

АННОТАЦИЯ

**диссертационной работы Исабекова Самат 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 из обращения К. Токаева к народу Казахстана: «Сельское хозяйство – наш главный ресурс, но он не используется в полной мере. У нас есть органическая и экологически чистая продукция со значительным потенциалом производства, которая не только пользуется спросом как в стране, так и за рубежом». Это означает, что казахстанцы должны потреблять качественную продукцию. Важная народно-хозяйственная задача - обеспечить население продуктами питания высокого санитарного качества, а промышленность - животным сырьем.

Успешное выполнение этой задачи зависит от увеличения поголовья скота и повышения его продуктивности. Однако факторами, сдерживающими развитие животноводства и птицеводства, являются инфекционные заболевания, среди которых ведущее место по распространению в Республике Казахстан занимают бактериальные инфекции, в частности кишечная палочка, которая по устойчивости относится к первой группе.

Низкая эффективность противозооотических мероприятий, в частности дезинфекции, проводимой в Казахстане, обусловлена отсутствием в нашей стране, например, при решении этих задач отечественного производства современных дезинфицирующих противомикробных препаратов на основе бактериофагов. Приготовление современных дезинфицирующих средств на основе бактериофагов имеет большое значение при стерилизации объектов ветеринарного контроля и мясомолочной продукции, перерабатывающих предприятий.

Возникновение такой ситуации в нашей стране обусловлено структурными изменениями бактериальных очагов, произошедшими в последние годы, а также тем, что инфекция переместилась в среду содержания животных, находящихся в частной собственности. Поэтому большой интерес вызвало изучение бактериофага – паразитического вируса бактерий, способного уничтожать в организме соответствующие патогенные микроорганизмы. Частицы бактериофагов часто обнаруживаются во вновь выделенных разрастаниях кишечной палочки, однако практическое значение стерилизации этого заболевания остается неизученным. Бактериофаги обладают высокой совместимостью с другими лекарственными средствами и позволяют использовать их в сочетании с противомикробными препаратами, например с другими поверхностно-активными веществами. Использование современных препаратов играет важную роль в ликвидации инфекционных заболеваний, профилактических мероприятиях чужеродного характера, дезинфекции. Однако используемые в настоящее время в ветеринарной

практике дезинфицирующие средства не обладают 100% антимикробным действием. Такая ситуация требует совершенствования существующих на рынке дезинфицирующих средств и создания принципиально новых видов биоцидов.

В связи с вышеизложенными условиями возникает необходимость проведения научных исследований с целью получения биопрепаратов на основе бактериофагов и поверхностно-активных веществ для стерилизации объектов животноводства и птицеводства и санитарной обработки пищевых производств. В ходе реализации научно-исследовательской работы это позволяет представить на рынок Казахстана инновационную продукцию и новую технологию ее разработки. Приготовление и использование стерилизующего средства, содержащего бактериофаги и ПАВ, является актуальной проблемой стерилизации животноводческих помещений.

2. Цель диссертационного исследования: Цель диссертации – приготовление и применение современных дезинфицирующих средств на основе бактериофагов и ПАВ для стерилизации животноводческих помещений.

3. Задачи исследования:

1. Среди внешней среды первую группу микроорганизмов составляют кишечные палочки, высокочувствительные микроорганизмы, лекарственные и дезинфицирующие средства. С другой стороны, бактериофаг против бактерий бруцеллеза.

2. Определение растворяющей (литической) активности в отношении болингенских микроорганизмов-бактериофагов.

3. Разработка средства (вещества) обеззараживания выделенных бактериофагов.

4. Определение бактерицидных свойств и режима применения дезинфицирующего средства, приготовленного в лабораторных условиях.

5. Производственные испытания стерилизующего биопрепарата «Полифаг», разработанного на основе бактериофагов.

4. Методы исследования:

Диссертация выполнена на кафедре «Ветеринарная санитария» Казахского национального аграрного исследовательского университета, а экспериментальная часть исследований – в микробиологической лаборатории НИИ «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» Министерства здравоохранения Республики Казахстан. Научно-исследовательские работы проводились с использованием нормативных документов, официально регламентированных ветеринарным законодательством Республики Казахстан. Микробиологические пробы собирали стандартизированными методами.

