

«Адамның ішек инфекциясына қарсы отандық бірегей дәрілік препаратының технологиясын әзірлеу» тақырыбында

Масирбаева Айгерим Дуйсенғалиевнаның

«8D05105-Биотехнология» Білім беру бағдарламасы бойынша

Философия докторы (PhD) ғылыми дәрежесін алу үшін дайындалған
диссертациясына

АНДАТПА

Жұмыстың жалпы сипаттамасы. Жұмыс барысында пробиотикалық препаратының белсенді фармацевтикалық субстанциясы жасалды және өндіріс технологиясы әзірленді және пробиотикалық препараттың түрін өндіру технологиясы жүзеге асырылды. Сонымен қатар, клиникаға дейінгі зерттеулер мен клиникалық сынақтардың 1 және 2 кезеңдері жүргізілді.

Тақырыптың өзектілігі. Жедел ішек инфекциялары (ЖИИ) әлем бойынша, соның ішінде Қазақстанда да, жұқпалы аурулар құрылымында әлі де алдыңғы қатарда тұр. ДДСҰ сарапшыларының бағалауынша, жыл сайын 600 миллион адам, яғни әлемдегі әр оныншы адам, ластанған тағамдарды тұтынғаннан кейін сырқаттанады, ал 420 000 адам осы аурудың салдарынан көз жұмады. ЖИИ-дің ерекшелігі – жұғу көрсеткішінің жоғары болуында, бұл аурумен ересектер де, балалар да жиі ауырады.

Қазақстанда да ішек инфекцияларымен сырқаттанушылық өсіп отыр. ДСҰО-ның эпидемиологтары ішек инфекцияларымен ауыратындар санының артқанын тіркеген. 2024 жылдың алғашқы бес айында республика бойынша 4986 жедел ішек инфекциясы жағдайы тіркелген (2023 жылы – 4764 жағдай), сонымен қатар сальмонеллездің – 316 жағдайы (2023 жылы – 405), дизентерияның – 79 жағдайы (2023 жылы – 84), ротавирусты энтериттің – 765 жағдайы (2023 жылы – 623) анықталған.

Елде жүргізіліп жатқан жедел ішек инфекцияларына қатысты санитарлық-эпидемиологиялық мониторинг өткен жылдың сәйкес кезеңімен салыстырғанда сырқаттанушылықтың өсіп келе жатқанын көрсетуде.

Ішек инфекцияларының кең таралуы, орташа ауыр және ауыр түрлерінің жиі кездесуі, сондай-ақ асқынулардың болуы — бұл аурулар тобын емдеу тактикасын оңтайландыру жолдарын іздеуді қажет етеді.

Қазіргі уақытта ЖИИ-ді емдеудің заманауи стратегиясы ішекте орналасқан инфекциялық ошақты жою мақсатында ішек микробиоценозын түзетуге бағытталған емдік шараларға басымдық береді.

Осыған байланысты соңғы уақытта әлемде ішек және несеп-жыныс жолдары инфекцияларын емдеуде антибиотиктердің орнына асқазан-ішек жолдарының симбионт микроорганизмдері негізіндегі пробиотиктерді қолдану жиілеп отыр. Ең кең таралғандары – сүтқышқылды және бифидобактериялар, олардың патогендік әлеуеті сарапшылардың пікірінше, жалпы қабылданған дозаларда ауыз қуысы арқылы қабылдауға жеткілікті түрде төмен. Бұл препараттар патогендік микрофлораны тез басып, организмнің иммундық жүйесін жоғарылатады.

Пробиотиктерді тиімді дозада қолдану адам ағзасына оң әсер етуі мүмкін.

Пробиотиктер дисбиоз кезінде ішек микрофлорасын реттеу мен сақтауға, сондай-ақ оның бұзылуын алдын алуға қолданылады.

Қазіргі уақытта нарықта тірі микроорганизмдер негізіндегі пробиотикалық препараттар көптеп ұсынылған. Алайда ішек инфекцияларына қарсы белгілі пробиотикалық құралдар әрдайым тиімді бола бермейді. Мұның себебі, микробқа қарсы әсер етудің жеткіліксіз спектрі; арнайы патогендерге антагонистік штамдар таңдалмауымен байланысты.

Сонымен қатар, фармацевтикалық нарықта ұсынылған пробиотиктерге жүргізілген талдаулар олардың қаптамасында көрсетілген мәліметтер шындыққа әрдайым сәйкес келмейтінін көрсетіп отыр.

Қазақстанда отандық пробиотикалық препараттар өндірілмейді, негізінен импорттық өнімдер пайдаланылады. Осыған байланысты олардың өндірісіне қатысты отандық деректер өте аз.

