

АННОТАЦИЯ
диссертационной работы Исабекова Самата Сериковича
на тему «Разработка и применение бактериофагов для санации
объектов животноводства» представленной на соискание степени доктора
философии (PhD) по специальности 6D120200- «Ветеринарная санитария»

1. Актуальность темы исследования.

Президент Республики Казахстан Касым-Жомарт Токаев в своем обращении к народу Казахстана отметил: «Сельское хозяйство – наш главный ресурс, но он не используется в полной мере. У нас есть органическая и экологически чистая продукция с большим производственным потенциалом, которая востребована не только в стране, но и за рубежом». Важной народно-хозяйственной задачей является обеспечение населения продуктами питания высокого санитарного качества, а промышленности – животным сырьем.

Успешное выполнение этой задачи зависит от увеличения поголовья скота и повышения его продуктивности. Однако развитие животноводства и птицеводства сдерживается инфекционными заболеваниями, среди которых ведущее место занимают бактериальные инфекции.

Низкая эффективность противоэпизоотических мероприятий, в частности дезинфекции, проводимой в Казахстане, обусловлена отсутствием в стране современных отечественных дезинфицирующих препаратов на основе бактериофагов. Приготовление современных дезинфицирующих средств на основе бактериофагов имеет важное значение для дезинфекции объектов ветеринарного контроля, а также предприятий по переработке мясомолочной продукции.

В связи с этим особый интерес представляет изучение бактериофагов – паразитических вирусов бактерий, способных уничтожать в организме соответствующие патогенные микроорганизмы.

Бактериофаги обладают высокой совместимостью с другими лекарственными средствами и могут применяться в сочетании с противомикробными препаратами, включая поверхностно-активные вещества. Использование современных препаратов играет важную роль в ликвидации инфекционных заболеваний, проведении профилактических мероприятий, а также в их дезинфекции. Однако применяемые в настоящее время в ветеринарной практике дезинфицирующие средства не обладают 100% антимикробной активностью. Данная ситуация требует совершенствования существующих на рынке дезинфицирующих средств и создание передового биологического дезинфицирующего средства нового поколения.

В зависимости от вышеперечисленных факторов, приготовление и применение дезинфицирующего средства на основе бактериофагов и поверхностно-активных веществ является эффективным решением для санитарной обработки объектов животноводства.

2. Цель диссертационного исследования: Разработка и применение современных дезинфицирующих препаратов на основе бактериофагов и поверхностно-активных веществ для санации объектов животноводства.

3. Задачи исследования:

1. Выделение бактериофагов, специфичных к кишечной палочке и бактериям бруцеллеза из образцов окружающей среды.
2. Определение антибиотикорезистентности и уровня токсичности бактериофагов
3. Определение литической активности выделенных бактериофагов по отношению к росту микроорганизмов.
4. Приготовление дезинфицирующих средств на основе бактериофагов и поверхностно-активных веществ.
5. Определение бактерицидных свойств и режимов применения биопрепаратов бактериофагов в лабораторных условиях.
6. Результаты промышленных испытаний дезинфицирующего средства «Полифаг», разработанного на основе бактериофагов.

4. Методы исследования:

Работа проводилась на кафедре «Ветеринарная санитария» Казахского национального аграрного исследовательского университета, а экспериментальная часть исследований – в лаборатории микробиологии «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности». Научно-исследовательские работы выполнялись в соответствии с нормативными документами, официально регламентированными ветеринарным законодательством Республики Казахстан. Микробиологические образцы были собраны согласно стандартным методам.

Пробы объектов внешней среды были доставлены из различных фермерских хозяйств Алматинской и Жамбылской областей. В качестве исследуемых объектов использовались сточные воды, взятые вблизи молочнотоварных, свиноводческих ферм и птицефабрик, а также экстракт навоза животных, всего 129 образцов.

