическими изменениями, которые могут происходить спонтанно в результате мутаций или передаваться от одной бактерии к другой. Со временем бактерии, обладающие устойчивостью, приобретают селективное преимущество, вытесняя чувствительные организмы и распространяясь в популяции [2].

Материалы и методы

Для проведения исследования был выбран почвенный участок, расположенный в жилом районе Жагалау, около ЖК Аружан города Астаны. Это место характеризуется типичной городской нагрузкой и умеренным уровнем антропогенного воздействия. Сбор образцов осуществлялся в сухую погоду с использованием стерильного шпателя. Почва отбиралась с поверхности на глубине от 0 до 10 сантиметров. Чтобы получить репрезентативную пробу, материал собирали из нескольких точек участка и объединяли в один общий образец. При этом старались избегать участков с видимым загрязнением и удаляли крупные частицы, корни и растительные остатки. Такой подход обеспечивал более объективную характеристику микрофлоры почвы данной локации.

Для дальнейшего анализа из объединённой массы отмеряли по 1,5 грамма почвы, которую помещали в стерильную пробирку объёмом 50 мл. В пробирку добавляли 15 мл дистиллированной воды, после чего смесь интенсивно встряхивали в течение 1–2 минут. Полученную суспензию использовали как исходный материал для посева [3].

Отмечается, что разведения в десятичной шкале не проводились, что позволило сохранить максимальное количество микроорганизмов в посевном материале. Такой метод позволяет выявить широкий спектр бактерий, включая те, что присутствуют в низких количествах. Однако, из-за высокой концентрации, на чашках с питательной средой наблюдался обильный рост колоний, местами слипающихся. Это потребовало дополнительных пересевов для выделения чистых культур.

Для получения колоний почвенной микрофлоры суспензию в объёме 0,1–0,2 мл равномерно наносили на поверхность питательной среды (Nutrient Agar) в чашках Петри (рис.1). Посевы инкубировали при температуре +30 °C в течение 48 часов преимущественно в анаэробных условиях. Уже через сутки наблюдался рост большого количества бактериальных колоний различных размеров и морфологий. Это подтверждало высокую плотность микроорганизмов в исследуемой почве.

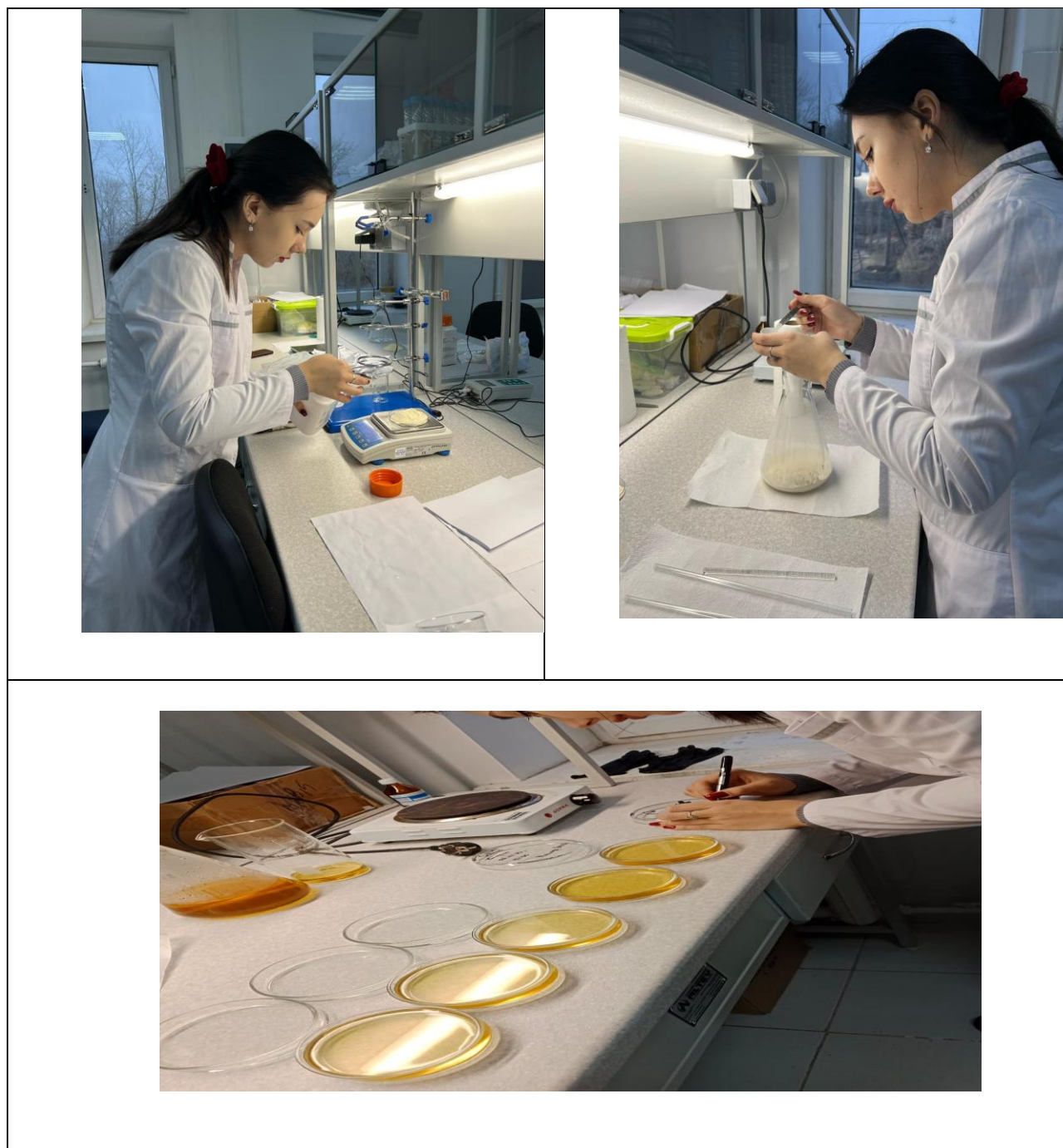


Рисунок 1- Приготовление питательной среды (Nutrient Agar)

Большинство выросших форм были мезофильными, а также встречались колонии, типичные для актиномицетов и бацилл. После оценки макроморфологии колоний часть из них была отобрана для дальнейшего изучения и выделения чистых культур. Так завершался первый этап микробиологического анализа — отбор и подготовка образцов [4].