Пробиотикалық препараттарды өндіру — бұл көп еңбекті талап ететін, бірнеше кезеңнен тұратын күрделі процесс. Пробиотикалық микроорганизмдер емдік препараттың немесе биологиялық белсенді қоспаның құрамына енгізілмес бұрын, олар бірқатар талаптарға сәйкестігі тұрғысынан тексерілуі тиіс.

Патогендерге қарсы тиімділігімен қатар жоғарыда аталған барлық қасиеттерге ие микроорганизмдерді іріктеу — ұзақ әрі күрделі процесс.

Сүтқышқылды бактериялар құрамын қамтитын препараттарды өнеркәсіптік өндіру — бұл күрделі процесс. Пробиотикалық препараттарды өндірудегі негізгі мәселелердің бірі — таңдалған штамның немесе штамдар қауымдастығының бастапқы қасиеттерін сақтай отырып, биомассаны жинақтау болып табылады. Биомассаны масштабтап алу әдетте ферментация әдісімен жүзеге асырылатындықтан, бұл процесті мұқият жоспарлау мен бақылау қажет.

Ішек инфекцияларына қарсы отандық препарат технологиясын өндіру жоғары ғылыми және практикалық маңыздылыққа ие, өйткені ол фармацевтикалық дамуды, микробиологиялық зерттеулерді, тиімділік пен қауіпсіздікті клиникаға дейінгі және клиникалық бағалауды қамтитын тәсілді қажет етеді, Қазақстанның денсаулық сақтау жүйесін жетілдіруге, фармацевтикалық тәуелсіздігін нығайтуға және халықтың денсаулығын жақсартуға үлес қосады.

Зерттеу жұмысының мақсаты: Адамның ішек инфекцияларына қарсы дәрілік пробиотикалық препараттың технологиясын әзірлеу.

Зерттеу міндеттері:

1. Лактобактериялардың морфологиялық, дақылдық, биохимиялық қасиеттерін зерттеу және идентификациялау.
2. Пробиотикалық дәрілік препараттың белсенді фармацевтикалық субстанциясын (БФС) және оның дайын түрін өндіру технологиясын әзірлеу
3. Жануарлардың эксперименттік модельдерінде препараттың клиникаға дейінгі сынақтарын жүргізу.
4. Препараттың адамдарға клиникалық сынақтарын жүргізу (1 және 2 кезеңдері)

Зерттеу объектілері: БФС жасау үшін ішек ауруларының қоздырғыштарына қарсы жоғары антагонистік белсенділікке ие сүтқышқылды бактериялар-*Lactobacillus fermentum* 30 және *Lactobacillus cellobiosus* 36 қолданылды.

Сүтқышқылды бактерияларының *Lactobacillus fermentum* 30 және *Lactobacillus cellobiosus* 36 негізіндегі «АС-Пробионорм» пробиотикалық дәрілік препараты болды.

Зерттелген *L. fermentum* 30 + *L. cellobiosus* 36 дақылдарының ассоциациясының антагонистік белсенділігі келесі тест-дақылдарға қатысты

анықталды: *Escherichia coli* ATCC: 8739^{тм}, *Escherichia coli* ATCC: 11229^{тм}, *Salmonella enterica subsp. enterica serovar typhimurium* ATCC: 14028^{тм}, *Salmonella enterica subsp. enterica serovar typhimurium* ATCC: 29630^{тм}, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-р, *Klebsiella pneumoniae subsp. pneumoniae* ATCC:10031^{тм}, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC:9027^{тм}.

«АС-Пробионорм» пробиотикалық дәрілік препаратының клиникаға дейінгі сынақтары зертханалық ақ тышқандарда, салмақтары 30-32 г (лат. *Mus musculus*) мен егеуқұйрықтарда, салмағы 180-200 г (лат. *Rattus*) жүргізілді.

«АС-Пробионорм» пробиотикалық дәрілік препаратының 1,2 клиникалық кезеңдерінде субъект ретінде адамдар қатысты.

Зерттеу әдістері. Диссертациялық жұмыс барысында тәжірибелер зертханалық жағдайда микробиологиялық әдістер, антагонистік белсенділігі антагонизм әдістері- диффузды ойықтар, перпендикуляр сызықтары, қос қабатты агар әдісімен анықталды. Лактобактериялардың өндірістік штамдарының морфологиялық, дақылдық және биохимиялық қасиеттерінің болуымен, сондай-ақ олардың молекулалық-генетикалық сәйкестендірілуімен Сангер әдісімен геннің 16s rRNA реттілігі арқылы анықталды. Микроорганизмдерді өсіріп биомассаны алу үшін қоректік орта қосып ферментация әдісімен жүргізіледі, ДНҚ-ның сандық талдауы NanoDrop ND 2000 спектрофотометрінің көмегімен 260 нм толқын ұзындығында жүргізілді, сонымен қатар 1% агарозды геледе электрофоретикалық әдіспен ДНҚ-ны сапалы бағалау жүргізілді. t-студенттік критерий (t test Student), параметрлік және Мет: U-критерийі не-Уитни (Mann Whitney u test), бояу критерийі-Уоллис (Kruskal Wallis test H), хи-квадрат критерийі (Chi-squared test) клиникалық зерттеулеріне қолданылды.