Из исследуемых сточных вод отбирали 30 мл пробы, которые затем помещали в колбы с 120 мл жидкой питательной среды ГРМ. Из экстракта навоза отбирали 100 г пробы, тщательно перемешивали в стерильных фарфоровых чашах и переносили в колбы, содержащие 150 мл жидкой питательной среды ГРМ. Материалы в колбах инкубировали в термостате при 37 °С в течение 5–10 дней. Ежедневно в колбы добавляли по 0,2–0,5 мл суточной культуры характерных для них бактерий. После завершения инкубационного периода пробы очищали от механических примесей путем фильтрации, затем разливали в центрифужные пробирки и центрифугировали при 2500 об/мин в течение 20 минут. После этого фильтраты пропускали через стерилизующие фильтры CN - 0,45 μm и 0,2 μm . Полученные таким образом фильтраты исследовали на наличие фагов проводили на ГРМ-агаре. В качестве посевного материала для засева чашек Петри использовали 24-часовые тест-культуры, а сверху наносили полученные фильтраты. В результате на поверхности РГМ - агара появилась фаговая дорожка, которая указывала на наличие бактериофагов.

Изучены основные биологические свойства бактериофагов: литическую активность определяли методом Аппельмана, количество фаговых корпускул -

методом Грация, а морфологию негативных колоний исследовали с помощью электронной микроскопии. Кроме того, определены спектр литической активности, температурная устойчивость к высоким и низким температурам, а также устойчивость к хлороформу в соотношении 1:10 в течение 40 минут выделенных бактериофагов. Безопасность препарата проверяли путем введения его лабораторным животным: трем мышам вводили 1 мл препарата подкожно, после чего их состояние наблюдали в течение трех-четырех дней. Все опытные животные оставались живыми, здоровыми и активными.

Для определения эффективности биопрепарата были проведены микробиологические исследования до и после обработки. Методика включала следующие этапы:

1) Отбор проб до дезинфекции. С различных поверхностей (полы, стены, крюки, дезинфекционные коврики) брали смывы стерильными тампонами. На пищевых производствах пробы отбирали с оборудования и инструментов (ножи, топоры, лопаты, скребки, щетки). Пробы засеивали на питательные среды и инкубировали при оптимальной температуре.

2) Обработка биопрепаратом.** Все тестируемые объекты обрабатывали дезинфицирующим средством «Полифаг» в соответствии с инструкцией, выдерживая определенное время (например, 1 час для пищевого оборудования).

3) Отбор проб после дезинфекции. Проводился повторный отбор смывов с тех же участков, после чего пробы засеивали на питательные среды и инкубировали.

4) Оценка результатов. Через 24–48 часов проверяли рост микроорганизмов.

5. Основные положения выносимые на защиту диссертации:

Были выделены бактериофаги, активные против кишечных палочек (*Echerichia coli* 14, *Proteus vulgaris* 4.3, *Proteus mirabilis* 4.2, *Yersinia pseudotuberculosis* 11.1, *Yersinia enterocolitica* 11.2, *Salmonella enteritidis* 14.1, *Salmonella typhimurium* 14.2, *Salmonella infantis* 14.3, *Pseudomonas aeruginosa* 11.3, *Shigella sonnei* 16.1, *Shigella flexneri* 16.2), коккообразный (*Brucella abortus* 21) и энтерококковой бактерии (*Enterococcus faecalis* 4.1);

- определена литическая активность выделенных бактериофагов;
- разработан инновационный препарат на основе бактериофагов;
- разработан оптимальный режим влажной дезинфекции с применением препарата на основе бактериофагов;
- проведены производственные испытания инновационного препарата на основе бактериофагов и подготовлены акты производственных испытаний.

6. Описание основных результатов исследования

Из проб, взятых из различных объектов внешней среды и сточных вод вблизи промышленных объектов страны, были выделены с высокой литической активностью 13 бактериофагов.

Изучение биологических характеристик выделенных бактериофагов подтвердило их способность избирательно уничтожать жизнеспособность соответствующих бактерий, вызывая их лизис. Кроме того, установлено, что все выделенные фаги обладают высокой специфичностью по отношению к

тест-штаммам. Идентификация вирионов бактериофагов осуществлялась с использованием электронного микроскопа JEM-100 (Япония). В результате были выявлены ярко выраженные характерные вирионы всех бактериофагов. Производственные исследования, проведенные на бойне ТОО «Кордай Инвест», продемонстрировали высокую эффективность биопрепарата. После обработки дезинфицирующим средством различных поверхностей (полы, стены, крюки для туш, дезинфекционные коврики и др.), в течение 5 суток в посевах на питательных средах не было выявлено роста микроорганизмов. В то же время, в контрольной группе без обработки уже через 2 суток наблюдался активный рост посторонней микрофлоры. Испытания препарата «Полифаг» на объектах пищевой промышленности, включая оборудование и инструменты (ножи, топоры, лопаты, скребки, щетки), показали, что уже через 1 час после обработки достигается полный бактерицидный эффект.