Производственные испытания проводились в хозяйствах Алматинской и Жамбылской областей.

Объектами исследования служили бактериофаги, выделенные из проб окружающей среды, всего изучено 129 проб. Соответствующие штаммы использовали в качестве индикаторных тест-культур для бактериофагов.

Образцы объектов окружающей среды, привезенных из различных ферм Алматинской и Жамбылской областей: молочная продукция, водотоки из окрестностей свинокомплексов и птицефабрик, мясо с рынка и т.д. Пробу исследуемых сточных вод (120 мл) отбирали и разливали в колбы с 30 мл (5-кратной концентрации) бульоном HRM, который больше подходит для развития бактериофагов. После отбора 100 г исследуемого твердого материала и тщательного перемешивания в стерильных фарфоровых посудах их переносили в колбы, содержащие по 150 мл питательной среды, содержащей бульонную среду HRM.

Колбы с материалами помещали в инкубационный термостат при температуре 37°C на 5-10 дней. К инкубационному материалу ежедневно добавляли по 0,2–0,5 мл однодневных роста специфических бактерий.

Колбы ежедневно перемешивали для улучшения аэрации инкубационной смеси.

Методы изучения биологических свойств бактериофагов. Титрование бактериофагов в жидкой культуральной среде по методу Аппельмана основано на внесении различных количеств титруемого бактериофага в питательный бульон, инокулированный одинаковой дозой бактериального роста, чувствительного к специфическому фагу. Для этого брали 10 пробирок, содержащих по 4,5 мл ГРМ или ЭПС (мясо-пептонный бульон). В первую пробирку внесли 0,5 мл тестируемого фага и тщательно перемешали. Для контроля брали 2 пробирки с ГРМ или ЭПС, в одну из них вносили 0,5 мл исследуемого фага (контроль стерильности фильтра фаголизата), а в другую вносили 0,03 мл бактериального роста. Все пробирки помещали в термостат на 18 часов при оптимальной температуре роста микроорганизмов. Результат определяли по отсутствию роста бактерий в присутствии бактериофага.

5. Основные положения выносимые на защиту диссертации:

- выделение бактериофагов против кишечной палочки, госпитального штамма и бактерий бруцеллеза;
- определяли разрушающую (литическую) активность выделенных бактериофагов;
- созданы инновационные препараты на основе бактериофага;
- разработан оптимальный режим влажной дезинфекции современными препаратами на основе бактериофага;
- прошли испытания в производстве инновационные препараты на основе бактериофага, составлены протоколы технологических испытаний.

6. Описание основных результатов исследования

13 различных бактериофагов с высокими бактерицидными свойствами были выделены из бактериологических проб, взятых с различных поверхностей и сточных вод производственных объектов страны (1. *Echerichia coli*, 2. *Proteus vulgaris*, 3. *Proteus miravilis*, 4. *Yersina pseudotuberculosis*, 5. *Yersina enterocolitica*, 6. *Salmonella enteritidis*, 7. *Salmonella tiphimurium*, 8 *Salmonella enfantis*, 9. *Enterococcus infantis*, 10.

Shigella sonne, 11. *Shigella flexneri* 12. *Brucella abortus*, 13. *Pseudomonas aeruginosa*).

Работы по идентификации вирионов в соответствии с типами бактериофагов взятых для исследования, были выполнены с помощью электронного микроскопа JEM-100 (Япония), в результате чего были идентифицированы характерные вирионы всех бактериофагов, которые были хорошо видны. В результате определения режимов применения в лабораторных условиях бактерицидных свойств дезинфицирующего препарата, разработанного на основе бактериофагов и поверхностно-активных веществ, 0,1% растворов биопрепарата «Полифаг» после 5-минутного воздействия на кишечную палочку, штаммы золотистого стафилококка и бруцеллеза составляют от 10,8 до 23,6% бактерий, через 30 минут - от 78 до 92 до, а после 60 минут воздействия – до 100% показали, что они разрушают жизнеспособность.