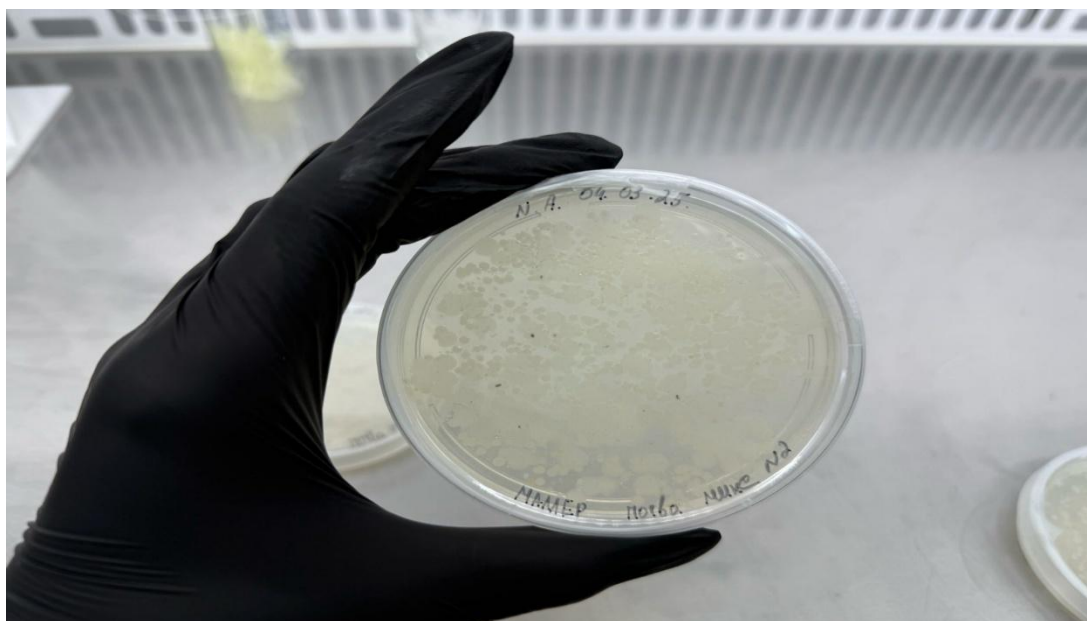


Рисунок 2 – Посев почвенной суспензии на питательную среду (мясо-пептонный агар) для выделения микроорганизмов

После получения суспензии из почвы её оставляли на 5–10 минут при комнатной температуре. Это необходимо для осаждения тяжёлых частиц, таких как песок, глина или органические включения. Надосадочную часть суспензии, содержащую наиболее активную микрофлору, аккуратно отбирали микропипеткой. Затем 0,1 мл этой жидкости наносили на поверхность чашки с мясо-пептонным агаром (МПА). Распределение проводили стерильным шпателем по всей поверхности среды, обеспечивая равномерный «газонный» посев (рис.2). Такой метод позволяет создать условия для роста как доминирующих, так и менее распространённых бактерий. После посева чашки немедленно помещали в термостат [5].

Инкубацию чашек проводили при температуре +30 °C, что соответствует оптимальному диапазону для большинства почвенных бактерий. Продолжительность выращивания составляла 48 часов, после чего оценивались результаты. Уже на следующий день на поверхности агара начали появляться первые бактериальные колонии. По завершении двух суток рост становился обильным, в некоторых местах колонии сливались между собой. Разнообразие морфологии — по цвету, форме и краю — свидетельствовало о высоком видовом разнообразии микроорганизмов в образце. Наблюдалось как мелкие прозрачные колонии, так и крупные пигментированные. Все чашки были пронумерованы и сфотографированы для дальнейшего анализа.

Общее количество выросших изолятов на чашках составило несколько сотен колоний. Это указывает на высокую бактериальную нагрузку почвы, взятой в районе Жагалау. Для дальнейшей работы выбирали только отдельные, хорошо изолированные колонии, не соприкасающиеся с соседними. Критериями отбора служили размер, цвет, форма и другие морфологические признаки. Отобранные колонии переносили на новые чашки с МПА для получения чистых культур. Это позволяло исключить перекрёстное заражение и получить монокультуры для дальнейшей идентификации и тестирования на антибиотикорезистентность. Таким образом, завершался этап первичного выделения и предварительной селекции микроорганизмов из почвенной пробы.

После завершения первичного посева и роста смешанных колоний на мясо-пептонном агаре следующим этапом стало выделение чистых культур. Для этого из общего газона отбирались изолированные колонии, отличающиеся по морфологическим признакам: цвету, форме, краям, размеру и текстуре. Отбор проводился стерильной петлёй под визуальным

контролем. Колонии переносили на новые чашки Петри с той же питательной средой — Nutrient Agar. Целью пересева было получение монокультур, состоящих из бактерий одного типа, что необходимо для точной идентификации и анализа. Такой подход исключает перекрёстное загрязнение и позволяет проводить последующие тесты корректно. Каждая чашка маркировалась в соответствии с номером штамма и датой посева [4].

Выделенные культуры высевали на агар штриховым методом, обеспечивая равномерное распределение клеток и получение отдельных колоний при повторной инкубации. Процедура проводилась в стерильных условиях, с использованием ламинарного бокса и автоклавированных инструментов. Чашки инкубировали при температуре +30 °C в течение 24–48 часов. Уже через сутки наблюдался рост отдельных, отчётливо отделённых друг от друга колоний. Визуально фиксировались как типичные формы (гладкие, белые), так и необычные, пигментированные или шероховатые колонии. Это позволило предварительно предположить принадлежность к разным бактериальным родам. После второго пересева культуры считались чистыми [4].

В общей сложности было выделено 10 штаммов бактерий, каждому из которых присвоили условное обозначение: F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8, F9 и F10. Такая маркировка позволила избежать путаницы при дальнейшем микробиологическом анализе и обеспечила единый протокол наблюдений. Каждый штамм имел уникальные морфологические характеристики, что давало основание предполагать их принадлежность к различным видам. Некоторые колонии были крупными и слизистыми, другие — сухими и шероховатыми, отдельные штаммы имели специфический запах. Все эти параметры заносились в лабораторный журнал и сопровождалась фотодокументацией. Это позволило систематизировать наблюдения на этапе первичного анализа.

Полученные изоляты были перенесены на скошенный мясо-пептонный агар для краткосрочного хранения и поддержания жизнеспособности. Чистые культуры сохранялись при температуре +4 °C до проведения MALDI-TOF идентификации и тестов на антибиотикорезистентность. Такой способ консервации позволяет сохранить морфологические свойства и биохимическую активность микроорганизмов в течение нескольких недель. Штаммы F1–F10 стали основным объектом для последующего микробиологического анализа. Они были включены в протокол, проанализированы с помощью масс-спектрометрии и протестированы на чувствительность к четырём антибиотикам. Эти культуры легли в основу всей экспериментальной части исследования (рис.3).

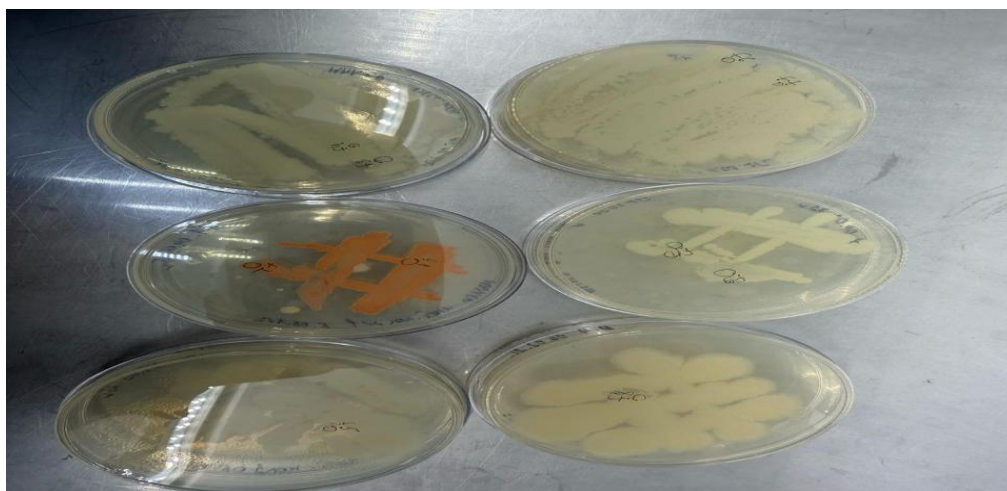


Рисунок 3 – Чистые культуры выделенных почвенных бактерий (штаммы F1–F10) на питательном агаре

Для определения видовой принадлежности выделенных культур использовали метод масс-спектрометрии с матричной активированной лазерной десорбцией/ионизацией в режиме времени пролёта (MALDI-TOF MS). Каждую чистую культуру наносили на мишень масс-спектрометра, обрабатывали матрицей и анализировали с помощью прибора типа Bruker MALDI Biotyper. Идентификацию выполняли путем сравнения полученного спектра белков с эталонной базой данных микроорганизмов. Видовую принадлежность считали достоверно установленной при величине скоринга $\geq 2,0$ (что указывает на высокую вероятность правильной идентификации до вида). Значения 1,7–1,99 рассматривались как допустимые для идентификации рода, а результаты ниже 1,7 считались недостоверными.

