

**6D120200 - Ветеринариялық санитария мамандығы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін ұсынылған Мендыбаева Анара Муратовнаның «Солтүстік Қазақстан аймағында таралған *Salmonella enterica*, штамдарының фенотиптік және генотиптік ерекшеліктерін зерттеу» тақырыбы бойынша диссертациялық жұмысына берілген**

**АНДАТПА**

**Зерттеу тақырыбының өзектілігі.** Антибиотиктерге төзімділіктің дамуы мен таралуы қазіргі дәуірдегі ең маңызды эволюциялық өзгерістердің бірі болып табылады. Микробқа қарсы тұрақтылық бүкіл әлемде алаңдаушылық тудыратын қоғамдық денсаулық мәселесі болып табылады. Клиникалық маңызы бар бактериялар арасында қарсылық күрт өсті деп CRAIG Baker-Austin бірлескен авторлармен хабарлайды және медицина және ветеринарияда коммерциялық антибиотиктерді кеңінен қолданудан туындаған селективті қысым негізгі себеп болып табылады.

2015 жылы Дүниежүзілік денсаулық сақтау ұйымының 68-ші сессиясында микробқа қарсы тұрақтылық бойынша жаһандық іс-қимыл жоспары қабылданды. Ұлттық, аймақтық және жаһандық деңгейде микробқа қарсы тұрақтылықты бақылау үшін неғұрлым үйлестірілген қадағалау жүйесіне шұғыл қажеттілікті айта отырып, ДДҰ халықаралық, аймақтық және Ұлттық серіктестерге микробқа қарсы тұрақтылыққа қарсы іс-қимылдың ауқымды жоспарының міндеттерін шешуге үлес қосу мақсатында қажетті шараларды жүзеге асыруды ұсынды.

2016 жылдың соңында БҰҰ-на мүше елдер дәріге төзімді микроорганизмдермен күресу және микробқа қарсы препараттардың қолданылуын бақылауды қамтамасыз ету бойынша шаралар қабылдау қажеттілігі туралы бірлескен мәлімдеме қабылдады. Ұйымның бүкіл тарихында микроорганизмдердің антибиотикке төзімділігі мәселесі АИТВ-инфекциясы, Эбола және жұқпалы емес аурулардан (мысалы, жүрек ауруы, қант диабеті және т.б.) кейінгі бас ассамблеяның талқылауына шығарылған төртінші денсаулық мәселесі болды.

*Salmonella* азық-түлік тізбегінде кездесетін тұрақты серотиптердің белгілі бір саны бар микроорганизмдердің бірі. Адамдар мен жануарларда ауру немесе тасымалдауды тудыруы мүмкін сальмонелла штамдарындағы бактерияға қарсы препараттарға төзімділік оларды мал шаруашылығында, құс шаруашылығында және медицинада кеңінен қолданудың жағымсыз, бірақ сөзсіз салдары болып табылады. Бактерияға қарсы препараттарды қарқынды қолдану сальмонеллалардың төзімді штамдарының селекциясын күшейтеді, олардың резервуары жануарлар болып табылатын. "Азық-түлік тізбегі" арқылы мұндай штамдар көбінесе адамға беріледі. Сальмонеллалардың емдеу үшін қолданылатын препараттарға төзімділігі денсаулық сақтау үшін үлкен мәселе болып табылады. Антибиотиктерді

бактериялар арасындағы төзімділікті беретін гендердің көлденең берілуімен бірге қолдану екі немесе одан да көп бактерияға қарсы препараттарға төзімділік болып табылатын бірнеше дәріге төзімділікке әкелді, бұл адамдар мен жануарлардың ауруларын емдеудің емдік мүмкіндіктерін айтарлықтай шектейді.

Әр түрлі гендердің көп мөлшері микробқа қарсы тұрақтылыққа жауап бере алады. Мұндай гендерді анықтау төзімділік эпидемиологиясын түсіну, сезімтал емес фенотиптерді тексеру және гендер *in vitro* арқылы әлсіз экспрессияланған кезде төзімді штаммдарды анықтау үшін маңызды.

**Диссертациялық зерттеудің мақсаты:** Қазақстанның солтүстік өңірінің аумағында айналатын *Salmonella enterica* штаммдарының фенотиптік және генотиптік резистенттілігінің ерекшеліктері.

**Зерттеу нысаны:** Қостанай және Солтүстік Қазақстан облыстарының аумағында әртүрлі көздерден оқшауланған сальмонеллалардың бактериялық изоляттары.

**Зерттеу бағыты:** *Salmonella spp* штаммына төзімділіктің антибиотикке төзімділігі және молекулалық-генетикалық механизмдері.

