

6D120200 – Ветеринариялық санитария мамандығы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін ұсынылған Алиева Гульнур Козыевнаның «Солтүстік Қазақстан аймағында таралған *Staphylococcus spp.* штамдарының төзімділік бейіндерінің айырмашылығы мен түрішілік ерекшеліктері» тақырыбы бойынша диссертациялық жұмысына берілген

## АНДАТПА

**Тақырыптың өзектілігі.** Стафилококкты инфекциялар әр түрлі және 100-ден астам нозологиялық формаларды қамтиды. Жануарлар мен үй құстарын мекен ететін стафилококктардың түрлері мен олардың қасиеттерін талдауға арналған зерттеулер шектеулі. Диссертациялық жұмыстың тақырыбы бүгінгі күнге дейін өзекті тақырып, өйткені стафилококктардың түрлік спектрі мен түрішілік ерекшеліктері ветеринариялық тәжірибеде аз зерттелген, әсіресе бұрын қауіпсіз деп саналған коагулаза теріс стафилококктардың вируленттік қасиеттерінің жоғарылауын дәлелдейтін көптеген жұмыстар бар.

Соңғы жылдарда Қазақстанда және бүкіл әлемде стафилококктардың төзімді түрлерінің кең таралуы және бірқатар антибиотиктердің тиімділігінің төмендеуі негізгі мәселе болып табылады. Жануарларда тұрақты болатын төзімді клондар адамдарға азық-түлік тізбегі арқылы немесе жануарлармен тікелей байланыста болғанда таралуы мүмкін.

Микробиологиялық және молекулалық-генетикалық әдістермен антибиотикке төзімділікті анықтау микроорганизмдердің антибиотикке төзімділік күйінің нақты көрінісін береді, микробқа қарсы препараттардың әртүрлі топтарына төзімділіктің пайда болуын болжауға, сондай-ақ жергілікті және аймақтық деңгейде төзімді штамдардың таралуын бағалауға мүмкіндік береді.

**Зерттеудің мақсаты:** Қазақстанның Солтүстік өңірінде жануарлардан, құстардан және жануарлардан алынатын өнімдерден бөлініп алынған *Staphylococcus* субспециясы штамдарының төзімділік бейіндерінің айырмашылығы мен түрішілік ерекшеліктерін анықтау.

**Осы мақсатты орындау үшін келесі міндеттер қойылды:**

1. Қазақстанның Солтүстік өңірінде жануарлардан, құстардан және жануарлардан алынатын өнімдерден *Staphylococcus spp* штамдарын бөліп алу және оқшаулау;

2. Әртүрлі биотоптардан оқшауланған стафилококк изоляттарының негізгі биологиялық қасиеттерін (вируленттілік, персистенция факторлары және т. б.) салыстырмалы түрде түр спектріні зерттеп, түрішілік ерекшеліктерін анықтау;

3. Бактерияға қарсы препараттарға фенотиптік төзімділікті анықтау және стафилококктардың резистентті және полирезистентті штамдарын іріктеуді жүргізу;

4. Стафилококктардың антибиотикке төзімді штамдарының генетикалық профилін анықтау.

**Зерттеу нысаны:** Қазақстанның Солтүстік өңірінде әртүрлі көздерден оқшауланған стафилококктардың бактериялық изоляттары.

**Зерттеу бағыты:** *Staphylococcus spp* штаммының антибиотикке төзімділігі және молекулалық-генетикалық механизмдері.

**Зерттеу әдістері:** Жұмыс "А. Байтұрсынов атындағы ҚӨУ " КЕАҚ Қолданбалы биотехнология ғылыми-зерттеу институтының базасында микробиология және молекулалық-генетикалық талдау зертханаларында жүргізілді. Литва денсаулық ғылымдары университетінің микробиология және вирусология институтының микробиология зертханасы (Литва, Каунас қ.).

Стафилококк штамдарын оқшаулау және сәйкестендіру әдістемелік нұсқауларына сәйкес жүргізілді.

