

REVIEW OF A FOREIGN CONSULTANT

on the dissertation work of

Ussenova Zhanerke Muratovna

entitled

“Development of Manufacturing Technology of an Inactivated Vaccine
against *Adenitis equorum* for Intranasal Use”,

submitted for the degree of Doctor of Philosophy (PhD)

within the educational program 8D09101 – Veterinary Medicine

Justification of the relevance of the performed work and its significance for modern science and practice. At present, horses play an essential role in various fields of human activity, including sports, agriculture, and military services. Despite their importance, equine populations are highly susceptible to infectious diseases, which may lead to significant economic losses and negatively affect animal health and welfare. Infectious respiratory diseases, including equine strangles (*Adenitis equorum*), represent a serious threat not only to individual animals but also to entire herds.

The rapid spread of equine infectious diseases is facilitated by the frequent movement of horses across national and international borders. Moreover, equine strangles often occurs in a latent or subclinical form, which complicates early diagnosis and the implementation of effective control measures. In this context, the development of modern immunoprophylactic approaches, including vaccination, is of particular importance. The application of serological and immunological preventive methods allows early protection of animals, ensures the sanitary safety of horses intended for export and import, and contributes to the organization of effective preventive programs. Therefore, the topic of the present dissertation is relevant, timely, and significant for veterinary science and the domestic pharmaceutical industry.

Disclosure of the main scientific and methodological provisions. Clinical and laboratory investigations were carried out on horses affected by equine strangles. In order to isolate the causative agent, *Streptococcus equi*, samples of nasopharyngeal swabs and purulent exudate from affected lymph nodes were collected. The pathogen was isolated using both solid and liquid culture media.

Bacteriological studies included the cultivation of purulent exudates obtained from ruptured and suppurative lymph nodes. The isolated *Streptococcus equi* strains were subjected to laboratory testing. Morphological and cultural characteristics of the isolates were studied using meat-peptone broth, blood agar, and meat-peptone agar supplemented with glucose and whey. Smears prepared from purulent exudate were fixed and stained using the Gram method.

Biochemical characteristics were investigated using bile tolerance tests, sodium azide agar, and carbohydrate fermentation media containing glucose, lactose, mannitol, maltose, sucrose, sorbitol, and dulcitol. The cultures were incubated at 37 °C for 18–48 hours. Taxonomic identification of the isolates was performed in accordance with

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology and established laboratory diagnostic guidelines for streptococcal infections.

Scientific results obtained by the doctoral student and their validity. The aim of the study was to develop a domestically produced inactivated vaccine against equine strangles based on local *Streptococcus equi* strains. The development of such a vaccine is an important task aimed at improving animal health and ensuring the stability of equine breeding.

To achieve this objective, the research was conducted in several stages:

1. Strain investigation – collection and analysis of local *Streptococcus equi* strains in order to identify the most epidemiologically relevant and pathogenic isolates.

2. Genomic sequencing – performed to assess the genetic structure and stability of the selected strains.

3. Antigen isolation – identification and characterization of protein antigens capable of inducing an immune response in horses.

4. Vaccine development – based on the isolated antigens, an inactivated vaccine of domestic production was developed using the *Streptococcus equi* strain “Qargaly-22”, preserved at the National Veterinary Reference Center of the Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan and in the National Collection of Deposited Microorganism Strains.

Preclinical and clinical trials were conducted on laboratory animals and horses to evaluate the safety and immunogenicity of the developed vaccine.

Structural and substantive integrity of the dissertation. The dissertation is characterized by a coherent and logically structured composition. The research topics addressed possess both theoretical and practical significance and are closely aligned with the stated objectives of the study. Each section of the dissertation contributes to a comprehensive analysis of the research problem and supports the formulation of well-grounded conclusions.

The experimental data are scientifically substantiated, critically analyzed, and subjected to appropriate statistical processing. The scientific principles and results presented in the dissertation may be applied to improve preventive and control measures against equine strangles.