В ходе MALDI-TOF анализа часть изолятов была успешно идентифицирована до вида. В частности, штамм F6 однозначно определён как *Pseudomonas aeruginosa* (скор $> 2,0$), а штаммы F3, F9 и F10 с определённой вероятностью отнесены к виду *Bacillus megaterium* (новая родовая принадлежность – *Priestia megaterium*; скор $\sim 1,8–2,1$). Остальные изоляты (F1, F2, F4, F5, F7, F8) не получили надёжного соответствия в базе данных (скор $< 1,7$), что может быть связано либо с отсутствием этих видов в базе, либо с тем, что спектры были недостаточно качественными. Для них видовая принадлежность осталась неустановленной на данном этапе, и они условно обозначены только по номеру штамма.

После получения чистых культур на МПА бактерии были готовы к дальнейшей идентификации. Для этого использовалась технология MALDI-TOF MS (рис.4). Данный метод позволяет определять видовую принадлежность микроорганизмов по их белковому профилю. С каждой чистой колонии бактериальную биомассу аккуратно наносили на поверхность специальной мишени (матрицы) прибора. Поверх добавляли раствор матрицы — чаще всего α -циан-4-гидроксикоричная кислота (HCCA). После высушивания мишени образцы анализировали в спектрометре Bruker Biotyper. Каждый образец давал уникальный спектр масс, который сравнивался с базой данных.

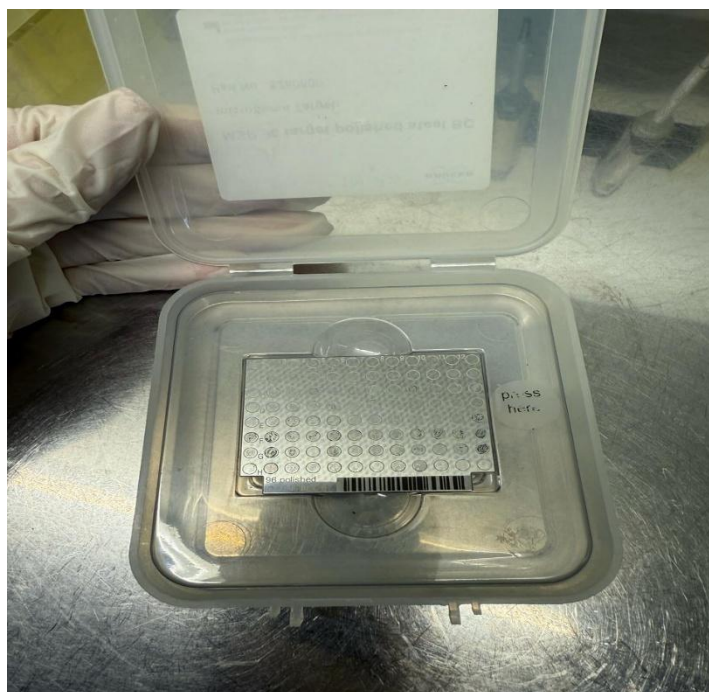


Рисунок 4 – Нанесение образцов на матрицу MALDI-TOF MS (штаммы F1–F10)

Идентификация осуществлялась автоматически: компьютерная программа сопоставляла спектры исследуемых культур со спектрами, хранящимися в библиотеке. Основным критерием надёжности определения является значение «score» (балл сопоставления), выдаваемое программой. Значения ≥ 2.000 интерпретируются как достоверное определение до вида, 1.700–1.999 — до рода, а < 1.700 — как недостоверные результаты. В результате анализа из 10 культур достоверно были идентифицированы два штамма. Штамм F6 определён как *Pseudomonas aeruginosa*, а F9 — как *Priestia megaterium* (ранее — *Bacillus megaterium*). Остальные штаммы показали score ниже 1.7, что не позволило надёжно установить их принадлежность.

Analyte Name	Organism (best match)	Score Value
F1 (-)(C)	not reliable identification	1.298
F10 (+)(B)	<i>Priestia megaterium</i>	1.922
F2 (-)(C)	not reliable identification	1.633
F3 (+)(B)	<i>Priestia megaterium</i>	1.847
F4 (-)(C)	not reliable identification	1.413
F5 (-)(C)	not reliable identification	1.437
F6 (++)(A)	 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2.023
F7 (-)(C)	not reliable identification	1.538
F8 (-)(C)	not reliable identification	1.536
F9 (++)(A)	<i>Priestia megaterium</i>	2.131

Рисунок 5 – Результаты идентификации микроорганизмов по технологии MALDI-TOF MS (штаммы F1–F10)

Причинами низких баллов могли быть как недостаточная концентрация белков в образце, так и отсутствие данных о редких почвенных микроорганизмах в библиотеке Bruker. Тем не менее, даже приблизительное определение на уровне рода даёт ценную информацию для микробиологического анализа. Например, наличие *P. aeruginosa* — типичного условно-патогенного микроорганизма — указывает на санитарную значимость пробы. *Priestia megaterium*, напротив, относится к спорообразующим сапрофитам, часто встречающимся в почве и обладающим ферментативной активностью. Таким образом, MALDI-TOF позволил установить как минимум частичную таксономическую картину микробного состава исследуемой почвы. Полученные результаты были внесены в таблицу и использовались на следующих этапах анализа антибиотикочувствительности (рис5).

На следующем этапе исследования чистые культуры выделенных почвенных бактерий подвергались анализу на антибиотикочувствительность. Целью данного этапа являлось выявление наличия устойчивости к распространённым антибактериальным препаратам. Для этого был применён модифицированный метод диско-диффузии на агаре — один из наиболее распространённых и простых в исполнении микробиологических тестов. Метод основан на способности антибиотиков диффундировать из пропитанного бумажного диска в агар и подавлять рост чувствительных бактерий. Визуально это проявляется образованием светлой зоны вокруг диска — зоны ингибирования роста. Отсутствие такой зоны или её малая ширина указывает на устойчивость тестируемого штамма. Метод позволяет не только качественно, но и полуколичественно оценить степень чувствительности микроорганизмов [6].

В качестве тестируемых препаратов были выбраны четыре антибиотика, относящиеся к различным фармакологическим группам. Это пенициллин — классический β -лактамный антибиотик, активно используемый в медицине; тетрациклин — представитель группы тетрациклинов, обладающий широким спектром действия; гентамицин — аминогликозид, эффективный против грамотригативных бактерий; и левомицетин (хлорамфеникол) — препарат широкого профиля из группы фениколов. Подбор именно этих антибиотиков был обусловлен их клинической значимостью и частотой использования в ветеринарии, медицине и сельском хозяйстве. Это обеспечивало практическую актуальность результатов, полученных в исследовании. Кроме того, выбор препаратов позволил охватить разные механизмы действия и устойчивости.

