

Сармыкова Махпал Кенжеевнаның 8D09101 - «Ветеринариялық медицина» білім беру бағдарламасы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін ұсынған «Бактериофагқа негізделген биологиялық препараттың технологиясын жасау және оны жылқы сақауын емдеуге қолдану» тақырыбындағы диссертациялық жұмысына

АНДАТПА

Зерттеу тақырыбының өзектілігі

Жылқы сақауы – қоздырушысы *Streptococcus equi* болып табылатын, тыныс алу жолдарының жоғарғы бөлімдерінің қабынуымен, мұрын-жұтқыншақ аймағында ірінді экссудаттың түзілуімен және аймақтық лимфа түйіндерінің іріңдеуімен сипатталатын, жіті өтетін әрі жоғары контагиозды бактериалдық инфекция. Аурудың эпизоотологиялық ерекшелігі оның шаруашылықтарда жекелеген спорадиялық жағдайлар түрінде де, сондай-ақ тұрақты энзоотиялық ошақтар мен кең ауқымды эпизоотиялар ретінде тіркелуімен сипатталады. Қазақстан Республикасының аумағында сақау жылқы шаруашылығы үшін өзекті инфекциялық патологиялардың бірі болып табылады.

Сақау ауруы көбіне бес жасқа дейінгі жас жылқыларда кездеседі, бұл олардың иммундық жүйесінің функционалдық жетілуінің толық аяқталмауымен байланысты. Клиникалық тұрғыдан ауру дене қызуының көтерілуімен, мұрын-жұтқыншақтан шырышты-ірінді бөлінділердің бөлінуімен, сондай-ақ бас және мойын аймағындағы лимфа түйіндерінде абсцестердің қалыптасуымен көрініс береді.

Инфекцияның таралуы тікелей жұқпалы экссудатпен жанасу арқылы немесе жанама түрде – ластанған су, жем-шөп, құрал-жабдықтар мен күтім заттары арқылы жүзеге асады. Қоздырушының негізгі резервуары ретінде клиникалық ауру белгілері бар жылқылармен қатар, сырттай сау көрінгенімен, *Str. equi* бөлуді жалғастыратын реконвалесцент және субклиникалық тасымалдаушы жануарлар да маңызды рөл атқарады.

Str. equi қоздырғышының аэрозольдік, алиментарлық және тікелей жанасу жолдары арқылы берілуі, сондай-ақ оның сыртқы орта факторларына салыстырмалы төзімділігі аурудың қора-жайларда және шаруашылық аумақтарында ұзақ уақыт сақталуына мүмкіндік береді, бұл инфекцияның қайталама өршулерінің пайда болуына жағдай жасайды.

Сақау жылқы шаруашылығына биологиялық, экономикалық және эпизоотологиялық тұрғыдан елеулі залал келтіреді. Ауру табындағы аурушандықтың артуына, құлындардың өсу-дамуының тежелуіне, өлім-жітімнің көбеюіне, сондай-ақ асыл тұқымдық әлеуеттің төмендеуіне әкеледі. Сонымен қатар емдеу-алдын алу және карантиндік шараларға жұмсалатын шығындар шаруашылықтарға айтарлықтай экономикалық залал келтіреді.

Қазіргі уақытта *Str. equi* штамдарының кең таралуы, оларда антибиотиктерге төзімділік белгілерінің қалыптасуы және ветеринариялық практикада антимикробтық препараттарды қолдануды шектеуге бағытталған халықаралық

және ұлттық талаптардың күшеюі сақауға қарсы баламалы терапиялық тәсілдерді әзірлеудің өзектілігін арттырып отыр.

Осы тұрғыда бактериофагтарға негізделген биологиялық препараттар ерекше ғылыми-тәжірибелік қызығушылық тудырады. Бактериофагтар бактерияларға жоғары телімділігімен ерекшеленетін табиғи вирустар ретінде *Str.equi* қоздырғышын биологиялық бақылаудың заманауи әрі қауіпсіз құралы болып саналады.