Assessment of the doctoral student as a researcher. Doctoral student Ussenova Zhanerke Muratovna demonstrated a high level of scientific motivation and competence, effectively applying modern research methods and laboratory equipment in her experimental work. She successfully integrated theoretical knowledge with practical research skills, confirming her development as an independent researcher.

The research results are supported by:

- 1 article published in a journal indexed in Scopus;
- 1 article published in national peer-reviewed scientific journals;
- 1 utility model patent;
- 1 scientific paper published in the proceedings of international scientific conferences.

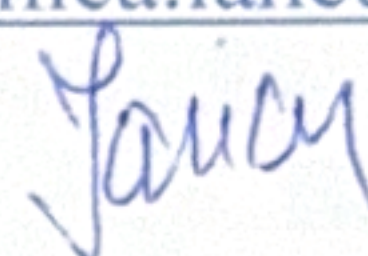
Conclusion. The dissertation work entitled "Development of Manufacturing Technology of an Inactivated Vaccine against Adenitis equorum for Intranasal Use" represents a completed and original scientific study. The stated objectives have been fully achieved, and the conclusions and practical recommendations are based on comprehensive experimental research.

Considering that the dissertation meets the established requirements for doctoral theses in terms of relevance, scientific novelty, methodological rigor, and practical significance, I consider Ussenova Zhanerke Muratovna worthy of being awarded the degree of Doctor of Philosophy (PhD) in Veterinary Medicine within the educational program 8D09101.

Foreign consultant:

University of Life Sciences "King Mihai I" from Timișoara
Faculty of Veterinary Medicine
Department of Infectious Disease

Assoc. Prof. Dr. Ionica Iancu, PhD
E-mail: ionica.iancu@usvt.ro



Certified by :

University of Life Sciences "King Mihai I" from Timișoara
Faculty of Veterinary Medicine
Prof. Univ. Dr Morariu Sorin



Усенова Жанерке Муратовнанын
8D09101 - «Ветеринариялық медицина» білім беру бағдарламасы
бойынша философия докторы (Ph.D) дәрежесін алу үшін ұсынған
«Жылқы танауына қолданатын сақауға қарсы инактивтелген
вакцина дайындау технологиясы» тақырыбында дайындалған
диссертациялық жұмысына

ҒЫЛЫМИ ЖЕТЕКШІНІҢ ПІКІРІ

Орындалған жұмыстың өзектілігін, оның қазіргі ғылым мен тәжірибе үшін маңыздылығын негіздеу.

Қазіргі таңда жылқы малы спорттық іс-шарадан бастап, агромәдениет пен әскери салаларға дейінгі адам қызметінің әртүрлі аспектілерінде шешуші рөл атқарады. Алайда олардың маңыздылығына қарамастан, жылқыларға жұқпалы аурулар қатты қауіп төндіреді. Бұндай аурулардың таралуы жылқы малының үлкен шығынына алып келеді. Жылқы сақауы және вирусты респираторлық инфекция тағы да басқа мұндай аурулар тек санаулы жылқы басына қауіп тудырып қана қоймай барлық үйірге зиянын тигізеді.

Жылқыларда инфекциялық аурулардың тез таралуына олардың елдер мен континенттердің шекараларын жиі кесіп өтетіні ықпал етеді. Жылқы шаруашылығын дамыту арқылы ауыл шаруашылық өнімдерін молайту мақсатына қысқа уақыт ішінде қол жеткізуге болады.

Жылқының сақау індеті жасырын түрде өтетіндіктен, оны ерте анықтаудың тиімді әдістерін табу өзекті мәселе болып табылады. Осыған байланысты серологиялық зерттеу әдістерін қолдану арқылы ауруды малдың тірі кезінде дәл анықтап, экспортқа немесе импортқа шығарылатын мал басының саулығына кепілдік беруге мүмкіндік туады. Сонымен қатар, бұл тәсілдер арнайы алдын алу шараларын дер кезінде ұйымдастыруға жол ашады. Сондықтан диссертациялық тақырып өзекті мәселеге арналған және отандық ветеринария саласы үшін маңызды деп есептеймін.