Перед началом анализа для каждого штамма готовили свежую густую бактериальную суспензию. Клеточную массу с поверхности агаровых чашек переносили в стерильный физиологический раствор. Концентрация суспензии доводилась до стандартного уровня 0,5 по шкале McFarland, что соответствует примерно $1-2 \times 10^8$ КОЕ/мл. Это значение обеспечивает сопоставимость результатов и позволяет исключить влияние плотности инокулята на диффузию антибиотика. Готовую суспензию равномерно наносили на поверхность чашки с мясо-пептонным агаром с помощью стерильного ватного тампона. При этом следили за тем, чтобы поверхность была полностью покрыта, формируя равномерный «газон» роста бактерий. После этого чашки оставляли на 10–15 минут для впитывания суспензии [4].

На подготовленную поверхность чашек помещали бумажные диски диаметром 6 мм, вырезанные из фильтровальной бумаги и стерилизованные предварительно в автоклаве. Каждый диск пропитывался 5 мкл раствора соответствующего антибиотика, приготовленного с конечной концентрацией 10 мг/мл. Это количество обеспечивало необходимую нагрузку действующего вещества, аналогичную заводским стандартам. На одну чашку помещали по четыре диска, размещая их равномерно по секторам. Обозначения наносились на обратную сторону чашки: «Пен» — пенициллин, «Тетр» — тетрациклин, «Гент» — гентамицин, «Лев» — левомицетин. Такой подход позволял тестировать несколько антибиотиков одновременно и экономить расходные материалы (рис 6).

Чашки с нанесёнными дисками помещали в термостат и инкубировали при температуре 30 °C в течение 24 часов. По истечении срока инкубации наблюдали наличие и размер зон ингибирования вокруг каждого диска. Измерения проводились с помощью линейки или штангенциркуля, фиксируя диаметр зоны в миллиметрах, включая сам диск. Зоны диаметром менее 10 мм интерпретировались как признаки устойчивости, тогда как зоны более 15 мм — как высокая чувствительность. Все полученные данные заносились в таблицу, включающую штамм, название антибиотика и размер зоны. Эти значения стали основой для последующего анализа уровня резистентности почвенных бактерий.

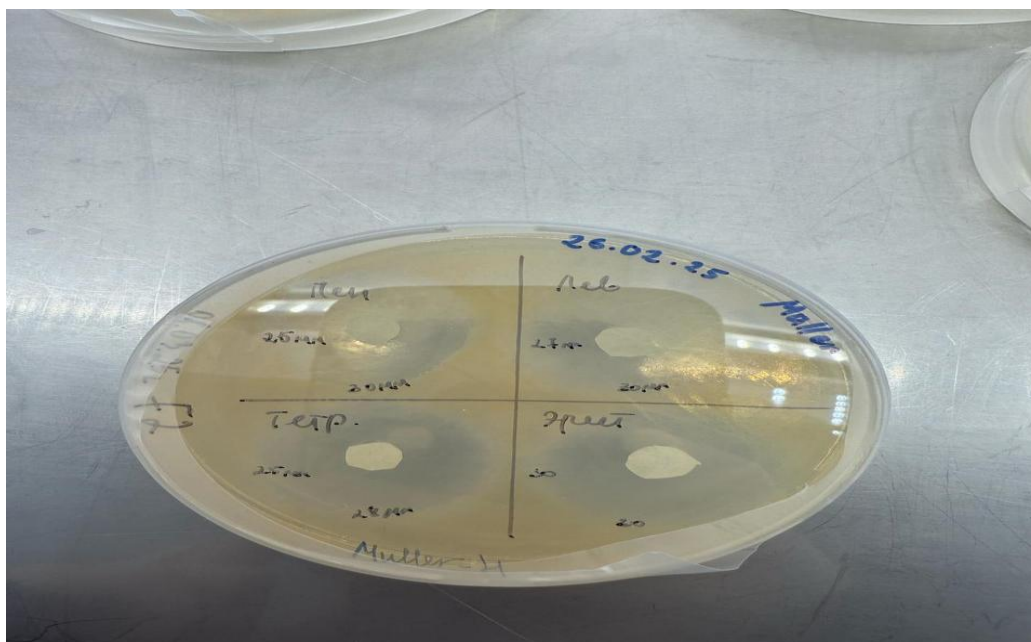


Рисунок 6 – Тест на чувствительность выделенного штамма к 4 антибиотикам методом диско-диффузии (диски: Пен – пенициллин, Лев – левомицетин, Тетр – тетрациклин, Эрит – эритромицин; указаны измеренные диаметры зон, мм).

На следующем этапе исследования чистые культуры выделенных почвенных бактерий подвергались анализу на антибиотикочувствительность [6]. Целью данного этапа являлось выявление наличия устойчивости к распространённым антибактериальным препаратам. Для этого был применён модифицированный метод диско-диффузии на агаре — один из наиболее распространённых и простых в исполнении микробиологических тестов. Метод основан на способности антибиотиков диффундировать из пропитанного бумажного диска в агар и подавлять рост чувствительных бактерий. Визуально это проявляется образованием светлой зоны вокруг диска — зоны ингибирования роста. Отсутствие такой зоны или её малая ширина указывает на устойчивость тестируемого штамма. Метод позволяет не только качественно, но и полуколичественно оценить степень чувствительности микроорганизмов.

В качестве тестируемых препаратов были выбраны четыре антибиотика, относящиеся к различным фармакологическим группам. Это пенициллин — классический β -лактамный антибиотик, активно используемый в медицине; тетрациклин — представитель группы тетрациклинов, обладающий широким спектром действия; эритромицин — макролидный антибиотик, эффективный против грамположительных и некоторых грамотрицательных бактерий; и левомицетин (хлорамфеникол) — препарат широкого профиля из группы фениколов. Подбор именно этих антибиотиков был обусловлен их клинической значимостью и частотой использования в ветеринарии, медицине и сельском хозяйстве. Это обеспечивало практическую актуальность результатов, полученных в исследовании. Кроме того, выбор препаратов позволил охватить разные механизмы действия и устойчивости [6].

Перед началом анализа для каждого штамма готовили свежую густую бактериальную суспензию. Клеточную массу с поверхности агаровых чашек переносили в стерильный физиологический раствор. Концентрация суспензии доводилась до стандартного уровня 0,5 по шкале McFarland, что соответствует примерно $1-2 \times 10^8$ КОЕ/мл. Это значение обеспечивает сопоставимость результатов и позволяет исключить влияние плотности инокулята на диффузию антибиотика. Готовую суспензию равномерно наносили на поверхность чашки с мясо-пептонным агаром с помощью стерильного ватного тампона. При этом следили за тем,

чтобы поверхность была полностью покрыта, формируя равномерный «газон» роста бактерий. После этого чашки оставляли на 10–15 минут для впитывания суспензии.

На подготовленную поверхность чашек помещали бумажные диски диаметром 6 мм, вырезанные из фильтровальной бумаги и стерилизованные предварительно в автоклаве. Каждый диск пропитывался 5 мкл раствора соответствующего антибиотика, приготовленного с конечной концентрацией 10 мг/мл. Это количество обеспечивало необходимую нагрузку действующего вещества, аналогичную заводским стандартам. На одну чашку помещали по четыре диска, размещая их равномерно по секторам. Обозначения наносились на обратную сторону чашки: «Пен» — пенициллин, «Тетр» — тетрациклин, «Эрит» — эритромицин, «Лев» — левомицетин. Такой подход позволял тестировать несколько антибиотиков одновременно и экономить расходные материалы.