Зерттеудің ғылыми жаңалығы мен теориялық маңыздылығы:

ЖИИ-мен күресте пробиотикалық препараттардың тиімділігін арттыру, дұрыс таңдалған микробтық құрамның және оларды өндірудің оңтайлы технологиясының арқасында олардың әсер ету спектрін кеңейту бойынша зерттеулер өзекті болып табылады.

Диссертациялық жұмысты орындау барысында:

1. Лактобактериялардың морфологиялық, дақылдық, биохимиялық қасиеттерін зерттеу және идентификациялау жүргізілді.

2 «АС-Пробионорм» пробиотикалық дәрілік препаратының белсенді фармацевтикалық субстанциясын (БФС) және оның дайын түрін өндіру технологиясы алғаш рет әзірленді.

3 Алғаш рет эксперименттік жануарларға «АС-Пробионорм» препаратының клиникаға дейінгі сынақтарының нәтижелері туралы зерттеулер жүргізілді.

4 Алғаш рет «АС-Пробионорм» (1-2 кезеңдері) адамдарға препараттың клиникалық сынақтарының нәтижелері туралы зерттеулер жүргізілді.

Ішек инфекцияларын емдеуде тиімділікті арттыру үшін отандық пробиотикалық препараттың өндіріс технологиясы әзірленді.

Дайындалған технология, клиникаға дейінгі және клиникалық зерттеулерді жүргізу және өндіру ұйымдастырумен бірге Қазақстанның ішкі фармацевтикалық нарығын дамытуға ықпал етеді. Жаңа отандық пробиотикалық препараттың өндірісі Қазақстанда ішкі нарықта және басқа елдерге экспорттауға мүмкіндік береді.

Жұмыстың ғылыми және практикалық маңыздылығы. Адамның ішек инфекцияларын емдеудің тиімділігін арттыру үшін жаңа отандық «АС-Пробионорм» дәрілік препаратының өндіру технологиясы әзірленді. Клиникаға

дейінгі және клиникалық зерттеулер жүргізе отырып әзірленген технология, өндірісті одан әрі ұйымдастыру Қазақстанның ішкі фармацевтикалық нарығын дамытуға ықпал ететін болады. Бұл препараттың өндірісі Қазақстанда пайдалану үшін, сондай-ақ басқа елдерге экспорттау үшін ұйымдастырылуы мүмкін.

Қорғауға ұсынылатын негізгі қағидалар:

1. Пробиотикалық дәрілік препараттың және оның дайын түрінің белсенді фармацевтикалық субстанциясын (БФС) өндіру технологиясы адамның ішек инфекцияларын емдеу үшін тиімді сапалы пробиотикалық препаратты шығаруды қамтамасыз етеді.

2. Пробиотикалық препараттың клиникалық сынақтары оның биологиялық белсенділігін, қауіпсіздігі мен тиімділігін эксперименттік жануарларда дәлелдеуге мүмкіндік береді.

3. Препараттың клиникалық сынақтары (1-2 кезеңдері) адамдарда оның төзімділігін, қауіпсіздігі мен тиімділігін дәлелдейді.

Негізгі нәтижелер мен қорытындылар

1 Пробиотикалық сүтқышқылды бактериялардың таксономиялық тиістілігі расталды. Дәрілік заттың биологиялық белсенділігі өндірістік-бағалы көрсеткіштер бойынша расталды (ішек ауруларының қоздырғыштарының өсуін тежеу аймақтары 24 мм-ге жетті және тіршілік ету жасушалар саны $2,0 \times 10^9$ КТБ/г кем емес). Моно түрінде алынған *L. fermentum* 30 және *L. Cellobiosus* 36 бактерия штамдары жоғары антагонистік белсенділікке ие болды. *L.fermentum* 30 және *L.cellobiosus* 36 микроорганизмдерінің ассоциациясы- белсенді фармацевтикалық субстанция құрамына кіретін-моно штамдарына қарағанда жоғары антагонистік белсенділік көрсетті.