Докторант сүйенетін негізгі ғылыми және әдіснамалық ережелерді ашу.

Клиникалық-зертханалық тәжірибе жұмыстары сақау ауруына шалдыққан жылқыларға жүргізілді. Жылқы сақауының *Streptococcus equi* қоздырғышын бөліп алу үшін жұқтырған жануарлардан мұрын-жұтқыншақ жағындылары мен ірінді жаралардың үлгілерін жинадық.

Кейіннен *Streptococcus equi* штаммын қатты және сұйық қоректік ортада бөліп алдық. Зерттеу аясында *Streptococcus equi* арқылы құлындардың жарылмаған, ауытқып тұратын лимфа түйіндерінен алынған ірінді экссудаттардың өсінділерін қамтитын бактериологиялық зерттеулер жүргізілді. Бөлініп алынған *Streptococcus equi* өсінділері зертханалық тексеруден өтті.

Изоляттардың морфологиялық және мәдени сипаттамалары оларды 10% қан агарымен қосылған ет-пептонды сорпаға (МПБ), сондай-ақ 1% глюкоза және 10% сарысу қосылған ет-пептонды агарға (МПА) жағу арқылы зерттелді. Ірінді экссудаттан алынған жағындылар бекітіліп, Грам әдісі бойынша боялды. Изоляттардың биохимиялық сипаттамалары оларды 40% өт, 6,5% тұзды МРА, натрий азид агары және глюкоза, лактоза, маннитол, мальтоза, сахароза, сорбитол және дульцитол қосылған Гисс ортасымен МРВ-ға жағу арқылы зерттелді. Өсінді (культура) инкубаторда 37°C температурада 18 - 48 сағат бойы инкубацияланды.

Изоляттардың таксономиялық тиесілігі Берджидің бактерияларды анықтау жинағына, сондай-ақ сақау, стафилококкоз және стрептококкозды зертханалық диагностикалау бойынша нұсқауларға сәйкес анықталды.

Жартылай қатты агардан алынған стрептококк изоляттары триптонды соя сорпасына қайта өсіріліп, 37°C температурада 48 сағат бойы өсірілді.

Содан кейін олар қан агары пластиналарына және қатты қоректік ортаға қайта өсірілді. Ыдыстар 37°C температурада 24-72 сағат бойы инкубацияланды. Мәдени және морфологиялық сипаттамалары, сондай-ақ каталаза белсенділігінің болуы бағаланды және жағындылар дайындалды. Агар өсінділері агар пластинкаларына субкультураланды және 37°C температурада 24 сағат бойы инкубацияланды.

Докторант алған ғылыми нәтижелер және олардың негізділігі.

Зерттеудің мақсаты жергілікті штамдарды пайдаланып, жылқының сақау ауруына қарсы отандық өндірістегі вакцинаны әзірлеу болды.

Жылқының сақау ауруына қарсы отандық вакцинаны әзірлеу - малдың әл-ауқатын қамтамасыз етуге және жылқы шаруашылығындағы тұрақтылықты сақтауға бағытталған маңызды міндет. Жергілікті штамдарды пайдаланып вакциналарды сәтті әзірлеу үшін келесі қадамдарды орындадық:

1.Штаммды зерттеу.

Бұл кезең *Streptococcus equi* штамдарын жинауды және талдауды қамтыды. Бұл бізге вакцина жасау үшін ең патогенді және кең таралған жергілікті *Streptococcus equi* штамдарын анықтауға мүмкіндік берді.

2. Геномдық секвенирлеу.

Streptococcus equi штамының құрылымын және оның сипаттамаларын тереңірек түсіну үшін геномдық секвенирлеу жүргізілді.

3. Антигенді окшаулау.

