

АННОТАЦИЯ

диссертационной работы Жылкайдара Армана Жетпісбайұлы на тему «Иммунопрофилактика мастита сельскохозяйственных животных» представленной на соискание степени доктора философии (Ph.D) по специальности 6D120100 – Ветеринарная медицина

Актуальность темы исследования. Важной проблемой для научного и практического ветеринарного дела с экономической и социальной значимостью является заболевание вымени у крупного рогатого скота, в первую очередь мастит.

Эта патология распространена как за пределами страны, так и внутри неё. Мастит сельскохозяйственных животных наносит огромный экономический ущерб в результате преждевременной ликвидации заболевшего скота, изменения поголовья в результате частичной и полной потери молочной продуктивности, затрат на лечение, заболеваемости и гибели молодняка, ухудшения качества молока и молочной продукции.

Коровы, овцы, козы, кобылы и, в последнее время, верблюды часто болеют маститом. У животных, выздоровевших от заболевания, возможно частичное или полное атрофирование паренхимы молочной железы. При высокой сопротивляемости организма и отсутствии большого вредного воздействия окружающей среды наблюдается субклиническая форма мастита.

Сегодня, для лечения коров, страдающих маститом, предложено множество лекарств и методов лечения, однако эти методы не всегда оказывают эффективное воздействие. У большинства животных, лечение мастита часто приводит к следующим диагнозам после двух-трех лактаций: гипогалактия, агалактия, атрофия некоторых частей вымени, индурация, образование абсцессов, гангрена и т. д. В большинстве случаев при лечении мастита широко используются антибактериальные препараты. Увеличение уровня антибиотиков в составе молока наносит вред здоровью человека и снижает качество молочных продуктов, нарушая технологию их производства.

Более того, по мнению многих специалистов, частое использование антибиотиков может привести к увеличению резистентности различных видов микроорганизмов к антибиотикам. Это открывает возможность повторного рассмотрения и внедрения в практику методов лечения и профилактики мастита у сельскохозяйственных животных, а также внедрения экологически чистых препаратов, направленных на восстановление общей физиологической нормы как молочной железы, так и организма в целом.

Цель диссертационного исследования:

Изучение этиологической структуры мастита у сельскохозяйственных животных, определение надежных методов диагностики мастита и проверка профилактической эффективности поливалентной вакцины против мастита животных.

Задачи исследования:

1. Исследование распространения мастита сельскохозяйственных животных (коров, овец) в различных хозяйствах Казахстана.

2. Определение этиологической структуры мастита у продуктивных животных (коров, овец), изучение биологических свойств культур выделенных от больных клиническим и субклиническим маститом животных (коров, овец).

3. Разработка и внедрение технологии производства, методов контроля и применения вакцины против мастита сельскохозяйственных животных (коров, овец).

4. Исследование профилактической эффективности вакцины против мастита сельскохозяйственных животных (коров, овец) и испытание ее в производственных условиях.

Методы исследования.

Научно-исследовательская работа была проведена в рамках инициативного проекта «Современные методы лечения и профилактики различных форм мастита животных» в период с 2020 по 2023 гг. и зарегистрирована государственным регистрационным номером 0121РКИ0076 от 04.07.2021 г. Она проводилась с 2018 по 2024 год.

Целью наших исследований было дать характеристику микрофлоры здорового и больного маститом коровьего молока и определить лечебно-профилактическую эффективность поливалентной сыворотки и вакцины против мастита коров.

Исследования проводились в хозяйствах Алматинской, Жамбылской, Туркестанской и Кызылординской областей, а также в лабораториях Бактериозной биотехнологии кафедры "Микробиологии, вирусологии и иммунологии" Казахского национального аграрного исследовательского университета, патологоанатомическое исследование проводилось на кафедре "Биологическая безопасность", в Казахстанско-Японском инновационном центре, а также в лаборатории "Микробиологии" Университета прикладных наук в Испарте, Турция.

Всего было отобрано и исследовано 1200 проб молока у 300 животных. В хозяйствах, которых проводили исследования, мы изучали состояние здоровья животных, в том числе и вымени, путем клинического обследования. Молочную железу животных обследовали согласно общепринятой схеме: осмотр, пальпация всех четвертей вымени, обращая внимание на величину, консистенцию и симметричность, болезненность, местную температуру. Субклиническую форму мастита коров определяли путем исследования секрета из молочной железы при помощи быстрых маститных тестов (с димастином, мастидином, пробой отстаивания), а также других известных быстрых маститных тестов и бактериологического исследования взятых из вымени проб на наличие основных возбудителей мастита.