2 . 7% сахароза, 1,5% желатин, 7% ҚМС лиофильді кептіру ортасының компоненттері бар *Lactobacillus fermentum* 30 және *Lactobacillus cellobiosus* 36 пробиотикалық бактерияларының микробтық массасынан тұратын белсенді фармацевтикалық субстанцияны (БФС) өндіру технологиясы және магний стеараты қосылған БФС негізіндегі дәрілік заттың дайын түрін өндіру технологиясы кіретін «АС-Пробионорм» пробиотикалық дәрілік препаратын өндіру технологиясы әзірленді.

БФС өндіру технологиясын әзірлеу барысында оңтайлы қоректік орта (MRS ортасы) және мұздату-кептіру №1 режимі таңдалды. БФС өндірісінің сызба-нұсқасы және препараттың дайын формасы әзірленді. «АС-Пробионорм» бес тәжірибелік пробиотикалық дәрілік препарат өндірушінің өндіріс орнында шығарылды. *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Salmonella enterica* ATCC 14028 туысына жататын патогендік микроорганизмдерге қарсы антагонистік белсенділігі бар дәрілік партиялардың сапасына баға берілді. Препараттардың құрамында колиформды бактериялар, стафилококктар, ашытқылар немесе фагтар болған жоқ.

3. Пробиотикалық препараттың биологиялық белсенділігі, қауіпсіздігі және тиімділігі Фертадь® және Лацидофил-WM коммерциялық препараттарымен салыстырғанда клиникаға дейінгі кезеңдері кезінде *in vivo* тәжірибелік жануарлар үлгілерінде дәлелденді. Препарат белсенді, уытты емес, қышқыл ортада (pH 3) және өтте тұрақты.

4. Препараттың клиникалық кезеңдері жүргізілді (1 және 2 кезеңдері). Клиникалық кезеңнің бірінші кезеңінде алынған деректер 20 сау еріктіде «АС-Пробионорм» дәрілік пробиотикалық препаратының жеңіл төзімділігі мен

қауіпсіздігін көрсетті. Дисбактериозбен ауыратын 210 науқасты қамтитын 2 кезеңі зерттеуінде оның тиімділігі дәлелденді. Энтерококктардың (25%) және *Candida* саңырауқұлақтарының (27%) өсуінің айтарлықтай төмендеуі, лактобактериялардың (80%-ға дейін) және бифидобактериялардың (76%-ға дейін) өсуінің жоғарылауы атап өтілді, бұл оның микробиотаның күйін жақсарту әлеуетін көрсетеді. Препараттың әсері бүкіл зерттеу кезеңінде тұрақты (42 күнге дейін).

. Жұмыстың ғылыми зерттеу бағдарламасымен байланыстылығы

Диссертациялық жұмыс **AP14870162** «Адамның ішек инфекцияларына қарсы кең спектрлі отандық «АС-Пробионорм» пробиотикалық дәрілік препаратын клиникалық сынақтардан жүргізу» (2022-2024 жж.) тақырыбындағы ғылыми жоба аясында орындалды.

Жұмыстың апробациясы:

Диссертациялық жұмыстың материалдары келесі конференцияларда баяндалып, талқыланды:

- **Халықаралық Фараби оқулары.** Халықаралық ғылыми конференция материалдары «Фараби әлемі» (2024 ж., 6-8 сәуір, Алматы).
- **М.А. Айтхожин атындағы Молекулалық биология және биохимия институтының 40 жылдығына арналған жас ғалымдар халықаралық ғылыми конференциясы** (2023 ж., Алматы).

Басылымдар:

Диссертацияның негізгі мазмұны 12 баспа жұмысында көрініс тапқан, оның ішінде 4 мақала Web of Science және Scopus мәліметтер базаларында индекстелетін журналдарда (Процентиль 56, Q2), 6 мақала республикалық ғылыми журналдарда, 2 тезис халықаралық конференциялар материалдарында және 1 Өнертабысқа ұсынылған.

Қорғауға ұсынылатын ғылыми жұмыс нәтижелерінің жасақталуына қосқан докторанттың жеке үлесі:

Зерттеу жұмысының нәтижелері, әдеби деректерге шолу, мақсат-міндеттерін анықтау, тәжірибелік зерттеулерді жүргізу және алынған нәтижелерді талдау, статистикалық өңдеу автордың жеке қатысуымен орындалды.

Диссертация көлемі мен құрылымы:

Диссертация 100 беттен, белгілеулермен қысқартулар, кіріспе, әдебиеттерге шолу, зерттеу объектілері, материалдары мен әдістері, зерттеу нәтижелері мен талқылау, қорытынды бөлімдерінен, 203 пайдаланылған әдебиет тізімінен, 17 кестеден, 13 суреттен және 5 қосымшадан тұрады.