Жылқыларда иммундық жауапты тудыратын *Streptococcus equi* штаммының ақуыз антигендерін зерттеу.

4. Жылқының сақау ауруына қарсы вакцинаны әзірлеу.

Бөлініп алынған антигендер негізінде жылқы сақауына қарсы отандық өндірісте өндірілген профилактикалық препарат жасалды.

Вакцинаны дайындау үшін Қазақстан Республикасы Ауыл шаруашылығы министрлігінің «Ұлттық ветеринариялық анықтамалық орталығында» және «Ұлттық депонирленген микроорганизм

штамдарының жинағы» зертханасында сақталған *Streptococcus equi* "Қарғалы-22" штаммы пайдаланылды.

Жануарларға сынақтар: Вакцинаның иммуногенділігі мен қауіпсіздігін бағалау үшін зертханалық жануарларға да, жылқыларға да клиникалық сынақтар жүргізілді.

Диссертацияның құрылымдық және мазмұндық тұтастығы.

Ж.М.Усенованың орындаған диссертациялық жұмысының құрылымы және зерттелген тақырыбы бірегей, тәжірибелік және теориялық маңызы бар. Тақырыптың негізгі аспектілері қойылған мақсат пен міндеттер аясында топтастырылған. Диссертациялық жұмыстың әр бөлімі, жалпы құрылымы және ішкі мазмұны қарастырылып отырған мәселені толық сипаттап, одан тиісті қорытынды шығаруға бағытталған. Ғылыми зерттеу материалдары толық негізделіп, талдаудан өткізілген және цифрлық деректер вариационды-статистикалық өңдеуден өткізілген. Докторант зерттеліп отырған тақырып аясында кең ауқымды мәселелерді қарастырған. Ол тұжырымдаған қағидалар мен ғылыми нәтижелері жылқының сақау ауруын емдеу және алдын алуға бағытталған шараларды жетілдіруде пайдаланылуы мүмкін.

Докторанттың зерттеуші ретіндегі сапасы, ғылыми зерттеу әдістерінен алған тәжірибесі.

Докторант Ж.М.Усенова диссертациялық жұмысты орындау кезінде, өзінің ғылымға деген қызығушылығын танытып, эксперименталдық зерттеу жұмыстарында заманауи әдістемелер мен құрал-жабдықтарды пайдаланып, өзінің алғыр екенін таныта білді. Теориялық және тәжірибелік білімін өндірістік зерттеулерде кеңінен пайдаланып, болашақ ғалым ретінде қалыптасқанын көрсетті.

Алынған нәтижелер Scopus халықаралық дерекқорына кіретін рецензияланатын ғылыми журналында – 1 мақала, ҚР ҒжЖБ Министрлігінің Ғылым және жоғары білім саласындағы сапаны қамтамасыз ету комитеті ғылыми зерттеулердің негізгі нәтижелерін жариялауға ұсынған отандық жарияланымдарда 1 мақала, 1 пайдалы модельге алынған патент, 1 халықаралық ғылыми конференция жинақтарындағы ғылыми жұмыстармен расталған.

Қорытынды

Докторанттың «Жылқы танауына қолданатын сақауға қарсы вакцина дайындау технологиясы» орындаған диссертациялық жұмысы толық аяқталған ғылыми еңбек деп есептеуге болады. Қойылған мақсат пен міндеттер толығымен орындалған. Қорытындылар мен ұсыныстар диссертанттың өзіндік зерттеу жұмыстары негізінде жасалынған.

Жоғарыда айтылғандарды қорытындылай келе, орындалған жұмысының көлемі, өзектілігі, жаңалығы, тәжірибелік құндылығы және зерттеу бағыты жағынан докторлық диссертацияларға қойылатын талаптарға сай келетіндігін ескере отырып, докторант Усенова Жанерке Муратовнаны 8D09101 - «Ветеринариялық медицина» білім беру

бағдарламасы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алуға лайық
деп есептеймін.