Сбор клинического материала проводился в 2023 году, а экстракция ДНК из изолятов проводилась в лаборатории "Зеленая биотехнология и клеточная инженерия" КазНАИУ в Казахстанско-Японском инновационном центре. На первом этапе экспериментальной работы клинический и субклинический

мастит диагностировали с помощью экспресс-тестов, извлекали экссудат из молочной железы, слизь из влагалища коров. Экстракция ДНК из клинического материала проводилась фенольным методом или с использованием коммерческих наборов.

При разработке поливалентной вакцины против мастита сельскохозяйственных животных использовались промышленные штаммы стафилококков, стрептококков, эшерихий, клебсиелл, диплококков, выделенные из проб молока животных, больных маститом.

Описание штаммов, использованных в качестве антигена при получении вакцины, приведено в соответствующих главах.

Изменения иммунной системы в организме под действием введенного антигена проводили с выявлением антител и агглютининов против стафилококка, стрептококка, эширихиоза, диплококка, клебсиелла.

Для серологической оценки поствакцинального иммунитета был поставлен реакция агглютинации на рост титра антител.

Образцы крови были взяты у животных в объеме 10-15 мл на 7, 14, 21 и 28 дни после вакцинации.

Реакция агглютинации была установлена в соответствии с общепринятым методом.

Статистическая обработка результатов. Экспериментальные данные обрабатывались по методу, описанному Р.Ф. Сосовым и А.А. Глушковым. Уровень достоверности, определяли с помощью критерия Стьюдента-Фишера. Данные считали достоверными при $P < 0,05$

Основные положения, выносимые на защиту:

- Этологическая структура мастита коров;
- Определение способности к фаголизации стафилококков, выделенных у коров, больных маститом;
- Стафилококковый токсикоз при употреблении молока коров, больных маститом;
- Роль кишечных палочек, диплококков, клебсиелл в этиологии мастита у коров;
- Биологические свойства стрептококков, выделенных от больных и здоровых коров;
- Этиопатогенетические аспекты мастита овец;
- Вакцинная профилактика мастита у крупного рогатого скота;
- ПЦР выявление патогенных микроорганизмов в клиническом материале-эффективное средство лабораторной диагностики;
- Способ изготовления вакцины против мастита крупного рогатого скота;
- Способ выявления возбудителя *Escherichia coli* в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции;
- Способ выявления возбудителя *Staphylococcus aureus* в клиническом материале методом полимеразной цепной реакции.

Описание основных результатов исследования.

Перед взятием молока осматривали животных по принятой в

клинической практике схеме. Анамнестические данные о животных устанавливали из книг учета, документов бонитировки, а также опроса обслуживающего персонала и специалистов-животноводов.

Субклиническую форму мастита коров определяли путем исследования секрета из молочной железы при помощи быстрых маститных тестов (с димастином, мастидином, пробой отстаивания), а также других известных быстрых маститных тестов и бактериологического исследования взятых из вымени проб на наличие основных возбудителей мастита.

При пробном сдаивании первых порций молока (секрета) из каждой четверти обращали внимание на однородность жидкости, наличие или отсутствие хлопьев, или каких-либо других примесей. Наличие хлопьев или изменение консистенции молока (секрета) указывало на воспаление молочной железы.

Нами использовались следующие диагностические тесты: 1) проба с димастином, 2) проба мастидином, 3) проба отстаивания.

За полученные результаты исследований было принято положительное решение о выдаче двух патентов на полезную модель.

- "Метод идентификации патогенного агента *Staphylococcus aureus* в клиническом материале с использованием полимеразной цепной реакции" (заявка № 2023/0947.2, 22 сентября 2023 года);

- "Метод идентификации патогенного агента *Escherichia coli* в клиническом материале с использованием полимеразной цепной реакции" (заявка № 2023/0948.2, 22 сентября 2023 года).

Было принято решение на основе выявленных основных биологических характеристик штаммов *Staphylococcus aureus* M-66, *Streptococcus agalactiae* K-112, *Escherichia coli* K-20, *Streptococcus pneumoniae* (*Diplococcus pneumoniae*) A-14, *Klebsiella pneumoniae* 97 и использования их для разработки поливалентной вакцины против мастита у сельскохозяйственных животных.