Фаготерапия патогенді микроорганизмдерді селективті түрде жоюға мүмкіндік беріп, қалыпты микрофлораны сақтайды және антибиотиктерге балама немесе оларды толықтырушы әдіс ретінде қарастырылады.

Қазақстанда жылқы сақауы бойынша, әсіресе *Str.equi*-ге телімді бактериофагтарға негізделген терапиялық биопрепараттарды әзірлеуге арналған жүйелі әрі кешенді зерттеулер жеткіліксіз. Осыған байланысты *Streptococcus equi*-ге қарсы телімді бактериофаг негізінде биологиялық препарат әзірлеу және оны жылқы сақауын емдеуде қолдану ғылыми және практикалық тұрғыдан өзекті міндет болып табылады.

Жүргізілген патенттік ізденістер нәтижесінде жылқы сақауын емдеуге арналған *Streptococcus equi*-ге телімді фагтық биопрепараттарға қатысты Қазақстан Республикасы аумағында тіркелген патенттік шешімдердің болмауы анықталды. Бұл аталған зерттеу бағытының ғылыми жаңалығы мен практикалық маңызын арттырады.

Диссертациялық зерттеудің мақсаты

Зерттеудің мақсаты – *Streptococcus equi* қоздырушысына қарсы литикалық бактериофагты бөліп алу, оның фенотиптік және генотиптік қасиеттерін зерттеу, осы фаг негізінде биологиялық препарат технологиясын әзірлеу және әзірленген биопрепаратты жылқы сақауын емдеуде қолдану.

Зерттеудің міндеттері:

1. *Streptococcus equi* патогенді штаммына тән литикалық бактериофагтарды бөліп алу мақсатында сақаумен ауырған құлындардан биоматериал үлгілерін жинау.

2. Құлыннан оқшауланған *Streptococcus equi* патогендік штаммдарына тән литикалық бактериофагтарды бөліп алу.

3. Бөлініп алынған сақау фагтарының негізгі биологиялық және молекулалық-генетикалық қасиеттерін (вирион морфологиясы, литикалық белсенділігі мен спектрі, ген ерекшеліктері, температураға және хлороформға төзімділігі және т.б.) зерттеу.

4. *Streptococcus equi*-ге қатысты бактериофагты таңдап, оның негізінде биологиялық өнім әзірлеу және оның технологиялық аспектілерін зерттеу.

5. Жылқы сақауы терапиясына арналған фагтық биопрепаратқа комиссиялық сынақтар жүргізу және нормативтік-техникалық құжаттарын ресімдеу.

Зерттеу әдістері

Зерттеуде бактериологиялық, вирусологиялық, молекулалық-генетикалық және биологиялық әдістер қолданылды. *Streptococcus equi*-ге телімді бактериофаг табиғи экологиялық нысандардан бөлініп алынып, оның литикалық

белсенділігі *in vitro* жағдайда бағаланды. Фагтық биопрепараттың терапиялық тиімділігі мен қауіпсіздігі *in vivo* модельде клиникалық, бактериологиялық және салыстырмалы талдау әдістері арқылы анықталды.

Қорғауға ұсынған негізгі ережелері:

- Бөлініп алынған *Streptococcus equi* қоздырғышына қарсы бактериофагтың биологиялық, морфологиялық және молекулалық-генетикалық қасиеттері;
- Бактериофаг негізінде *Streptophagum equi* фагтық биопрепаратын алу технологиясы;
- *Streptophagum equi* биопрепаратының *in vitro* және *in vivo* зерттеулер нәтижелері;
- *Streptophagum equi* биопрепаратының терапиялық тиімділігін зерттеу нәтижелері.

Зерттеудің негізгі нәтижелерінің сипаттамасы

Жүргізілген ғылыми зерттеулер жылқы сақауын емдеуге арналған *Streptococcus equi* қоздырғышына телімді *Streptophagum equi* фагтық биопрепаратының ғылыми негізделген зертханалық үлгісін әзірлеуге бағытталды.