Молекулалық-генетикалық әдістер

Стафилококк штамдарын теру Сенгер әдісі бойынша жүргізілді. Қарсылық гендерін анықтау агарозды геледегі күшейту өнімдерін бейнелеу арқылы ПТР әдісімен жүргізілді. Әдеби деректерден олигонуклеотидтер тізбегі праймер ретінде пайдаланылды.

Антибиотикке төзімділікті тексеру

Штамдардың бактерияға қарсы препараттарға сезімталдығы "микроорганизмдердің бактерияға қарсы препараттарға сезімталдығын анықтау" әдістемелік ұсынымдарына сәйкес диско- диффузия әдісімен жүргізілді. Өсудің тежелу аймақтарын түсіндіру EUCAST нұсқауларына сәйкес жүргізілді.

Спектрофотометриялық әдістер

Сальмонелла штамдарының полистирол планшетінің бетінде биоқабықшалар түзу қабілетін анықтау кристалды күлгін бояу әдісімен жүргізілді. Оптикалық тығыздықты өлшеу 620 нм толқын ұзындығында Multiskan көп арналы микробиологиялық спектрофотометрде жүргізілді.

**Қорғауға шығарылатын негізгі мәселелер:**

1. Қазақстанның Солтүстік өңіріндегі ауыл шаруашылығы жануарлары мен құстарының әртүрлі биотоптарынан бөлініп алынған стафилококктардың түрлік спектрі.

2. Стафилококктардың коагулаза оң және коагулаза теріс түрлерінің вируленттілік факторларының түрлері мен жиынтығы, түршілік ерекшеліктері.

3. Бактерияға қарсы препараттардың әртүрлі топтарына стафилококк түрлерінің фенотиптік және генотиптік төзімділігі.

**Жұмыстың ғылыми жаңалығы.**

Алғаш рет ауыл шаруашылығы жануарларынан, құстардан және жануарлардан алынатын өнімдерден бөлініп алынған стафилококктардың әртүрлі штамдарының түрлік ерекшеліктері мен биологиялық қасиеттеріне салыстырмалы талдау жүргізілді.

Стафилококктардың түрлік құрамы айтарлықтай әртүрлі болуымен ерекшеленетіні анықталды. Стафилококктардың оқшауланған штамдарының басым көпшілігі, соның ішінде КТС, бөлініп алынған көзіне қарамастан, вируленттілік факторларының белгілі бір жиынтығына ие екендігі көрсетілген. Сонымен қатар, зерттелген штамдар арасында вируленттілік факторларының белгілі бір жиынтығы бар өсінділер жиі анықталды. Оқшауланған стафилококк өсінділерінің көпшілігі биоқабықша түзуге қабілетті. Республикамыздың Солтүстік облыстарында алғаш рет мал шаруашылығы шаруашылықтарында және жануарлардан алынатын өнімдерінен оқшауланған стафилококк штамдарының антибиотикке төзімділігіне талдау жүргізілді және вируленттіліктің генетикалық бейіні туралы мәліметтер алынды. Сезімтал, төзімді және полирезистентті штамдар табылды. Изоляттардың ең көп саны  $\beta$  – лактамдар тобындағы әртүрлі антибиотиктерге төзімді, ал аминогликозидтер мен сульфаниламидтер топтарына ең аз тұрақты изоляттар анықталды.

**Жұмыстың тәжірибелік маңыздылығы.** Нәтижелер стафилококк экологиясы, әртүрлі көздерден оқшауланған стафилококк штамдарының биологиялық қасиеттерінің ерекшеліктері мен айырмашылықтары туралы түсініктерді кеңейтеді.

Жұмыс тек іргелі ғана емес, сонымен қатар тәжірибелік маңызға ие: мал шаруашылығы өндірісінде *S.aureus* және коагулаза теріс стафилококктардың (КТС) әртүрлі түрлерінің кең таралу мүмкіндігін көрсететін деректер алынды. Жануарлар мен құстарды колонизациялайтын стафилококктар арасында вируленттілік факторлары мен полирезистентті штамдардың болуы жануарлардан алынатын өнімдер арқылы халықтың денсаулығына ықтимал қауіп төндіреді. Антибиотиктерге бактериялық төзімділікті білу аурумен сәтті күресу үшін өте маңызды. Жұмысты орындау барысында шаруашылықтардың ветеринарлық мамандары жануарлардың жұқпалы ауруларын, әсіресе сиырлардың маститтерін емдеуде изоляттардың бактерияға қарсы препараттарына сезімталдығын/төзімділігін анықтауға өте үлкен қызығушылық танытты.