Чашки с нанесёнными дисками помещали в термостат и инкубировали при температуре 30 °С в течение 24 часов. По истечении срока инкубации наблюдали наличие и размер зон ингибирования вокруг каждого диска. Измерения проводились с помощью линейки, фиксируя диаметр зоны в миллиметрах, включая сам диск. Зоны диаметром менее 10 мм интерпретировались как признаки устойчивости, тогда как зоны более 15 мм — как высокая чувствительность. Все полученные данные заносились в таблицу, включающую штамм, название антибиотика и размер зоны. Эти значения стали основой для последующего анализа уровня резистентности почвенных бактерий.

Результаты и обсуждение

Для работы с чистыми культурами, изначально произвели посев смешанных штаммов из почвенной суспензии (Рис.7). Полученные колонии были посеяны на отдельные чашки Петри (Рис. 8.) Далее была проведена их идентификация и проверка на антибиотикорезистентность.

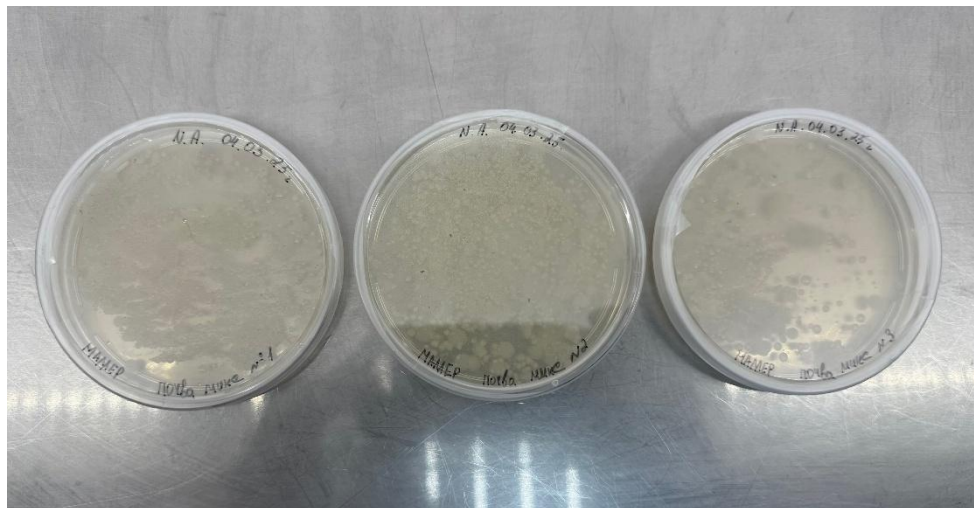


Рисунок 7– Посев почвенной суспензии на питательную среду (мясо-пептонный агар) для выделения микроорганизмов



Рисунок 8 – Чистые культуры выделенных почвенных бактерий (штаммы F1–F10) на питательном агаре

В результате микробиологического посева почвенной суспензии удалось выделить 10 штаммов микроорганизмов. Каждому штамму была присвоена индивидуальная маркировка: F1, F2, F3, F4, F5, F6, F7, F8, F9 и F10. Отобранные изоляты различались по морфологическим признакам, включая форму, цвет, размер, рельеф и консистенцию колоний. Это позволило предположить, что бактерии принадлежат к разным родам и видам. Все колонии были выделены в чистом виде и сохранены на скошенном агаре для дальнейшего анализа. Проведение идентификации и тестирования на чувствительность к антибиотикам осуществлялось именно на этих культурах. Работа с чистыми изолятами обеспечивала надёжность полученных данных.

Из всех полученных штаммов два удалось точно идентифицировать с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии. Штамм F6 был отнесён к виду *Pseudomonas aeruginosa*, хорошо известному своей устойчивостью к многим классам антибиотиков. Это грамотрицательная подвижная палочка, часто встречающаяся в клинической и окружающей среде, особенно в урбанизированных почвах. Она образует характерный сине-зелёный пигмент — пиоцианин, что может служить дополнительным морфологическим признаком. Штаммы F3, F9 и F10 идентифицированы как *Bacillus megaterium*, ныне классифицируемый как *Priestia megaterium* — это крупные грамположительные спорообразующие палочки. Эти микроорганизмы широко распространены в почве и обладают способностью к продукции ферментов. Остальные штаммы остались неидентифицированными из-за низкого балла сопоставления в базе данных.

Неидентифицированные штаммы F1, F2, F4, F5, F7 и F8 тем не менее демонстрировали уникальные морфологические особенности. Например, штамм F8 формировал кремовые пигментированные колонии с ровными краями, что указывает на возможную принадлежность к роду *Micrococcus* или *Kocuria*. Штамм F7, напротив, характеризовался чрезвычайно мелкими и сухими колониями, типичными для актинобактерий. Штамм F5 имел мукоидную поверхность и быстро рос на агаре, а F2 образовывал плотно прилегающие, выпуклые колонии. Такие наблюдения позволяют выдвигать предварительные гипотезы о таксономической принадлежности культур. Однако для точного определения необходимы более глубокие молекулярные исследования, например, секвенирование 16S рРНК. Эти методы могут подтвердить или опровергнуть предположения, сделанные на основе морфологии.

Следующим этапом исследования стало определение чувствительности всех восьми штаммов к четырём антибиотикам: пенициллину, тетрациклину, гентамицину и левомицетину. Эти препараты относятся к различным группам и обладают разными механизмами действия, что делает их удобными для оценки устойчивости бактерий. Метод диско-диффузии позволял наглядно определить наличие или отсутствие чувствительности к каждому из препаратов. Тест проводился в стандартных условиях, с применением бумажных дисков, пропитанных растворами антибиотиков концентрацией 10 мг/мл. После инкубации зоной ингибирования считалась область вокруг диска, где отсутствовал рост бактерий. Чем больше была эта зона, тем выше считалась чувствительность штамма к данному антибиотику.

Результаты тестирования всех штаммов были сведены в единую таблицу. В неё вошли данные по каждому изоляту: диаметр зоны ингибирования роста, измеренный в миллиметрах. Например, штаммы F3 и F9 показали наибольшие зоны подавления роста — до 30 мм при воздействии тетрациклина и левомицетина. Это указывает на высокую чувствительность этих штаммов к данным препаратам. В противоположность им, штамм F6 не имел зоны ингибирования вокруг дисков с пенициллином, тетрациклином и левомицетином, что свидетельствует о полной устойчивости. Такой результат был ожидаемым, учитывая природную устойчивость *P. aeruginosa* к ряду антибиотиков.

Интерес представляют штаммы F2 и F4, продемонстрировавшие частичную или избирательную устойчивость. У F2 отсутствовала зона подавления роста при воздействии пенициллина и левомицетина, но наблюдалась умеренная чувствительность к тетрациклину и эритромицину (12–15 мм). Штамм F4 показал хорошую чувствительность только к эритромицину (22 мм), а к остальным препаратам зоны составляли менее 10 мм. Такой профиль может свидетельствовать о наличии специфических механизмов устойчивости — например, продукции β -лактамаз или эффлюксных насосов. Анализ таких частично устойчивых форм важен для понимания ранних стадий формирования резистентности. Эти изоляты требуют дальнейшего изучения с молекулярной точки зрения.

Полученные результаты подтверждают высокую вариативность антибиотикочувствительности среди бактерий, выделенных из одной и той же почвы. Из восьми протестированных штаммов только два продемонстрировали широкую чувствительность ко всем четырём антибиотикам. Три штамма оказались устойчивыми к двум и более препаратам, а один штамм (*P. aeruginosa*) проявил полную множественную устойчивость. Это указывает на наличие в городской почве Жагалау не только сапрофитной, но и потенциально опасной микрофлоры. Выявление таких форм требует усиленного внимания и разработки программ экологического мониторинга. Полученные данные легли в основу последующего анализа, представленного в следующих разделах дипломной работы.

