

## **АННОТАЦИЯ**

**диссертационной работы Бесембаевой Ляйли Бекжановны на тему «Мониторинг формирования микробной биопленки и оптимизация диагностики и лечения маститов животных», представленной на соискание степени доктора философии (PhD) по образовательной программе 8D09101 – Ветеринарная медицина**

**Актуальность исследования.** В Республике Казахстан особое внимание уделяется развитию животноводческой отрасли, в том числе молочного скотоводства, как одному из ключевых направлений обеспечения продовольственной безопасности страны. Мастит сельскохозяйственных животных, особенно крупного рогатого скота, остаётся одной из наиболее распространённых и экономически значимых патологий, приводящей к снижению молочной продуктивности, ухудшению качества молока, росту затрат на лечение и преждевременной выбраковке животных.

Современные исследования показывают, что одной из основных причин хронического течения маститов и снижения эффективности антибактериальной терапии является способность возбудителей заболевания формировать микробные биоплёнки. Биопленочная форма существования микроорганизмов обеспечивает их устойчивость к действию антимикробных препаратов и иммунным факторам организма, что способствует длительной персистенции инфекции в тканях молочной железы.

В условиях реализации государственных программ по развитию молочного животноводства Республики Казахстан актуальной научно-практической задачей является изучение механизмов формирования микробных биоплёнок при маститах, а также разработка и внедрение эффективных методов диагностики, лечения и профилактики заболевания с учётом биологических особенностей возбудителей.

Таким образом, настоящее диссертационное исследование направлено на решение важной научно-практической задачи, связанной с повышением эффективности диагностики и терапии маститов на основе изучения биопленкообразующих микроорганизмов и внедрения альтернативных терапевтических подходов в производственную практику.

### **Цель диссертационного исследования:**

Изучение роли микробных биопленок в этиологии маститов и разработка научно обоснованных подходов к оптимизации диагностики и лечения маститов, обусловленных биопленкообразующими штаммами.

### **Задачи исследования:**

1. Провести мониторинговые исследования клинических и субклинических форм маститов у сельскохозяйственных животных и определить их распространённость.

2. Изучить этиологическую структуру маститов, выделить и идентифицировать возбудителей, включая биопленкообразующие формы микроорганизмов.

3. Сравнительное изучение антибиотикорезистентности планктонных и биопленочных штаммов возбудителей маститов.

4. Оценить антимикробные и антибиопленочные свойства растительных экстрактов в отношении патогенных микроорганизмов.

5. Разработка способов лечения мастита коров с использованием полифитовой формулы на основе растительных экстрактов.

6. Оптимизация способов лечения маститов с использованием поливалентной сыворотки против маститов сельскохозяйственных животных.

#### **Методы исследования.**

Объектом исследования являлись коровы и овцы, больные клиническими и субклиническими формами мастита, содержащиеся в хозяйствах Алматинской, Жамбылской и Туркестанской областей Республики Казахстан. Всего было обследовано 510 коров и 61 овца, в общей сложности отобрано и исследовано 2162 пробы молока.

Исследования проводились в период 2020–2025 гг. на базе лаборатории кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет» (г. Алматы), а также в научно-диагностической лаборатории Казахстанско-Японского инновационного центра.

Практическая апробация и внедрение разработанных методов лечения мастита осуществлялись в условиях молочного хозяйства ТОО «Ақ сүт» и ТОО «Амиран», что подтверждено актами внедрения.

В работе применялся комплекс клинических, микробиологических, молекулярно-генетических, серологических и статистических методов исследования. Использовались бактериологические методы выделения и идентификации микроорганизмов, ПЦР-диагностика, секвенирование по Сэнгеру, методы оценки биопленкообразования (микротитровальный метод), определение антибиотикочувствительности в соответствии с рекомендациями CLSI и EUCAST.

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программы Microsoft Excel с применением t-критерия Стьюдента.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

- результаты мониторинга распространённости клинического и субклинического мастита у животных в южных регионах Казахстана;
- данные о видовом составе и биологических свойствах биопленкообразующих возбудителей мастита;
- установленные особенности антибиотикорезистентности планктонных и биопленочных форм микроорганизмов;

– научно обоснованная эффективность растительных экстрактов и поливалентной гипериммунной сыворотки при лечении маститов.

### **Описание основных результатов работы:**

Установлено, что распространённость мастита в хозяйствах Алматинской, Жамбылской и Туркестанской областей Республики Казахстан составила у коров 25,1% (клинический – 4,9%, субклинический – 20,2%), у овец – 34,0% (клинический – 13,1%, субклинический – 20,9%).

В этиологии маститов преобладающее значение имеют *S. aureus* (133/248-54,5%), *S. epidermidis* (48/248-19,7%), а также *S. haemolyticus* (41/248-16,8%). Доля *E.coli*, *E.faecium*, *E.durans* не превышала 2,5%. Вместе с тем, при мастите коров изолировано 10 культур, которые были идентифицированы как *S. borealis* (4,1% 10/248).

