

Міністерство освіти і науки України
Заклад вищої освіти «Подільський державний університет»

Звіт

про досягнуті наукові результати
стипендіатки Кабінету Міністрів України
для молодих вчених за період з 01.10.2021 по 01.04.2022 року
кандидата ветеринарних наук
ГОРЮК Юлії Вікторівни

Кам'янець-Подільський – 2022

Міністерство освіти і науки України
Заклад вищої освіти «Подільський державний університет»

Звіт
за період з 01.10.2021 по 01.04.2022 року
про досягнуті наукові результати
стипендіатки Кабінету Міністрів України
для молодих вчених кандидата ветеринарних наук
ГОРЮК Юлії Вікторівни

Протягом звітнього періоду виконую науково-дослідну роботу відповідно кафедральної тематики «Теоретичне і експериментальне обґрунтування впливу бактеріофагів на планктонні і біоплівкові бактерії в системі отримання безпечного молока» (номер державної реєстрації 0119u001356). Зокрема, вивчаю біотехнологічні основи розробки препаратів бактеріофагів, специфічних до збудників маститу корів. Продовжую працювати над темою докторської дисертації «Теоретичне і експериментальне обґрунтування впливу бактеріофагів на планктонні і біоплівкові бактерії в системі отримання безпечного молока». Дослідження здійснюю з використанням сучасних методів. Проводжу глибокий патентний пошук та аналіз наукових досліджень, як у вітчизняній, так і в закордонній літературі.

Спираючись на результати власних досліджень та повідомлення інших дослідників встановлено, що найчастіше для лікування маститів у корів використовують препарати на основі аміноглікозидів, тетрациклінів, цефалоспоринів та фторхінолонів. Для проведення дослідів було відібрано чотири антибіотики: гентаміцин, тетрациклін, енрофлоксацин та цефтріаксон. Ці антибіотики були обрані залежно від механізму їх дії: інгібітор синтезу білка (гентаміцин, тетрациклін), інгібітор синтезу ДНК (енрофлоксацин) та інгібітор синтезу клітинної стінки (цефтріаксон). Попередніми дослідженнями встановлено, що через 8 годин контакту вірусу і стафілококів розпочався процес лізису мікробних клітин їх кількість зменшувалася на один порядок, а через 32 години від початку контакту фагу з біоплівкою бактеріальні клітини не виділялися (Horiuk et al., 2020).

У цьому дослідженні ми визначили кількість життєздатних бактерій у 24-годинній біоплівці *S. aureus var. bovis* до і після 24 годин впливу на неї бактеріофагом *Phage SAvB14*, антибіотиками та їх різними комбінаціями. При визначенні кількості бактерій *S. aureus* у біоплівці за впливу на неї *Phage SAvB14* в комплексі з гентаміцином встановлено, що *Phage SAvB14* впливав на стафілококові біоплівки, так як, кількість життєздатних клітин зменшилася в 7.94 раза ($P < 0.05$), порівнюючи з контролем – дія на біоплівку ізотонічного розчину NaCl. За цих же умов при дії на біоплівку тільки гентаміцину кількість стафілококів зменшилася у 3.98 раза ($P < 0.05$), порівнюючи з контролем. Однак, кращий антибіоплівковий ефект отримали при застосуванні фагу в комплексі з антибіотиком. При одночасному додаванні антибактеріальних речовин спостерігали синергічну взаємодію, яка проявлялася у зменшенні кількості бактерій у 39.81 раза ($P < 0.05$), порівняно із застосуванням *Phage SAvB14* та у 79.44 рази ($P < 0.05$) порівняно з гентаміцином. За поетапного впливу спочатку бактеріофагу, а потім антибіотику біоплівка була зруйнована майже на 100%, а кількість бактерій зменшилася в середньому в 25.05 разів ($P < 0.05$), порівнюючи з одночасною дією фагу і антибіотику.

Результати визначення впливу на стафілококові біоплівки бактеріофагу *Phage SAvB14* в комплексі з тетрацикліном виявили, що бактерицидна дія при взаємодії фагу з тетрацикліном була слабшою, порівнюючи з гентаміцином. Так, одночасне застосування фагу і тетрацикліну не викликало синергічного ефекту відносно стафілококів у біоплівці, їх кількість становила, як за впливу самого бактеріофагу. Водночас при поетапному внесенні фагу та антибіотику спостерігали більш виражений бактерицидний ефект – кількість бактерій була у 6.31 рази ($P < 0.05$) меншою, ніж за одночасного застосування.