Зерттеу барысында эпизоотологиялық ошақтардан алынған клиникалық материал негізінде *Str. equi* қоздырғышына белсенді бірнеше табиғи бактериофаг изоляттары бөлініп алынып, олардың ішінен литикалық белсенділігі жоғары негізгі изолят өндірістік негіз ретінде таңдап алынды.

Бөлінген бактериофагтың морфологиялық, биологиялық және молекулалық-генетикалық қасиеттері кешенді түрде сипатталып, оның кең литикалық спектрі, тұрақты литикалық белсенділігі және биологиялық қауіпсіздігі дәлелденді. Геномдық талдау нәтижелері фаг геномында вируленттік және антибиотикке төзімділікке жауапты гендердің болмауын көрсетіп, биопрепаратты терапиялық мақсатта қолданудың қауіпсіздігін негіздеді.

Фаг негізінде әзірленген биопрепаратының өндірістік технологиялық схемасы қалыптастырылып, дайын өнімнің сапа көрсеткіштері (стерильділік, литикалық белсенділік, рН) нормативтік талаптарға сәйкес келетіні анықталды. Биопрепараттың сақтау кезіндегі тұрақтылығы зерттеліп, белгіленген температуралық режимде белсенділігінің сақталатыны көрсетілді.

«*Streptophagum equi*» биопрепаратына комиссиялық *in vivo* сынақтар жүргізіліп, оның жылқы сақауын емдеудегі клиникалық тиімділігі эксперименттік және өндірістік жағдайларда расталды. Биопрепаратты өндіру технологиясына және сапасын бақылауға арналған нормативтік-техникалық құжаттама кешені әзірленді. Жүргізілген зерттеулердің нәтижелері негізінде *Streptophagum equi* биопрепаратына қатысты өнертабысқа патент алынып, препарат Қазақстан Республикасы Ауыл шаруашылығы министрлігінің Ветеринариялық бақылау және қадағалау комитетінде ветеринариялық дәрілік зат ретінде мемлекеттік тіркеуден өтті (тіркеу куәлігі № РК–ВП–4–5745–2).

Алынған нәтижелердің жаңалығы мен маңыздылығының негіздемесі.

Зерттеу барысында Қазақстан аумағында алғаш рет *Streptococcus equi* қоздырғышына жоғары телімді және тұрақты литикалық белсенділікке ие бактериофаг бөлініп алынып, оның биологиялық, морфологиялық және

молекулалық-генетикалық қасиеттері кешенді түрде сипатталды. Бөлінген фагтың толық геномдық реттілігінің анықталуы және биоинформатикалық талдауы стрептококк текті литикалық бактериофагтардың құрылымдық-функционалдық туралы ғылыми деректерді толықтырды және *S. equi*-ге қарсы бағытталған фагтық биопрепараттарды әзірлеудің теориялық негізін қалыптастырды.

Жылқы сақауын емдеуге арналған «*Streptophagum equi*» фагтық биопрепараты жылқы сақауына қолайсыз шаруашылықтарды қысқа мерзімде және тиімді сауықтыруға мүмкіндік береді. Ұсынылып отырған фаготерапиялық тәсіл антибиотикотерапияға балама ретінде қолданылуы мүмкін, бұл антибиотикке төзімділіктің таралу қаупін төмендетуге ықпал етеді. Ғылыми жұмыстың нәтижелері Қазақстанда фаготерапияны ветеринариялық практикаға енгізуге, осы салада жаңа ғылыми білім мен технологиялық тәжірибе жинақтауға, сондай-ақ жылқы шаруашылығының өнімділігін арттыруға мүмкіндік береді.

Жұмыстың ғылыми-зерттеу бағдарламаларымен байланысы.