**Зерттеу міндеттері:**

1) *Salmonella spp* бактериялық өсінділерін әр түрлі көздерден оқшаулау және олардың биологиялық қасиеттерін анықтау.

2) Сальмонелла штаммдарын молекулярлық - генетикалық типтеуді жүргізу.

3) *S. enterica* оқшауланған штаммдарының әртүрлі фармакологиялық топтардың бактерияға қарсы препараттарына дәрілік төзімділік спектрін сынау және анықтау.

4) Бактериялардың антибиотикке төзімді штамдарының генетикалық профилін анықтау.

5) *S. enterica* штаммдарының биоқабықша түзілу қабілетін зерттеу.

**Зерттеу әдістері:** Жұмыс "А. Байтұрсынов атындағы ҚӨУ" КЕАҚ Қолданбалы биотехнология ғылыми-зерттеу институтының базасында микробиология және молекулярлық-генетикалық талдау зертханаларында жүргізілді. Литва денсаулық ғылымдары университетінің микробиология және вирусология институтының микробиология зертханасы (Каунас қ.), "Микробиология және вирусология ҒӨО" ЖШС (Алматы қ.) ИО зерттеулер мен талдаудың химиялық және молекулярлық-генетикалық әдістері зертханасы.

Сальмонелла штаммдарын оқшаулау және сәйкестендіру "Сальмонеллезді зертханалық диагностикалау, тамақ пен қоршаған орта объектілерінде сальмонеллаларды анықтау" әдістемелік нұсқауларына сәйкес жүргізілді. Серотиптеу диагностикалық сальмонелла сарысуларымен агглютинация реакциясында жүргізілді.

Молекулярлық-генетикалық әдістер. Сальмонелла штаммдарын 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. Штаммдардың бактерияға қарсы препараттарға сезімталдығы "микроорганизмдердің бактерияға қарсы препараттарға сезімталдығын анықтау" әдістемелік ұсынымдарына сәйкес диско- диффузиялық әдісімен жүргізілді.

Спектрофотометриялық әдістер. Сальмонелла штаммдарының 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 ережелер**

1. Қостанай және Солтүстік Қазақстан облыстарының аумағында таралған сальмонеллалар серотиптері.

2. Әр түрлі көздерден оқшауланған бактерияға қарсы препараттарға төзімді сальмонеллалардың таралуы.

3. *Salmonella* штаммдарының әртүрлі фармакологиялық топтардың бактерияға қарсы препараттарына фенотиптік және генотиптік төзімділік профилі.

**Ғылыми жаңалық.** Солтүстік Қазақстан аумағында алғаш рет әртүрлі көздерден оқшауланған сальмонелла штаммдарының Бактерияға қарсы препараттардың кең спектріне антибиотикке төзімділігін зерттеу бойынша зерттеулер жүргізілді. Алынған жаңа деректер бактерияға қарсы препараттар топтарына, соның ішінде адам терапиясы үшін маңызды топтарға әртүрлі көздерден оқшауланған сальмонеллалардың төзімді түрлерінің таралу деңгейін бағалауға мүмкіндік берді.

Әр түрлі көздерден оқшауланған сальмонелла штамдарының 90% - дан астамы энтеробактериялық инфекцияларды емдеу үшін қолданылатын бактерияға қарсы препараттардың кем дегенде бір тобына төзімді екендігі анықталды.

Тетрациклинге, нитрофурандарға, бета-лактамдарға және хинолондарға төзімді *Salmonella*, штаммдарының бөлінуінің жоғары жиілігі анықталды.

Сальмонелла штаммдарының генотиптік төзімділігі анықталды - 6 фармакологиялық топтың бактерияға қарсы препараттарға төзімділігін кодтайтын 20 геннің болуы. Жануарлар мен жануарлардан алынатын өнімдерден алынған био - және патоматериалдан алынған ДНҚ үлгілерінде 1 және 2 класс интегрондарының (*teg1* және *teg2*) болуы анықталды.

### **Теориялық және тәжірибелік маңыздылығы**

Жүргізілген зерттеулер негізінде:

Диагностикалық зертханалардың мамандарына, оқытушыларға, студенттерге, магистранттарға және ветеринариялық мамандықтардың докторанттарына арналған "Стафилококкоз, сальмонеллез және эшерихиоз қоздырғыштарын зертханалық диагностикалау және сәйкестендіру" тәжірибелік ұсынымы;

- Диагностикалық зертханалардың мамандарына, оқытушыларға, студенттерге, магистранттарға және ветеринариялық мамандықтардың

докторанттарына арналған "Микроорганизмдердің бактерияға қарсы препараттарға сезімталдығын анықтау" әдістемелік құралы;

- "Энтеропатогенді зооантропонозды аурулардың қоздырғыштарын диагностикалау" оқу құралы Ветеринариялық санитария кафедрасының білім беру процесіне енгізілді және дәрістер оқуда және зертханалық және тәжірибелік сабақтар өткізуде оқу материалы ретінде қолдануға әзірленді және ұсынылды.