#### **Жұмыстың ғылыми-зерттеу бағдарламаларымен байланысы**

Жұмыс 2 ғылыми жоба аясында орындалды: - 217 "Ғылымды дамыту" бюджеттік бағдарламасы, 102 "Ғылыми зерттеулерді гранттық қаржыландыру" кіші бағдарламасы бойынша ҚР БҒМ №АР05131447 "Қазақстанның Солтүстік өңіріндегі энтеропатогенді зооантропонозды аурулар қоздырғыштарының антибиотикке төзімділігінің мониторингі" гранттық қаржыландыру жобасы;

-267 "Білім мен ғылыми зерттеулердің қолжетімділігін арттыру" бюджеттік бағдарламасы шеңберінде ауыл шаруашылығы министрлігі қаржыландырған BR10764944 "Тамақ өнімдерінің қауіпсіздігін талдамалық бақылау және мониторинг жүргізу әдістерін әзірлеу" ғылыми-техникалық бағдарламасы шеңберінде "Жануарлардан және жануарлардан алынатын шикізат пен өнімдерден бөлінетін патогендік микрофлораның антибиотиктерге төзімділігінің пайда болу тәуекелдерін талдау" жобасы, 101

"Ғылыми зерттеулер мен іс-шараларды бағдарламалық-нысаналы қаржыландыру" кіші бағдарламасы

**Ғылыми зерттеулердің нәтижелерінің жариялануы:** Диссертация материалдары: Диссертация тақырыбы бойынша 9 мақала жарық көрді, оның ішінде ЖБҒССҚК ұсынған баспаларында 3 мақала, Ресейлік ғылыми дәйексөз индексі құрамына кіретін журналдарда 2 мақала, сонымен қатар Web of Science (Clarivate Analytics) және Scopus (Elsevier) халықаралық ақпараттық ресурстарына кіретін ғылыми басылымдарда жалпы ветеринария бойынша - 86 процентиль мен 15 процентиль 2 мақала басылып шықты, сонымен қатар 2 мақала халықаралық конференциялар материалдарында жарияланған. 1 пайдалы модельге патент алынды, 2 өндіріске еңгізу актісі мен 1 оқу процесіне еңгізу актісі бар.

**Нәтижелердің сенімділік дәрежесі.** Алынған мәліметтердің дұрыстығы жүргізілген зерттеулердің жеткілікті көлемімен, заманауи әдістерді қолданумен анықталады. Ғылыми зерттеу жұмыстарының нәтижелері АР05131447 "Қазақстанның солтүстік өңіріндегі энтеропатогенді зооантропонозды аурулар қоздырғыштарының антибиотикке төзімділігінің мониторингі" жобасы бойынша қорытынды есепте көрсетілген (тіркеу№ 0118РК00397, инв.№ 0220РК00538).

**Автордың жеке үлесі.** Автор зерттеудің барлық кезеңдеріне қатысты: изоляттарды оқшаулау және сәйкестендіру, вируленттілік факторларын, биоқабықшаның пайда болуын, стафилококктардың БҚП-ға төзімділігін зерттеу, сондай-ақ ПТР әдісімен зерттеу. Әдеби дереккөздерге шолу және талдау, зерттеу нәтижелерін өңдеу, талдау және түсіндіруді автор жеке өзі жасады.

### **Зерттеулердің нәтижелері.**

1 Шаруашылықтардан жеткізілген жануарлар мен құстардан биологиялық материалдың және бөлшек сауда орындарында жануарлардың өнімдерінің (шикізат және дайын өнім) 1811 үлгісі зерттелді, 342 стафилококк изоляты бөлінді.