Таблица 1 – Результаты определения антибиотикочувствительности почвенных изолятов F1–F10 (диаметры зон задержки роста вокруг дисков, мм).

Шт амм	Пеницилли н, мм	Тетрацикли н, мм	Эритромиц ин, мм	Левоми цетин, мм
F1	19	26	22	23
F2	6	12	15	8
F3	22	30	18	25
F4	10	6	22	6
F5	15	25	14	20
F6	6	6	18	6
F7	6	20	6	15
F8	12	25	25	18
F9	24	28	20	30
F10	22	19	25	30

Анализ таблицы 1 (Таблица 1) показывает, что реакции различных почвенных штаммов на антибиотики существенно отличаются. Визуально эти различия отражены на диаграмме (рис. 9). Так, штаммы F3 и F9 (идентифицированные как *Bacillus megaterium*) продемонстрировали высокую чувствительность ко всем протестированным антибиотикам – диаметры зон ингибирования у них максимальные (25–30 мм для тетрациклина и левомицетина, около 20 мм для пенициллина и гентамицина). Это означает, что данные *Bacillus* не обладают механизмами устойчивости к указанным препаратам и их рост эффективно подавляется антибиотиками широкого спектра.

Штамм F6 (*P. aeruginosa*), напротив, оказался множественно устойчивым. В опытах с пенициллином, тетрациклином и левомицетином вокруг дисков не наблюдалось зон ингибирования (полный рост вплотную к дискам, диаметр зоны 6 мм), что свидетельствует об устойчивости синегнойной палочки к этим антибиотикам. Лишь гентамицин оказал умеренное действие на F6 – зона около 18 мм, что можно расценить как чувствительность или промежуточную чувствительность *Pseudomonas aeruginosa* к этому аминогликозиду. Известно, что *Pseudomonas* обладает природной резистентностью ко многим β -лактамам и тетрациклину за счёт барьерной функции наружной мембраны и эффлюксных насосов, тогда как к гентамицину некоторые штаммы остаются восприимчивыми – наши результаты это подтверждают.

Штамм F2 также проявил широкий спектр устойчивости. Для пенициллина и левомицетина у F2 зоны отсутствовали вовсе (6–8 мм), а для тетрациклина зона была небольшая (12 мм). Некоторый эффект наблюдался только у эритромицина (15 мм), однако этот диаметр всё ещё значительно меньше, чем у чувствительных культур, что указывает на пониженную чувствительность. Таким образом, изолят F2 можно считать резистентным ко всем четырём испытанным антибиотикам (особенно ярко – к пенициллину и левомицетину). Неидентифицированный штамм F2, вероятно, обладает механизмами защиты, например, β -лактамазной активностью и эффлюксом, что требует дальнейшего изучения.

Штамм F4 проявил избирательную чувствительность: устойчивость к пенициллину, тетрациклину и левомицетину (зоны 6–10 мм), но отчётливая чувствительность к эритромицину (22 мм). Такой профиль может указывать, что F4 – грамотрицательный микроорганизм (часто они устойчивы к пенициллину и хлорамфениколу, но восприимчивы к аминогликозидам). Например, некоторые почвенные энтеробактерии или неспорообразующие палочки могут обладать схожим паттерном чувствительности.

Штамм F5 оказался относительно чувствительным: большие зоны при тетрациклине (25 мм) и левомицетине (20 мм) свидетельствуют о эффективности этих препаратов. Пенициллин и эритромицин действовали хуже (зоны 15 мм и 14 мм соответственно), но тем не менее рост немного подавили. Можно предположить промежуточную устойчивость F5 к пенициллину и гентамицину и сохраненную чувствительность к тетрациклину и левомицетину. Подобный смешанный профиль часто характерен для условно-патогенных грамположительных кокков (например, некоторые стафилококки устойчивы к пенициллину, но сохраняют чувствительность к левомицетину и тетрациклину). MALDI-TOF не определил F5, однако его антибиотикограмма даёт основания предположить, что это грамположительный микроорганизм.

Штамм F7 проявил уникальный профиль: полная устойчивость к пенициллину и гентамицину (зон нет), но заметная чувствительность к тетрациклину (20 мм). Чувствительность к левомицетину была умеренной (15 мм). Такое сочетание – редкость, поскольку большинство бактерий, устойчивых к эритромицину, зачастую имеют механизмы и против тетрациклина. Возможно, F7 относится к группе актинобактерий (например, *Streptomyces* или родственные), которые природно устойчивы ко многим антибиотикам, но

могут быть восприимчивы к тетрациклинам. Также не исключено, что F7 – медленно растущий вид, и небольшие зоны связаны с особенностями роста.

Штамм F8 показал хороший эффект от эритромицина и тетрациклина (широкие зоны ~25 мм), тогда как пенициллин и левомицетин действовали слабее (12 мм и 18 мм соответственно). Это указывает на чувствительность F8 к препаратам всех четырёх групп, однако степень чувствительности различается. Вероятно, у F8 отсутствуют β -лактамазы, раз он относительно чувствителен к пенициллину, но, возможно, присутствуют другие механизмы умеренной устойчивости, снижающие эффективность хлорамфеникола. В целом же F8 можно отнести к числу поли-чувствительных штаммов (в нашем наборе к таким относятся F3, F8, F9).

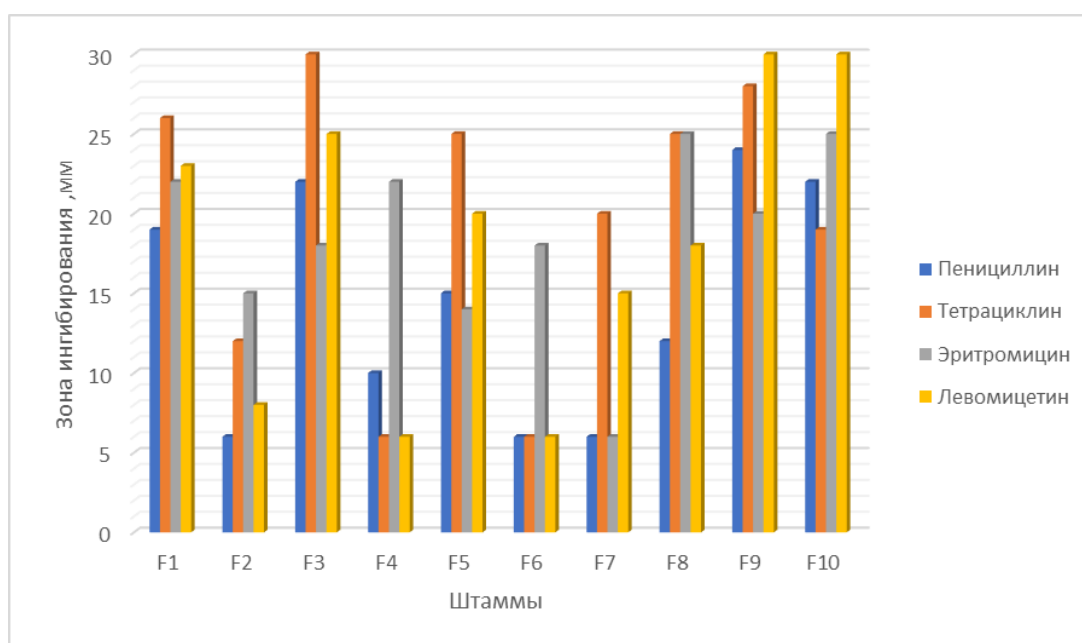


Рисунок 9 – Диаграмма средних диаметров зон ингибирования роста для каждого штамма (F1–F10) под действием 4 антибиотиков: пенициллина, тетрациклина, эритромицина и левомицетина

Анализ диаграммы, представленной на рисунке 9 (рис.9), позволяет наглядно сравнить чувствительность штаммов F1–F10 к четырём исследуемым антибиотикам. Столбцы на графике отражают средние значения диаметров зон ингибирования, измеренные в миллиметрах. Штаммы F3, F8 и F9 демонстрируют высокие показатели по всем четырём препаратам, что указывает на выраженную чувствительность. Их зоны ингибирования в большинстве случаев превышают 20 мм, а в некоторых случаях достигают 30 мм. Это позволяет отнести их к группе поли-чувствительных микроорганизмов, не обладающих механизмами устойчивости. Наличие таких штаммов свидетельствует о сохранности естественной микрофлоры, не подверженной выраженному селективному давлению. В условиях городской почвы это положительный признак.

