

АННОТАЦИЯ

диссертационной работы Сармыковой Махпал Кенжеевны на тему «Разработка технологии изготовления биопрепарата на основе бактериофага и применение их для лечения мыта лошадей» представленной на соискание степени доктора философии (PhD) по образовательной программе 8D09101 – «Ветеринарная медицина»

Актуальность темы исследования

Мыт лошадей – острая, высококонтагиозная бактериальная инфекция, возбудителем которой является *Streptococcus equi*, характеризующаяся воспалением верхних отделов дыхательных путей, образованием гнойного экссудата в носоглоточной области и нагноением регионарных лимфатических узлов. Эпизоотологическая особенность заболевания заключается в том, что оно регистрируется как в виде отдельных спорадических случаев, так и в форме устойчивых энзоотических очагов и масштабных эпизоотий. На территории Республики Казахстан мыт является одной из актуальных инфекционных патологий в коневодстве.

Мыт наиболее часто встречается у молодых лошадей в возрасте до пяти лет, что связано с незавершенностью функционального созревания их иммунной системы. Клинически заболевание проявляется повышением температуры тела, слизисто-гнойными истечениями из носоглотки, а также формированием абсцессов в лимфатических узлах головы и шеи.

Распространение инфекции осуществляется при непосредственном контакте с инфекционным экссудатом, а также опосредованно через контаминированные воду, корма, оборудование и предметы ухода. Важную роль в качестве основного резервуара возбудителя играют не только клинически больные животные, но и реконвалесценты, а также субклинические носители, внешне остающиеся здоровыми, но продолжающие выделять *Streptococcus equi*.

Передача *Streptococcus equi* аэрозольным, алиментарным и контактным путями, а также его относительная устойчивость к факторам внешней среды способствуют длительному сохранению возбудителя в помещениях и на территории хозяйств, создавая условия для повторных вспышек инфекции.

Мыт причиняет коневодству значительный биологический, экономический и эпизоотологический ущерб. Заболевание приводит к росту заболеваемости в табуне, задержке роста и развития жеребят, повышению падежа, а также снижению племенной ценности поголовья. Кроме того, затраты на лечебно-профилактические и карантинные мероприятия наносят хозяйствам существенный экономический ущерб.

В настоящее время широкое распространение штаммов *Streptococcus equi*, формирование у них признаков устойчивости к антибиотикам, а также ужесточение международных и национальных требований, направленных на ограничение применения антимикробных препаратов в ветеринарной практике, повышают актуальность разработки альтернативных терапевтических подходов к лечению мыта.

В этой связи особый научно-практический интерес представляют

биологические препараты на основе бактериофагов. Бактериофаги, являясь природными вирусами, обладающими высокой специфичностью к бактериям, рассматриваются как современное и безопасное средство биологического контроля возбудителя *Streptococcus equi*.

Фаготерапия позволяет селективно уничтожать патогенные микроорганизмы, сохраняя нормальную микрофлору, и рассматривается как альтернатива антибиотикам либо как дополняющий их метод.

В Казахстане системные и комплексные исследования, посвященные мыту лошадей, в особенности разработке терапевтических биопрепаратов на основе бактериофагов, специфичных к *Streptococcus equi* остаются недостаточными. В связи с этим разработка биологического препарата на основе специфического бактериофага против *Streptococcus equi* и его применение в терапии мыта лошадей представляют собой актуальную научную и практическую задачу.

По результатам проведенного патентного поиска установлено отсутствие на территории Республики Казахстан зарегистрированных патентных решений, касающихся фаговых биопрепаратов, специфичных к *Streptococcus equi* и предназначенных для лечения мыта лошадей. Это дополнительно подчеркивает научную новизну и практическую значимость данного направления исследований.

Цель диссертационного исследования

Целью исследования является выделение литического бактериофага против возбудителя *Streptococcus equi*, изучение его фенотипических и генотипических свойств, разработка технологии биологического препарата на основе данного фага, а также применение разработанного биопрепарата для лечения мыта лошадей.