ҒЗЖ нәтижелері өндіріске енгізілді, антибиотикке төзімділіктің мониторингі мен таралуының алдын алу бойынша тәжірибелік ұсынымдар берілді.

**Жұмысты апробациялау.** Қорғауға шығарылатын негізгі ережелер халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференцияларда баяндалды:

- "Байтұрсынов оқулары – 2019 "Халықаралық ғылыми-практикалық конференциясының материалдарында 26 сәуір 2019 ж. (Қостанай);

- ауыл шаруашылығы ғылымдарының докторы, профессор Д.К. Наймановтың 80 жылдық мерейтойына арналған "Асыл тұқымды мал шаруашылығын дамыту перспективалары" халықаралық ғылыми-практикалық конференциясының материалдарында, 9 қазан 2020 жыл (Қостанай).

**Жарияланымдар.** Диссертациялық зерттеулердің нәтижелері мен негізгі ережелер 9 басылымда, оның ішінде 3 - Scopus және Web of Science халықаралық дерекқорларына кіретін журналдарда (86%, 83% және 24% процентиль), 2 - ҚР ҒЖБССҚК ұсынған басылымдарда, 2 - Ресей индексі жүйесінде рецензияланған журналдарда көрсетілген ғылыми дәйексөз. Пайдалы модельге 1 патент алынды. 1- практикалық ұсыныс, 1- оқу құралы, 1 – әдістемелік құрал жарияланды.

**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.

**Нәтижелердің сенімділік дәрежесі.** Алынған мәліметтердің дұрыстығы жүргізілген зерттеулердің жеткілікті көлемімен, заманауи әдістерді қолданумен анықталады. ҒЗЖ нәтижелері АР05131447 "Қазақстанның

солтүстік өңіріндегі энтеропатогенді зооантропонозды аурулар қоздырғыштарының антибиотикке төзімділігінің мониторингі" жобасы бойынша қорытынды есепте көрсетілген (тіркеу№ 0118РК00397, инв.№ 0220РК00538).

### **Жеке үлес**

Автор диссертацияны орындаудың барлық кезеңдерінде теориялық және тәжірибелік зерттеулер жүргізді. Әдеби деректерді жинау және жалпылау жүргізілді. Эксперименттік зерттеулер жүргізілді. Автор алынған деректерді жалпылау және талдау жүргізді, қорытындылар мен практикалық ұсыныстарды тұжырымдады. Мақалалар жарияланды, пайдалы модельге патент алынды, оқу-әдістемелік жұмыстардың тиісті бөлімдері дайындалды.

### **Зерттеудің негізгі нәтижелерінің сипаттамасы:**

1. Солтүстік Қазақстан аумағындағы микробиологиялық зерттеулердің (2018-2020 жж.) нәтижелері жануарлардан, құстардан және жануарлардан алынатын өнімдерден алынған биоматериалдың 2010 сынамасынан 90 (4,5%) *Salmonella* штамдарының бөлінгенін және сәйкестендірілгенін көрсетті. Қостанай облысының аумағында 1035 сынамадан 74 сальмонелла штаммы (7,1%) бөлінді, Солтүстік Қазақстан облысында 975 көзден 16 сальмонелла штаммы (1,6%) бөлінді. Сальмонеллалардың жануарлардан болуы, атап айтқанда ірі қара малдан (37,7%) сынамаларда басым болды. Жануарлардан алынатын өнімдерге жүргізілген зерттеулер нәтижесінде зерттелген өнімнің 429 сынамасынан 35 сальмонелла штаммы бөлінгенін көрсетті, бұл жалпы тағамдық изоляттардың 8,1% құрады. Жануарлардан алынатын өнімдер мен шикізатта сальмонелла штамдарының басым саны Қостанай облысының аумағында бөлінді, зерттелген 223 сынаманың 30 сальмонелла штаммы бөлінді, бұл 13,4% құрады. Солтүстік Қазақстан облысында 206 өнім сынамасының 5 (2,4%) сальмонелла бөлінді.

2. Қостанай және Солтүстік Қазақстан облыстарында сальмонеллалардың серотиптерінің алуан түрлілігі: *S. Enteritidis*, *S. Typhimurium*, *S. Paratyphi C*, *S. Typhi*, *S. Abortus equi*, *S. Derby*, *S. Blegdam*, *S. Tshiongwe*, *S. Cholerae suis*, *S. Dublin*, *S. Tennessee*, *S. Moscow*, *S. Virchow* айналымда. 41,1%, оқшауланған сальмонелла штамдарының едәуір бөлігі *S. Enteritidis* және 15,5% *S. Typhimurium* серотипіне жатады. Сонымен қатар, *S. Enteritidis* серотипі жануарлардан алынатын өнімдерден оқшауланған штамдар арасында басым болды және 68,6% құрады, ал жануарлар мен құстардың биоматериалында бұл серотип 23,6% жағдайда кездеседі.