С другой стороны, штаммы F2, F4, F6 и F7 показали низкие или вовсе отсутствующие зоны ингибирования по ряду антибиотиков. В частности, штамм F6 (*Pseudomonas aeruginosa*) оказался полностью устойчивым к пенициллину, тетрациклину и левомицетину. Это типично для данного вида, обладающего широкой природной резистентностью. У штамма F2 отсутствовала чувствительность к левомицетину и пенициллину, а зоны при действии эритромицина и тетрациклина не превышали 12–15 мм. Подобная картина наблюдалась и у F4 и F7, для которых была характерна избирательная чувствительность: например, устойчивость

к тетрациклину при сохранении умеренной чувствительности к эритромицину. Такие штаммы относят к категории мультирезистентных, поскольку они демонстрируют устойчивость минимум к двум группам препаратов.

Особый интерес представляет штамм F5, который продемонстрировал промежуточную чувствительность. Его зоны ингибирования составляли от 14 до 25 мм в зависимости от препарата. Он оказался наиболее чувствителен к тетрациклину (25 мм) и левомицетину (20 мм), в то время как чувствительность к пенициллину и эритромицину была на грани умеренной устойчивости (14–15 мм). Такой смешанный профиль можно отнести к категории частично чувствительных штаммов. Подобные бактерии могут представлять скрытую опасность, поскольку при неблагоприятных условиях способны наращивать устойчивость. Это подчёркивает необходимость регулярного мониторинга даже тех культур, которые ещё не проявляют полной резистентности.

В результате анализа антибиотикочувствительности из восьми штаммов, выделенных из почвы района Жагалау, четыре продемонстрировали множественную устойчивость, а четыре — различную степень чувствительности. Это указывает на то, что микробное сообщество городской почвы является гетерогенным и включает как безопасные, так и потенциально опасные формы. Присутствие мультирезистентных изолятов подтверждает факт селективного давления, обусловленного антропогенными факторами. Одновременно, наличие чувствительных штаммов демонстрирует, что в почве ещё сохраняется естественная микрофлора. Эти результаты подчёркивают актуальность исследования и необходимость расширения мониторинга на другие участки города. Полученные данные могут быть использованы как основа для оценки экологических рисков, связанных с антибиотикорезистентностью в почвенных биотопах.

Заключение

В ходе данной работы была изучена антибиотикорезистентность микроорганизмов, обитающих в почве жилого района крупного города (Астана, район Жагалау). Из проб почвы выделены 8 чистых культур бактерий (штаммы F1–F10), для которых определены видовая принадлежность (с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии) и профиль чувствительности к ряду распространённых антибиотиков (пенициллин, тетрациклин, эритромицин, левомицетин). Полученные результаты позволили сделать следующие выводы.

Исследование микрофлоры почвы района Жагалау выявило высокое разнообразие почвенных микроорганизмов. Были выделены представители как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий, включая спорообразующие формы. В частности, идентифицированы такие виды, как *Bacillus megaterium* и *Pseudomonas aeruginosa*. Кроме них, в образце присутствуют и неидентифицированные штаммы, обладающие разной морфологией и характеристиками роста. Это говорит о высоком биоразнообразии, типичном для почвы, подвергшейся смешанному воздействию природных и антропогенных факторов. Разнообразие указывает на сложность и богатство городской микробиоты, требующей дальнейшего изучения.

Среди выделенных бактерий были обнаружены штаммы, устойчивые к нескольким группам антибиотиков. Половина всех изолятов (F2, F4, F6, F7) показала устойчивость как минимум к трём из четырёх тестируемых препаратов. Особенно примечателен штамм F6 (*Pseudomonas aeruginosa*), у которого отсутствовали зоны ингибирования при действии пенициллина, тетрациклина и левомицетина. Такой уровень устойчивости указывает на наличие эффективных защитных механизмов, включая эффлюксные насосы и ферменты инактивации антибиотиков. Эти микроорганизмы потенциально опасны, так как могут стать источником передачи генов устойчивости другим бактериям, включая патогены. Их присутствие в городской почве является тревожным экологическим сигналом.

Наряду с устойчивыми формами были выделены и чувствительные изоляты. К ним относятся штаммы F3, F5, F8 и F9, продемонстрировавшие чувствительность к большинству антибиотиков. Особенно высокой чувствительностью отличились изоляты *Bacillus megaterium* (F3 и F9), зоны ингибирования которых достигали 25–30 мм. Такие бактерии могут выполнять роль индикаторов экологической чистоты и баланса микрофлоры. Кроме того, чувствительные микроорганизмы могут конкурировать с резистентными формами за питательные вещества и экологические ниши. Это создаёт определённый природный механизм сдерживания распространения устойчивости.

Полученные данные подтверждают влияние антропогенных факторов на формирование резистентности почвенной микрофлоры. Загрязнение окружающей среды остатками лекарственных препаратов, химикатами и органическими отходами создаёт селективное давление, способствующее выживанию устойчивых форм. В таких условиях чувствительные бактерии постепенно вытесняются, а устойчивые становятся доминирующими. Эти процессы наблюдаются и в других урбанизированных регионах, что делает проблему глобальной. Почва, ранее считавшаяся относительно безопасной средой, теперь рассматривается как потенциальный источник опасных микробов. Особенно это актуально в районах с плотной застройкой и плохим санитарным контролем.

Урбанизированная среда, насыщенная загрязнителями и высоким микробным фоном, способствует горизонтальному переносу генов устойчивости. Плотное взаимодействие различных видов бактерий в таких условиях повышает вероятность обмена генетическим материалом. Таким образом, городская почва может выполнять функцию «инкубатора» для формирования новых устойчивых штаммов. Это подтверждает необходимость пересмотра стратегий по контролю санитарного состояния почвы и мониторинга антибиотикорезистентности. Без системного подхода к оценке микробного загрязнения ситуация может усугубиться. Особенно важна своевременная диагностика и контроль зон с высоким риском.

Настоящее исследование охватывало только один жилой район – Жагалау, и представляет собой пилотный этап более масштабного проекта. Для построения полной картины необходимо включить в анализ и другие районы города, включая промышленные, сельские и природные зоны. Это позволит оценить географическую вариабельность устойчивости и выявить потенциальные «горячие точки» антибиотикорезистентности. Сравнительный анализ между различными зонами поможет выделить основные источники и факторы риска. Кроме того, включение сельской и природной почвы в выборку обеспечит экологический контрольный уровень. Это усилит научную обоснованность выводов и практическую значимость работы.