Задачи исследования:

1. Сбор образцов биоматериала от жеребят, больных мытом, с целью выделения литических бактериофагов, специфичных к патогенному штамму *Streptococcus equi*.

2. Выделение литических бактериофагов, специфичных к патогенным штаммам *Streptococcus equi*, изолированным от жеребят.

3. Изучение основных биологических и молекулярно-генетических свойств выделенных фагов мыта (морфология вирионов, литическая активность и спектр, генетические особенности, устойчивость к температуре и хлороформу и др.).

4. Отбор бактериофага, активного в отношении *Streptococcus equi*, разработка на его основе биологического препарата и изучение технологических аспектов его получения.

5. Проведение комиссионных испытаний фагового биопрепарата для терапии мыта лошадей и оформление нормативно-технической документации.

Методы исследования

В исследовании использованы бактериологические, вирусологические, молекулярно-генетические и биологические методы. Бактериофаг, специфичный к *Streptococcus equi*, был выделен из природных экологических объектов, его литическая активность оценивалась в условиях *in vitro*. Терапевтическая

эффективность и безопасность фагового биопрепарата определялись *in vivo* с применением клинических, бактериологических и сравнительных методов анализа.

Основные положения выносимые на защиту диссертации:

- Биологические, морфологические и молекулярно-генетические характеристики бактериофага, выделенного в отношении возбудителя *Streptococcus equi*;
- Технология получения фагового биопрепарата *Streptophagum equi* на основе выделенного бактериофага;
- Результаты исследований биопрепарата *Streptophagum equi* в условиях *in vitro* и *in vivo*;
- Результаты оценки терапевтической эффективности биопрепарата *Streptophagum equi* при лечении мыта у лошадей.

Описание основных результатов работы

Проведенные научные исследования были направлены на разработку научно обоснованного лабораторного образца фагового биопрепарата *Streptophagum equi*, специфичного к возбудителю *Streptococcus equi* и предназначенного для лечения мыта у лошадей.

В ходе исследования на основе клинического материала, полученного из эпизоотологических очагов, были выделены несколько природных бактериофаговых изолятов, активных в отношении возбудителя *S. equi*. Из их числа был отобран основной изолят, характеризующийся высокой и стабильной литической активностью, который был выбран в качестве производственного штамма.

Выделенный бактериофаг был комплексно охарактеризован по морфологическим, биологическим и молекулярно-генетическим признакам. Установлены его выраженная литическая активность, широкий спектр действия и биологическая безопасность. Результаты геномного анализа показали отсутствие в геноме фага генов вирулентности и устойчивости к антибиотикам, что обосновывает безопасность применения биопрепарата в терапевтических целях.

На основе выделенного фага была разработана производственная технологическая схема получения биопрепарата. Установлено, что показатели качества готового продукта (стерильность, литическая активность, водородный показатель среды) соответствуют действующим нормативным требованиям. Изучена стабильность биопрепарата в процессе хранения и показано сохранение его биологической активности при регламентированном температурном режиме.

Для биопрепарата *Streptophagum equi* были проведены комиссионные *in vivo* испытания, в ходе которых его клиническая эффективность при лечении мыта у лошадей была подтверждена в экспериментальных и производственных условиях. Разработан комплекс нормативно-технической документации, регламентирующий технологию производства и контроль качества биопрепарата. По результатам выполненных исследований получен патент на изобретение, а препарат *Streptophagum equi* зарегистрирован в Комитете ветеринарного контроля и надзора Министерства сельского хозяйства

Республики Казахстан в качестве ветеринарного лекарственного средства (регистрационное удостоверение № РК–ВП–4–5745–2).