Результаты наших исследования показали, что биопрепарат полифаг может быть рекомендован для обработки яиц в инкубаторе, а также для дезинфекции пищевых яиц перед отправкой в торговую сеть.

Проведенные исследования подтвердили, что биопрепарат «Полифаг» обладает высокой бактерицидной активностью (100%) и может эффективно использоваться в качестве дезинфицирующего средства на различных объектах ветеринарно-санитарного надзора, в животноводческих, птицеводческих и фермерских хозяйствах.

7. Обоснование новизны и важность полученных данных.

В ветеринарной практике разработано дезинфицирующее средство на основе новых бактериофагов для дезинфекции объектов ветеринарно-санитарного надзора, животноводства и птицеводства, пищевых производств, технологического оборудования, а также неблагоприятных территорий: боен и предприятий по переработке сырья (мяса, яиц и т.д.).

Применение приготовленного биопрепарата полифаг позволяет остановить бактериальные инфекции и получать продукты питания с высоким санитарным качеством.

8. Соответствие направлениям развития науки или государственным программам: Научно-исследовательская работа проведена в рамках проекта по коммерциализации результатов научной и научно-технической деятельности АО «Фонд науки» от имени ГУ «Комитет науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан», № 230-16-ГК «Коммерциализация новых биопрепаратов полифагов для санации медицинских помещений, пищевых производств и жилых помещений».

9. Описание вклада докторанта в подготовку каждой публикации.

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

По материалам диссертационной работы опубликовано 11 научных трудов, в том числе: 1 статья в журнале «Veterinary World», входящем в базу Scopus Q1 (перцентиль 80), 3 статьи в республиканских научных журналах, рекомендованных Комитетом обеспечения качества в сфере науки и высшего образования МНВО РК, 5 статей в материалах отечественных и

международных конференций, конгрессов и симпозиумов Кроме того, получено 2 авторских свидетельства.

В сборнике материалов четвертой научно-практической конференции «Бактериофаги: теоретические и практические аспекты применения в медицине, ветеринарии и пищевой промышленности», организованной Научно-исследовательским институтом эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского и проведенной в г. Нижний Новгород (Российская Федерация) 24-26 сентября 2018 года, была опубликована 1 статья.

В 2019 году в г. Ульяновск (Российская Федерация) на Национальной научно-практической конференции «Аграрная наука и образование на современном этапе: опыт, проблемы и пути их решения», организованной Ульяновским государственным аграрным университетом имени П.А. Столыпина, была опубликована 1 статья.

В 2021 году в г. Костанай в сборнике материалов международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы и тенденции развития современной аграрной науки и ветеринарии», организованной Костанайским региональным университетом имени А. Байтурсынова и посвященной памяти д.в.н., профессора В.И. Пионтковского, была опубликована 1 статья.

В 2021 году в научном журнале «Биобезопасность и биотехнология», организуемом Научно-исследовательским институтом проблем биологической безопасности, была опубликована 1 статья.

В 2022 году в научном журнале «Исследование, результаты» при Казахском национальном аграрном исследовательском университете была опубликована 1 статья.

В научном издании «Наука и образование» – научно-практическом журнале Западно-Казахстанского аграрно-технического университета имени Жангир хана, рекомендованном Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан, были опубликованы 3 статьи: в 2020 году - 2 статья, в 2024 году - 1 статья.

10. Объем и структура диссертации

Диссертация набрана на компьютере и состоит из 112 страниц. Ее структура включает введение, определение направления исследования, собственные исследования, результаты исследований, выводы, практические рекомендации, список использованной литературы и приложения.

Работа оформлена с использованием 14 таблиц и 26 иллюстраций. В список использованной литературы включены 215 трудов отечественных и зарубежных ученых.