Представник фторхінолонів – енрофлоксацин також не посилював синергічну антимікробну дію при взаємодії з фагом *Phage SAvB14* за одночасного застосування, кількість клітин у біоплівці була як за впливу фагу чи антибіотику. Проте за поетапного застосування фагу і енрофлоксацину

спостерігали більшу загибель клітин стафілококів, їх кількість зменшилася в середньому в 50.12 разів ($P < 0.05$) і становила $3.7 \log$ КУО/мл змиву.

Подібну тенденцію відмічали і при дослідженні взаємодії *Phage SAvB14* з цефтріаксоном.

Встановлено, що тільки за поетапного застосування фагу і цефтріаксону спостерігали суттєве зменшення клітин стафілококів у біоплівці до $2.7 \log$ КУО/мл, що в середньому 316.34 рази ($P < 0.05$) менше, ніж за одночасного застосування фагу з антибіотиком. Інші варіанти знищення бактерій у біоплівці були менш ефективними.

Титр бактеріофагу *Phage SAvB14* також зазнавав змін при застосуванні його з різними комбінаціями антибіотиків. Зокрема, при поетапному застосуванні бактеріофагів та антибіотиків, титр фагів був, в середньому, у 8.45 разів ($P < 0.05$) вищим ніж при одночасному застосуванні, та складав $7.1 - 7.7 \log$ БУО/мл (дослід 2). Водночас, найнижчий титр спостерігали при одночасному застосуванні фагу з антибіотиком гентаміцином – $\log 5.4$ БУО/мл (дослід 1). При одночасному застосуванні фагу з іншими антибіотиками (тетрацикліну, енрофлоксацину та цефтріаксону) від був вищим у 7.91 – 398.10 рази ($P < 0.05$), порівняно з гентаміцином.

Отримані нами результати показали, що для знищення біоплівки *S. aureus var. bovis* можна використовувати *Phage SAvB14* як самостійний антибактеріальний агент, так і в комплексі з антибіотиками. Однак при застосуванні в комплексі з антибіотиком доцільне введення фагу, а потім через певний час антибіотику.

За результатами досліджень у період з 01.10.2021 р. по 01.04.2022 р. опубліковано:

у міжнародних наукометричних базах даних Scopus та WoS:

1. Changes in organoleptic, microbiological and biochemical properties of kefir with iodine addition during the storage / D. Dalevska [et al.] // Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences. – 2021. – Vol. 15. – P. 732–740. Q3 <https://doi.org/10.5219/1679>

2. The influence of the denitrifying strain of *Staphylococcus carnosus* No. 5304 on the content of nitrates in the technology of yogurt production / M. Kukhtyn [et al.] // *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*. – 2021. – Vol. 15. – P. 66-73. Q3 <https://doi.org/10.5219/1492>

3. Effect of Phage SA ν B14 combined with antibiotics on *Staphylococcus aureus* variant bovis / Y. Horiuk [et al.] // *Regulatory Mechanisms in Biosystems*. – 2021. – Vol. 12, no. 3. – P. 531–536. <https://doi.org/10.15421/022173>

у фахових наукових виданнях України категорії Б:

1. Динаміка морфологічних та біохімічних показників крові корів хворих маститом при застосуванні фагового препарату «Фагомаст» / Ю. Горюк [та ін.] // *Аграрний вісник Причорномор'я*. – 2021. – Т. 100. – С. 44–51. <https://doi.org/10.37000/abbsl.2021.100.09>

2. Horiuk Y. Therapeutic efficacy of “Phagomast” bacteriophage preparation for the treatment of cows’ subclinical mastitis / Y. Horiuk. // *Bulletin of Poltava State Agrarian Academy*. – 2021. – Т. 3. – Р. 204–209. <https://doi.org/10.31210/visnyk2021.03.25>

тези доповідей:

1. Горюк Ю. Взаємодія бактеріофагу Phage SAVB14 та чутливої до нього культури *S. aureus* var. bovis / Ю. Горюк, М. Кухтин // *Актуальні проблеми ветеринарної біотехнології та інфекційної патології тварин : матеріали щоріч. наук.- практ. конф. молодих вчен., Київ, 30 черв. 2021 р.* – Київ, 2021. – С. 6–7.

Звіт підготувала:

стипендіатка Кабінету Міністрів України

для молодих вчених, канд. вет. наук

Юлія ГОРЮК