2. Стафилококктардың түрлік құрамы айтарлықтай әртүрлілігімен ерекшеленетіні анықталды. Культуралдық, биохимиялық, молекулалық-генетикалық және Малди масс-спектрометриялық әдістермен коагулаза оң және коагулаза теріс стафилококктардың 13 түрі анықталды: *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. chromogenes*, *S. sciuri*, *S. xylosus*, *S. cohnii*, *S. agnetis*, *S. fleurettii*, *S. simulans*, *S. arlettae*, *S. gallinarum*, *S. saprophyticus*, *S. hyicus*.

3. Барлық изоляттардың негізгі биологиялық қасиеттері және ең маңызды бес түрдің - *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. chromogenes*, *S. cohnii*, *S. arlettae* - дәстүрлі вируленттілік факторларының түрішілік ерекшеліктері зерттелді. Оқшаулау көзіне байланысты зерттелетін стафилококк штаммдарында вируленттілік факторларының болуына қатысты түрішілік айырмашылықтар анықталды. Стафилококктардың оқшауланған штаммдарының басым көпшілігі, соның ішінде КТС, алу көзіне қарамастан,

вируленттілік факторларының белгілі бір жиынтығына ие екендігі көрсетілген.

4. Бөлінген стафилококк өсінділерінің көпшілігі биоқабықшалар түзуге қабілетті екендігі анықталды.

5. Республиканың солтүстік облыстарының мал шаруашылығы шаруашылықтарында және жануарлардан алынатын өнімдерде айналатын стафилококк штамдарының антибиотикке төзімділігіне талдау жүргізілді. Төзімді және полирезистентті штамдар орнатылған. Изоляттардың ең көп саны  $\beta$  – лактамдар тобындағы әртүрлі антибиотиктерге төзімді, ең аз төзімді штамдар аминогликозидтер тобына – 11% және сульфаниламидтер тобында – 16,1% анықталды.

6. Вируленттіліктің генетикалық профилі туралы мәліметтер алынды. Зерттелген бактерияға қарсы препараттардың көпшілігі үшін ( $\beta$ -лактамдар, макролидтер және аминогликозидтер) төзімділікті кодтайтын гендердің болуы мен сезімталдықты анықтаудың фенотиптік әдісінің деректері арасында сенімді байланыс орнатылған.

**Жұмыстың тәжірибелік маңыздылығы.** Нәтижелер стафилококк экологиясы, әртүрлі көздерден оқшауланған стафилококк штамдарының биологиялық қасиеттерінің ерекшеліктері мен айырмашылықтары туралы түсініктерді кеңейтеді.

Жұмыс тек іргелі ғана емес, сонымен қатар тәжірибелік маңызға ие: мал шаруашылығы өндірісінде *S. aureus* және коагулаза теріс стафилококктардың (КТС) әртүрлі түрлерінің кең таралу мүмкіндігін көрсететін деректер алынды. Жануарлар мен құстарды колонизациялайтын стафилококктар арасында вируленттілік факторлары мен полирезистентті штамдардың болуы жануарлардан алынатын өнімдер арқылы халықтың денсаулығына ықтимал қауіп төндіреді. Антибиотиктерге бактериялық төзімділікті білу аурумен сәтті күресу үшін өте маңызды. Жұмысты орындау барысында шаруашылықтардың ветеринарлық мамандары жануарлардың жұқпалы ауруларын, әсіресе сиырлардың маститтерін емдеуде изоляттардың бактерияға қарсы препараттарына сезімталдығын/төзімділігін анықтауға өте үлкен қызығушылық танытты.

#### **Тәжірибелік ұсыныстар**

1. Жануарлардың жұқпалы аурулары кезінде биоматериалдан ветеринариялық зертханаларға жіберіп бөлінген қоздырғыштардың бактерияға қарсы препараттарға сезімталдығына зерттеулерді көрсете отырып, және бактерияға қарсы препараттарды таңдау бойынша ұсынымдармен зерттеу хаттамасын беру.

**Диссертацияның көлемі мен құрылымы.** Диссертациялық жұмыс 142 компьютерлік мәтіннің беттерінде және кіріспеден, негізгі бөлімнен және қорытындыдан тұрады. Диссертациялық жұмыстың мәтінінде 50 кесте, 42 сурет, 2 формула, 8 қосымша бар. Пайдаланылған әдебиеттер тізімі 223 дереккөзден тұрады.