Обоснование новизны и важность полученных данных

В ходе исследования на территории Республики Казахстан впервые был выделен бактериофаг, обладающий высокой специфичностью и стабильной литической активностью в отношении возбудителя *Streptococcus equi*, и проведена его комплексная характеристика по биологическим, морфологическим и молекулярно-генетическим признакам. Определение полной нуклеотидной последовательности генома выделенного фага и проведение биоинформатического анализа дополнили научные представления о структурно-функциональной организации литических бактериофагов стрептококковой природы и сформировали теоретическую основу для разработки фаговых биопрепаратов, направленных против *S. equi*.

Разработанный фаговый биопрепарат «*Streptophagum equi*», предназначенный для лечения мыта у лошадей, обеспечивает возможность эффективного и оперативного оздоровления хозяйств, неблагополучных по данному заболеванию. Предлагаемый фаготерапевтический подход может рассматриваться в качестве альтернативы антибиотикотерапии, способствуя снижению риска распространения антибиотикорезистентности. Результаты выполненной научной работы создают предпосылки для внедрения фаготерапии в ветеринарную практику Республики Казахстан, расширения научных знаний и технологического опыта в данной области, а также повышения устойчивости и продуктивности отрасли коневодства.

Соответствие направлениям развития науки или государственным программам

Диссертационная работа выполнена в соответствии с приоритетными направлениями развития ветеринарной науки, микробиологии, биотехнологии и биологической безопасности Республики Казахстан. Исследование соответствует государственным задачам, направленным на обеспечение эпизоотического благополучия, разработку отечественных биологических препаратов для ветеринарии, а также на снижение применения антимикробных препаратов за счет внедрения альтернативных, экологически безопасных и высокоспецифичных методов терапии инфекционных заболеваний животных.

Научно-исследовательская работа выполнена в рамках грантового проекта Министерства образования и науки Республики Казахстан AP08855635 «Получение бактериофага для лечения мыта лошадей», реализованного в 2020-2022 годах. Исследования проводились на базе Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности.

Результаты, полученные в ходе выполнения указанного проекта, послужили научной и экспериментальной основой для выполнения диссертационной работы, посвященной выделению литического бактериофага, специфичного к *Streptococcus equi*, изучению его фенотипических и генотипических свойств, разработке технологии биологического препарата на его основе и оценке эффективности его применения при лечении мыта лошадей.

Практическая значимость исследования

Практическая значимость работы состоит в разработке фагового биопрепарата «Streptophagum equi» для лечения мыта лошадей, обосновании технологических режимов его получения и подтверждении терапевтической эффективности в условиях *in vivo*. Разработанный препарат может применяться в ветеринарной практике как альтернатива или дополнение к антибиотикотерапии, обеспечивая снижение антибиотиконагрузки и расширяя возможности лечения животных, больных мытом. Полученные результаты имеют значение для совершенствования лечебно-профилактических мероприятий в хозяйствах, неблагополучных по мыту лошадей.

Описание вклада докторанта в подготовку каждой публикации

Докторант активно участвовал в обсуждениях на различных конференциях и внес значительный вклад в публикацию результатов исследования.

По материалам диссертационной работы опубликовано 17 научных трудов, в том числе 2 статьи в рецензируемых научных журналах, входящих в международную базу данных Scopus, а именно: в журнале Veterinaria Italiana (2023 г., Q2, процентиль – 50) и в журнале International Journal of Veterinary Science (2024 г., Q1, процентиль – 76).

Кроме того, по материалам диссертации опубликованы: 1 статья в научных изданиях, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования Республики Казахстан, 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Российской Федерации, 5 статей в российских и отечественных научных журналах, а также 4 статьи в материалах международных научно-практических конференций. Практическая значимость результатов исследования подтверждается одним патентом на изобретение, полученным на основе материалов диссертации.

Объем и структура диссертации

Диссертация набрана на Диссертационная работа состоит из введения, основных разделов, заключения и приложений. Объем диссертации составляет 109 страниц, а общий объем с приложениями - 156 страниц. Для наглядного представления результатов в работе приведены 17 таблиц и 30 рисунков. Список использованной литературы включает 160 источников отечественных и зарубежных авторов.