Определено, что ведущими возбудителями клинического мастита являются *Staphylococcus aureus*, *S. haemolyticus* и метициллин-резистентные штаммы стафилококков, тогда как при субклинической форме преобладают коагулазонегативные стафилококки (*S. epidermidis*, *S. borealis*), *Enterococcus spp.* и отдельные штаммы *Escherichia coli*.

Впервые в Республике Казахстан выделены штаммы *Staphylococcus borealis*, обладающие генами биоплёнкообразования (*icaA*, *icaD*).

Определены факторы патогенности у выделенных изолятов стафилококков. 90,2% культур *S. aureus*, 72,9% *S. epidermidis* и 90% - *S.borealis* обладают гемолитической активностью. ДНК-азную активность проявили 72,9% *S. aureus*, 16,7% *S. epidermidis* и 14,6% *S. haemolyticus*. Также 69,9% изолятов *S. aureus* и 57,1% *S. epidermidis* образовали биопленку в сильной степени, что значительно усиливает позиции данных штаммов в патологическом процессе. Биоплёночные формы возбудителей характеризуются повышенной устойчивостью к антимикробным препаратам и обуславливают хроническое течение заболевания.

При изучении у выделенных изолятов наличия генов, ответственных за антибиотикорезистентность и образование биопленки, были обнаружены гены устойчивости к антибиотикам *blaZ*, *tetM*, *tetK* и *mecA*, а также гены, кодирующие образование биопленки *aap*, *bar*, *icaA* и *icaD*.

Получены методом мацерации в этаноле растительные экстракты *Plantago major* (подорожник) *Calendula officinalis* (календула) *Hippophae rhamnoides L*, *Hypericum perforatum* (зверобой) *Matricaria chamomilla* (ромашка), которые в различных вариациях показали выраженную антимикробную и антибиоплёночную активность в отношении патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, выделенных при мастите. Комбинация экстрактов усиливала антимикробное действие и обеспечивала более высокую степень подавления биоплёнки по сравнению с использованием отдельных компонентов. Так, *Calendula officinalis*, *Matricaria chamomilla* и *Hippophae rhamnoides* ингибируют рост как метициллин-чувствительных, так и MRSA и CoNS, а также вызывают

эрадикацию биоплёнок до 92% (Препарат для терапии мастита коров: патент на полезную модель РК № 9787 от 22.11.2024 г.).

Отработана технология получения гипериммунной сыворотки с использованием в качестве антигенов основные возбудители мастита. Применение полифитовых формул в сочетании с гипериммунной поливалентной сывороткой обеспечило выздоровление 93,3–100% животных и сократило сроки лечения до трёх суток. (Способ получения гипериммунной сыворотки против мастита крупного рогатого скота: патент на полезную модель РК №11536 от 12.12.2025 г.)

#### **Обоснование новизны и важности полученных результатов.**

Проведён мониторинг биопленкообразующих штаммов, показано их значение в персистенции инфекции и формировании антибиотикорезистентности, проведено сравнение чувствительности биопленочных и планктонных форм к антимикробным препаратам. В качестве альтернативы антибиотикотерапии обосновано применение растительных экстрактов облепихи, зверобоя и ромашки, обладающих выраженным антимикробным и противобиопленочным действием. Разработаны и апробированы экспериментальные поливалентные сыворотки против мастита коров на основе патогенных полевых штаммов, что открывает новые перспективы лечения заболевания в условиях хозяйств.

#### **Соответствие направлениям развития науки или государственным программам.**

Диссертационная работа выполнена в соответствии с приоритетными направлениями развития агропромышленного комплекса Республики Казахстан и государственными программами по развитию молочного животноводства и снижению рисков антимикробной резистентности.

Научное исследование проводилось в рамках выполнения инициативного научного проекта по прикладным научным исследованиям в области агропромышленного комплекса на 2020–2023 гг. (№ОП11465306) по проекту: «Современные методы лечения и профилактики различных форм мастита у животных», а также полученные результаты стали заделом и основанием для проекта поддержанного в рамках грантового финансирования исследований молодых учёных по программе «Жас ғалым» на 2025-2027 годы: ИРН АР25794411 «Разработка препаратов на основе растительных экстрактов против мастита коров и изучение их антимикробного и противобиопленочного действия против антибиотикорезистентных стафилококков».

#### **Описание вклада докторанта в подготовку каждой публикации.**

Докторант принимал непосредственное участие во всех этапах диссертационного исследования: планировании экспериментов, проведении лабораторных и производственных исследований, анализе и интерпретации полученных данных, а также в подготовке и оформлении научных публикаций. В работах, выполненных в соавторстве, вклад докторанта являлся основным.

По материалам диссертации опубликовано 6 научных работ, из которых 3 в изданиях из перечня рекомендуемых КОКСНВО МНВО РК, 1 статья - в международном издании, индексируемом в базе данных Scopus и два патента на полезную модель.

**Объем и структура диссертации.**

Диссертационная работа изложена на 126 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов собственных исследований, обсуждения, заключения, практических предложений, списка использованной литературы и приложения А-Г. Работа содержит 32 таблицы, 28 рисунков. Список литературы включает 146 источников.