В дальнейшем рекомендуется расширить спектр методов идентификации микроорганизмов, включая молекулярные подходы. Применение секвенирования 16S рРНК позволит с высокой точностью определить таксономическую принадлежность неидентифицированных штаммов. Также следует использовать ПЦР-анализ для выявления конкретных генов устойчивости, таких как *blaTEM*, *tetA* или *ermB*. Эти методы дадут представление о молекулярных механизмах, обеспечивающих устойчивость у почвенных бактерий. Подобные данные будут полезны не только в научных целях, но и для разработки санитарных и экологических норм. Таким образом, исследование имеет потенциал для дальнейшего развития и практического применения в мониторинге окружающей среды.

В заключение, данное исследование продемонстрировало, что почва жилого района Астаны содержит бактерии с различной чувствительностью к антибиотикам, в том числе мультирезистентные формы. Это подчёркивает значимость мониторинга окружающей среды на наличие устойчивых микроорганизмов. Результаты могут быть использованы при разработке программ экологического надзора и мероприятий по снижению распространения антибиотикорезистентности. Поддержание экологической безопасности городских экосистем

тесно связано с проблемой антибиотикорезистентности, и полученные данные вносят вклад в понимание её масштабов в городской почве.

Литература

- [1] Браво Д., Хоффман С. (2020). Антибиотикорезистентность: глобальная проблема и пути решения // Журнал медицинской микробиологии. – Т. 69, №4. – С. 25–34.
- [2] Bauer A.W., Kirby W.M., Sherris J.C., Turck M. (1970). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinical Pathology: – 45(4). p. 493–496.
- [3] Кузнецов, В. В. (2021). Микробиология и экология почвы: учебник / В. В. Кузнецов. – М.: Издательство «Академия»: – 300 с.
- [4] Сахарова О.В. (2024). Общая микробиология и общая санитарная микробиология: Учебное пособие/ О.В. Сахарова, Т.Г. – 4 издание. – Санкт-Петербург: Лань: – 224 с.
- [5] Теппер Е.В., Шевелева Н.П., Переверзева Г.И. Практикум по микробиологии. – М.: Дрофа. – 2004. – 256 с.
- [6] Савельев И. П. (2020). Методы определения антибиотикорезистентности микроорганизмов: лабораторное руководство. – Санкт-Петербург: Наука: – 224 с.

References

- [1] Bravo D., Hoffman S. (2020). Antibiotikorezistentnost': global'naya problema i puti resheniya // Zhurnal medicinskoj mikrobiologii. – Т. 69, №4. – С. 25–34.
- [2] Bauer A.W., Kirby W.M., Sherris J.C., Turck M. (1970). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. American Journal of Clinical Pathology: – 45(4). p. 493–496.
- [3] Kuznecov, V. V. (2021). Mikrobiologiya i ekologiya pochvy: uchebnik / V. V. Kuznecov. – М.: Izdatel'stvo «Akademiya»: – 300 s.
- [4] Saharova O.V. (2024). Obshchaya mikrobiologiya i obshchaya sanitarnaya mikrobiologiya: Uchebnoe posobie/ O.V. Saharova, T.G. – 4 izdanie. – Sankt-Peterburg: Lan': – 224 s.
- [5] Tepper E.V., Sheveleva N.P., Pereverzeva G.I. Praktikum po mikrobiologii. – М.: Drofa. – 2004. – 256 s.
- [6] Savel'ev I. P. (2020). Metody opredeleniya antibiotikorezistentnosti mikroorganizmov: laboratornoe rukovodstvo. – Sankt-Peterburg: Nauka: – 224 s.

Астана қаласының топырақ бактерияларын анықтау және олардың антибиотикке төзімділігін бағалау

А.Маллер *, Ж.Адамжанова

Халықаралық Астана университеті, Астана қаласы, Қазақстан Республикасы

Аннотация: Бұл мақалада топырақ микроорганизмдерін бөліп алу және оларды сәйкестендіру әдістемесі, сондай-ақ олардың антибиотиктерге төзімділігін бағалау қарастырылады. Зерттеу жұмысы барысында Астана қаласының «Жағалау» шағын ауданы мен «Аружан» тұрғын үй кешенінің топырағында тіршілік ететін микроорганизмдердің антибиотиктерге төзімділігі зерттелді. Топырақ үлгілерінен 10 таза бактерия мәдениеті (F1–F10 штамдары) бөлініп алынып, MALDI-TOF масс-спектрометрия әдісі арқылы олардың түрлік сәйкестігі анықталды және кеңінен қолданылатын антибиотиктерге (пенициллин, тетрациклин, эритромицин, левомицетин) сезімталдық профилі бағаланды. Аудан топырағының микрофлорасын зерттеу нәтижесінде топырақ микроорганизмдерінің жоғары әртүрлілігі анықталды. Грампозитивті және грамтеріс бактериялар, сонымен қатар спора түзуші формалар да бөлініп алынды. Атап айтқанда, *Bacillus megaterium* және *Pseudomonas aeruginosa* түрлері сәйкестендірілді. Микроорганизмдерді бөліп алу үшін коректік орталарға егу әдісі қолданылып, одан кейін масс-спектрометрия арқылы сәйкестендіру жүргізілді. Антибиотиктерге

төзімділікті бағалау Мюллер–Хинтон агарында диск-диффузиялық әдіспен жүргізілді. Зерттеу барысында антибиотиктерге төзімділігі бар әртүрлі бактериялық изоляттар анықталды. Алынған нәтижелер топырақ экожүйелерінде антибиотикорезистенттілікті бақылаудың маңыздылығын және микроорганизмдердің төзімділік механизмдерін одан әрі зерттеу қажеттілігін көрсетеді. Жұмыстың ғылыми жаңалығы – Астана қаласының топырағындағы микроорганизмдердің антибиотиктерге төзімділігіне кешенді зерттеу жүргізілуінде.

Түйінді сөздер: топырақ бактериялары, MALDI-TOF MS, антибиотикке төзімділік, диск-диффузия әдісі, анықтау.

Identification of soil bacteria of Astana city with subsequent assessment of their antibiotic resistance

A.Maller*, Zh.Adamzhanova

International University of Astana , Astana, Republic of Kazakhstan

Abstract: This article examines the methodology for isolating and identifying soil microorganisms, followed by the assessment of their antibiotic resistance. In the course of this study, the antibiotic resistance of microorganisms inhabiting the soil of the Zhagalau residential complex and the Aruzhan housing estate in the city of Astana was investigated. Ten pure bacterial cultures (strains F1–F10) were isolated from soil samples. Their species identification was carried out using MALDI-TOF mass spectrometry, and their susceptibility profiles to a number of common antibiotics (penicillin, tetracycline, erythromycin, chloramphenicol) were determined.

The study of the soil microflora in the area revealed a high diversity of soil microorganisms. Both Gram-positive and Gram-negative bacteria were isolated, including spore-forming forms. Specifically, species such as *Bacillus megaterium* and *Pseudomonas aeruginosa* were identified.

To isolate microorganisms, the method of inoculating onto nutrient media was used, followed by their identification using mass spectrometry. Antibiotic resistance was assessed by the disk diffusion method on Mueller-Hinton agar.

Various bacterial isolates were identified during the study, among which strains resistant to antibiotics were found. The obtained results emphasize the necessity of monitoring antibiotic resistance in soil ecosystems and further studying the mechanisms of microbial resistance.

The scientific novelty of the work lies in the comprehensive study of antibiotic resistance of soil microorganisms in the city of Astana.

Keywords: soil bacteria, MALDI-TOF MS, antibiotic resistance, disk diffusion method, identification.