В результате проведенных исследований на убойном пункте ТОО «Кордай Инвест», где применялся дезинфицирующий биопрепарат «Полифаг», бактериологические пробы с территорий, выращенные на питательной среде, при наблюдении в течение пяти суток рост побегов не наблюдался. В пробах контрольной группы, через два дня был выявлен рост чужеродных микроорганизмов. В результате исследования было доказано, что приготовленный биопрепарат «Полифаг» на 100% уничтожает микроорганизмы при использовании в качестве дезинфицирующего средства.

7. Обоснование новизны и важность полученных данных.

К ветеринарной практике относятся объекты ветеринарно-санитарного надзора, ветеринарного и животноводства, птицеводства, рыбы, пищевого производства и транспорта, технологическое оборудование, а также неблагоприятные точки, опасные зоны, бойни, пищевые производства, связанные с переработкой мяса, молока, яиц, сырья, от микрофлоры, вызывающей бруцеллез, псевдотуберкулез, дифтерию, сальмонеллез, колибактериоз и диарейные заболевания молодняка от больных животных (протей, клебсиелла, псевдомонада, энтерококки, иерсинии и другие инфекции, относящиеся к первой группе устойчивости) и других очагах, устойчивых к первой группе, представлено дезинфицирующее средство на основе разработанных новых бактериофагов. В состав препарата входят различные бактериофаги против бактерий:

Brucella abortus, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Echerichia Coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella infantis*, *Shigella sonne*, *Shigella flexneri*.

8. Соответствие направлениям развития науки или государственным программам: Научно-исследовательская работа Комитета науки Министерство Высшего Образования и Науки Республики Казахстан в ходе коммерциализации результатов научной и научно-технической деятельности АО «Фонд науки» № 230-16-ГК «Новые биопрепараты Полифагов для санитарной обработки медицинских

помещений, пищевых производств и жилых помещений» «Коммерциализация» проведена по бюджетной программе.

9. Описание вклада докторанта в подготовку каждой публикации.

Основные результаты научных и экспериментальных исследований были представлены на международных научных конференциях, симпозиумах и конгрессах.

11 научных работ по материалам диссертационных работ, в том числе 1 статья опубликована в журнале «Veterinary World», включенном в Scopus Q1, процентиль 79), 2 патента на полезную модель, 3 статьи - в республиканских научных журналах, рекомендованных комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан, 5 статья – в отечественных и материалах международных конференций. В отечественных научно-практических журналах опубликовано.

IV - международная конференция «Бактериофаги: теоретические и практические аспекты использования в медицине, ветеринарной медицине и пищевой промышленности», проходившая в г. Ульяновске, Российская Федерация в 2018 г., 24-26 сентября 2018 г. в г. Нижний Новгород, Российская Федерация. Г.Н. На четвертой научно-практической конференции «Бактериофаги: теоретические и практические аспекты использования в медицине, ветеринарной медицине и пищевой промышленности», организованной НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Габричевского;

В 2018 году на II Всероссийской международной научно-практической конференции, проходившей в г. Вологда – Молочное, статья «Исследование дезинфицирующей активности препаратов на основе ПАВ»; В 2019 году в Ульяновске, Российская Федерация, П.А. На республиканской научно-практической конференции, организованной Ульяновским государственным аграрным университетом имени Столыпина на тему «Аграрная наука и образование в современный период: опыт, проблемы и пути их решения», была представлена статья «Режим дезинфекции при апробационных исследованиях препарат «Полифаг» на бойне ТОО «Кордай-Инвест»;

18 июня 2021 года в Костанайе А. Статья «Использование бактериофагов в качестве дезинфицирующего средства» опубликована в сборнике международной научно-практической конференции «Актуальные проблемы и тенденции развития современной аграрной науки и ветеринарии», посвящённой памяти доктора ветеринарных наук, профессора Пионтковского Валентина Ивановича, организованный Костанайским региональным университетом имени Байтурсынова.

10. Объем и структура диссертации

Диссертация набирается на компьютере на 93 страницах и ее состав состоит из введения, определяющего направление исследования, самостоятельного исследования, результатов исследования, заключения, практических рекомендаций, списка использованной литературы и приложений. Работа украшена 12 таблицами и 16 рисунками. В список литературы включены работы 225 отечественных и зарубежных ученых.