Диссертациялық жұмыс Қазақстан Республикасындағы ветеринария ғылымы, микробиология, биотехнология және биологиялық қауіпсіздікті дамыту бағыттарының басымдықтарына сәйкес орындалды. Зерттеу эпизоотиялық саулықты қамтамасыз етуге, ветеринария саласына арналған отандық биологиялық препараттарды әзірлеуге, сондай-ақ жануарлардың инфекциялық ауруларын емдеуде антимикробтық препараттарды қолдануды азайту мақсатында баламалы, экологиялық қауіпсіз және жоғары телімді терапиялық тәсілдерді енгізуге бағытталған мемлекеттік міндеттерге сай келеді.

Ғылыми-зерттеу жұмысы Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігінің 2020–2022 жылдарға арналған АР08855635 «Жылқының сақауын емдеу үшін бактериофаг алу» атты гранттық жобасы аясында орындалды. Зерттеулер Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институтының базасында жүргізілді.

Аталған жоба шеңберінде алынған нәтижелер *Streptococcus equi*-ге телімді литикалық бактериофагты бөліп алу, оның фенотиптік және генотиптік қасиеттерін зерттеу, осы фаг негізінде биологиялық препарат технологиясын әзірлеу және оның жылқы сақауын емдеудегі тиімділігін бағалауға арналған диссертациялық жұмыстың ғылыми және эксперименттік негізі болды.

Зерттеудің практикалық маңыздылығы

Жұмыстың практикалық маңыздылығы жылқы сақауын емдеуге арналған «*Streptophagum equi*» фагтық биопрепаратын әзірлеуінде, оны алу технологиясының режимдерін ғылыми негіздеуде және *in vivo* жағдайында терапиялық тиімділігін растауда болып табылады. Әзірленген препарат ветеринариялық практикада антибиотикотерапияға балама немесе оны толықтырушы әдіс ретінде қолданылуы мүмкін, бұл антибиотиктік жүктемені төмендетуге және сақаумен ауырған жануарларды емдеу мүмкіндіктерін кеңейтуге ықпал етеді. Алынған нәтижелер сақау бойынша қолайсыз шаруашылықтарда емдеу-алдын алу шараларын жетілдіру үшін маңызды.

Докторанттың әрбір жарияланымды дайындауға қосқан үлесінің сипаттамасы.

Докторант әр түрлі конференцияларда талқылауға белсенді қатысып және зерттеу нәтижелерін жариялауға өз үлесін қосты.

Диссертациялық жұмыс материалдары бойынша 17 ғылыми еңбек жарияланды, оның ішінде 2 мақала Scopus халықаралық дерекқорына кіретін рецензияланатын ғылыми журналдарда жарық көрді, атап айтқанда: Veterinaria Italiana журналында (2023 ж., Q2, процентиль – 50) және International Journal of Veterinary Science журналында (2024 ж., Q1, процентиль – 76).

Сонымен қатар, диссертация материалдары бойынша Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім саласындағы сапаны қамтамасыз ету комитеті ұсынған ғылыми басылымдарда – 1 мақала, Ресей Федерациясының Жоғары аттестациялық комиссиясы ұсынған рецензияланатын ғылыми басылымдарда – 4 мақала, ресейлік және отандық ғылыми журналдарда – 5 мақала, халықаралық ғылыми-практикалық конференциялар материалдарында – 4 мақала жарияланды. Ғылыми зерттеу нәтижелерінің практикалық маңыздылығы диссертация материалдары негізінде алынған 1 өнертабыс патентімен расталады.

10. Диссертацияның құрылымы және көлемі.

Диссертациялық жұмыс кіріспе, негізгі бөлімдер, қорытынды мен қосымшалардан құралған. Диссертациялық жұмыстың көлемі 109 бет, қосымшаларымен бірге 156 беттен тұрады. Жұмыста нәтижелерді көрнекі көрсету үшін 17 кесте және 30 сурет берілген. Пайдаланылған әдебиеттер тізімі отандық және шетелдік авторлардың 160 дереккөзін қамтиды.