3. Сальмонеллез мәселесі *S. enterica* штамдарында антибиотиктерге төзімділіктің үдемелі таралуымен қиындайды. Сальмонелла штамдарының 93,3% - ы бактерияға қарсы препараттардың кем дегенде бір тобына төзімді және тек 6,7% - антибиотиктерге сезімтал екендігі анықталды. Төзімділігі бар сальмонелла штамдары негізінен тетрациклин тобының антибиотиктеріне төзімді болды (64%). Екінші орында нитрофурандар тобы (61%), содан кейін хинолондар (51%), фторхинолондар (46%) және бета-лактамы (41%) орналасқан. Аминогликозидтер (24%), сульфаниламидтер (19%) және амфениколдар (11%) топтарына ең аз төзімді штамдар анықталды.

4. Полирезистентті штаммдардың ең жоғары деңгейі мал шаруашылығы өнімдерінің изоляттарында анықталды және 71,4% құрады, ал жануарлардан оқшауланған изоляттар 63,6% жағдайда полирезистентті болды. *S. Enteritidis* (n=3) серотипі жиі кездесетін экстремалды төзімді сальмонелла штаммдарының 8 жағдайы анықталды. Сондай-ақ, бактерияға қарсы препараттардың барлық сегіз тобына төзімді екі штамм (*S. Virchow* және *S. Tennessee*) анықталды.

5. Жалпы алғанда, бактерияға қарсы препараттар тобына төзімділіктің әртүрлі комбинациясы бар 44 антибиотикке төзімділік профилі анықталды. Бөлінген сальмонелла штаммдары үшін антибиотикке төзімділіктің басымы "тетрациклиндер + фторхинолондар + хинолондар + нитрофурандар" моделі болды.

6. Сальмонелла штаммдарының генотиптік төзімділігін зерттеу алты фармакологиялық топтың бактерияға қарсы препараттарға төзімділігін кодтайтын 20 геннің болуын көрсетті:

- бета - лактамдар-BlaTEM, BlaSHV, OXA1 және ctxM гендері;
- аминогликозидтер-aacA4, aadA, aadB, aphA1, strA, strB гендері;
- тетрациклиндер-tetA және tetB гендері;
- сульфаниламидтер-Sul1, Sul2, Sul3 және dfr1 гендері;
- амфениколдар- cmlA, catII гендері;
- хинолондар- qnrA, qnrB гендері.

7. *S. Enteritidis*, *S. Paratyphi C*, *S. Virchow*, *S. Tennessee* штаммдарының ДНҚ үлгілерінде бірнеше төзімділікпен ерекшеленеді, 1 және 2 класс интегрондарының болуы анықталды (teg1 және teg2).

8. Сальмонелла штаммдарының биоқабықшаларды қалыптастыру қабілетін зерттеу, зерттелетін штаммдардың көп жағдайда биоқабықша жасау қабілеті жоқ екенін көрсетті, бұл сальмонеллалардың қоршаған ортаға қарағанда организмдер ішіндегі айналымға көбірек бейімделуін көрсетеді.

#### **Тәжірибелік ұсыныстар**

1. Жүргізілген зерттеулер мен нәтижелер жануарлардың жұқпалы ауруларын емдеу үшін қолданылатын көптеген препараттарға *Salmonella* штаммдарының төзімділігінің тұрақты өсу заңдылығын көрсетті, осыған байланысты этиотропты терапияны тағайындау мақсатында және әртүрлі микробқа қарсы препараттарға сезімталдықтың мониторингін жүзеге асыру мақсатында оқшауланған қоздырғыштарда микробқа қарсы препараттарға сезімталдықты міндетті түрде анықтау қажет.

2. Жануарлардың сальмонелла инфекциясын емдеу үшін адам медицинасы үшін маңызды микробқа қарсы препараттар: үшінші және төртінші буын фторхинолондары мен цефалоспориндері қолдануға болмайды.

#### **Диссертациялық зерттеулердің көлемі мен құрылымы**

Диссертациялық жұмыс 173 баспа парағында көрсетілген және келесі бөлімдерді қамтиды: кіріспе, әдебиетке шолу, өзіндік зерттеулер, зерттеу нәтижелері, зерттеу нәтижелерін жалпылау және бағалау, пайдаланылған дереккөздер тізімі, қосымшалар. Жұмыста 24 сурет, 20 кесте, 20 қосымша, 269 әдебиет көзі бар.