От Национального института интеллектуальной собственности Министерства юстиции Республики Казахстан от 4 марта 2019 года получен патент «метод изготовления вакцины против мастита крупного рогатого скота». Дата регистрации в государственном реестре Республики Казахстан. № 4672. – 12.02.2020.

Обоснование новизны и значимости полученных результатов.

В некоторых сельскохозяйственных районах Республики Казахстан были проведены диагностические исследования на мастит у коров и овец в различных климатических зонах. Были выявлены субклинические (скрытые) формы мастита у животных, идентифицированные как наиболее эффективные инструменты диагностики.

В результате работы разработаны критерии отбора культур возбудителей мастита животных в качестве антигена для получения поливалентной вакцины против мастита сельскохозяйственных животных и получен паспорт на эти штаммы.

Новизна исследования подтверждена патентом Национального института интеллектуальной собственности Министерства юстиции

Республики Казахстан на изобретение «метод производства вакцины против мастита крупного рогатого скота» (№4672, зарегистрирован 12.02.2020). Вакцина апробирована в хозяйствах в производственных условиях, установлено, что у 90% животных формируется иммунитет к маститу.

Выявлена этиологическая роль стафилококков и кишечной палочки в возникновении мастита у коров и разработаны подходы к выявлению *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* в клиническом материале с использованием метода полимеразной цепной реакции (патент на полезную модель "Подход к выявлению патогенного агента *Escherichia coli* в клиническом материале с полимеразной цепной реакцией", № 8657 от 24.11.2023; Решение о выдаче патента на полезную модель "Способ выявления патогенного агента *Staphylococcus aureus* в клиническом материале с полимеразной цепной реакцией", регистрационный номер заявления 2023/0947.2, 22.09.2023 г.).

Описание вклада докторанта в подготовку каждой публикации. Докторант под руководством научных консультантов успешно подготовил и опубликовал 13 научных работ по результатам своих исследований, в том числе: 3 статьи - в научных изданиях, рекомендованных Комитетом по науке и высшему образованию РК; 6 докладов - на международных научно-практических конференциях; 3 патента на полезную модель (№ 4672, 04.03.2019; № 8657, 24.11.2023; № 8656, 24.11.2023); экспериментальное предложение "Профилактика и контроль мастита у крупного рогатого скота" было утверждено на заседании Института ветеринарии, фармации и санитарии КазНАИУ (протокол № 12 от 28.04.2023 г.); временные методические указания по "Разработке и контролю поливалентной вакцины против мастита у крупного рогатого скота" были подготовлены и утверждены на заседании Института ветеринарии, фармации и санитарии КазНАИУ (протокол № 12 от 28.04.2023 г.).

Диссертационные исследования были представлены и обсуждены на следующих конференциях и публикациях: Материалы IX Международной научно-практической конференции "Международные тенденции в науке и технологиях", том 3, 31 января 2019 г., Варшава, Польша, с. 26-28; Материалы IX Международной научно-практической конференции "Международные тенденции в науке и технологиях", том 3, 31 января 2019 г., Варшава, Польша, с. 29-32; Вестник современных исследований, выпуск № 2-12 (29), февраль 2019 г., с. 35-38; Материалы международной научно-практической конференции "Современные научно-практические решения в области животноводства" "Урал-2019", март 29, с. 270-273; Журнал "Ғылым және білім", 2019, №4 (57), ЗКАТУ, с. 137-141; Журнал "Ғылым және білім", 2019, №4 (57), ЗКАТУ, с. 141-145; Archives of Razi Institute, Vol. 76, No. 5 (2021), с. 1381-1387; "Ғылым және Білім" том 1, вып. 4 (69), декабрь 2022 г., сс. 148–156; Материалы мероприятия, посвященного 100-летию со дня рождения профессора Ш. Т. Расулова "Инфекционные болезни: диагностика и проблемы профилактики", 2023 г., Самарканд, с. 171-173; Материалы международной научно-практической конференции "Актуальные вопросы ветеринарной медицины и

лабораторной диагностики, посвященной 100-летию со дня рождения профессора В. В. Рудакова", Санкт-Петербург, 2023 г., с. 131-134.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 154 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов самостоятельных исследований, заключения, списка использованной литературы, приложений. Диссертация оформлена 24 таблицами, 15 рисунками и 3 диаграммами. Список литературы включает 170 источников.