

**Кайсарова Улболсын Жангазиевнаның 8D09101 – «Ветеринариялық медицина» білім беру бағдарламасы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алуға ұсынған «Ірі қара мал лейкозының алдын алу жүйесін эпизоотологиялық және молекулалық-генетикалық зерттеулер негізінде жетілдіру» тақырыбында орындалған диссертациялық жұмысына**

## **АНДАТПА**

**Зерттеу тақырыбының өзектілігі.** Ірі қара мал лейкозы - BLV вирусы қоздыратын созылмалы инфекция, ол дүниежүзілік мал шаруашылығына елеулі экономикалық зиян келтіреді. Инфекцияның эндемиялық сипаты, өмір бойы вирустасымдылық, вирустың иммуносупрессивті әсері және емдеудің және вакцинацияның нақты құралдарының болмауы аурумен күресудің күрделілігін айқындайды. Диагностиканың серологиялық әдістерге негізделген дәстүрлі тәсілдері инфекцияны ерте кезеңдерінде анықтауға және әрбір жұқтырған малдың эпизоотиялық қауіптілігін бағалауға әрдайым мүмкіндік бермейді. Мал шаруашылығы стратегиялық сала болып табылатын және лейкоз айқын аймақтық әртектілігімен (әртүрлі облыстарда серопреваленттілік 1%-дан 17%-ға дейін) эндемиялық сипатқа ие Қазақстан үшін тиімді аймақтық бақылау бағдарламаларын әзірлеу өте маңызды. Бұл ретте қолданыстағы алдын алу және табындарды сауықтыру бағдарламалары жануарлардың BLV-на төзімділігінің генетикалық маркерлері және провирустық жүктеменің сандық көрсеткіштері сияқты маңызды параметрлерді ескермейді, бұл олардың тиімділігін шектейді. Осыған байланысты эпизоотологиялық мониторингті, BLV-ті ерте анықтауға арналған әзірленген және оңтайландырылған сапалық нақты уақыттағы ПТР тест-жүйесін қолдануды, провирустық жүктемені (PVL) бағалау үшін сандық ПТР-ді қолдануды, сондай-ақ асылдандыру-тұқымдық жұмыста пайдалану үшін ірі қара малдың BLV-ге төзімділігінің генетикалық маркерлерін анықтауды қамтитын кешенді тәсіл негізінде профилактика жүйесін жетілдіру ерекше өзектілікке ие.

**Диссертациялық зерттеудің мақсаты.** Эпизоотологиялық және молекулалық-генетикалық зерттеулер негізінде ірі қара мал лейкозының алдын алу жүйесін жетілдіру.

### **Зерттеу міндеттері:**

1. Батыс Қазақстан облысындағы ірі қара мал лейкозына эпизоотологиялық сипаттама беру.
2. Ірі қара мал лейкозын диагностикалауға арналған ПТР тест-жүйесінің компоненттік құрамын әзірлеу және оңтайландыру.
3. Лейкоз вирусымен жұқтырылған ірі қара малдың гематологиялық және цитологиялық көрсеткіштерін зерттеу және олардың диагностикалық маңызын сипаттау.

4. Ірі қара малдағы *BoLA-DRB3.2* және *iNOS/NOS2* гендерінің полиморфизмін зерттеу және олардың BLV-ның төзімділікпен байланысын анықтау.

5. Лейкоз вирусының провирустық жүктемесін бағалау және оның гематологиялық, диагностикалық көрсеткіштермен және генетикалық маркерлермен өзара байланысын зерттеу.

6. Ірі қара мал лейкозының алдын алу жүйесін жетілдіру бойынша ұсыныстар әзірлеу.

**Зерттеу әдістері.** Зерттеу «Жәңгір хан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университеті» КеАҚ Сынақ орталығының «Биотехнология және жұқпалы аурулар диагностикасы» зертханасында, «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС індеттік ауруларды балау зертханасында, сондай-ақ ФМҒБМ Орал ФАНИЦ Орал бөлімшесінің «Орал ғылыми-зерттеу ветеринарлық институты» жұқпалы ауруларды бақылау және болжау бөлімінің лейкоз зертханасында орындалды. Зерттеу объектісі – Батыс Қазақстан облысы шаруашылықтарындағы сүтті және етті бағыттағы ірі қара мал. Зерттеу нысаны - ірі қара мал лейкозының эпизоотологиялық және биологиялық ерекшеліктері, соның ішінде лейкоз вирусының провирустық жүктемесі және төзімділіктің генетикалық маркерлері.

Жұмыста әдістер кешені қолданылды: эпизоотологиялық талдау (ретроспективті, кеңістіктік-уақыттық, ең төменгі іріктеме көлемін есептеу), серологиялық (ИДР, ИФТ), гематологиялық (қанның формалдық элементтерін автоматты анализаторда есептеу, ЕС Кеу және JB Кеу кілттері бойынша лейкоцитарлық формуланы анықтау), цитологиялық (Романовский-Гимза бойынша боялған қан жағындыларын микроскопиялау), молекулалық-генетикалық (ДНҚ/РНҚ бөліп алу, BLV сапалық және сандық анықтауға арналған нақты уақыттағы ПТР, *BoLA-DRB3.2* және *iNOS/NOS2* гендерін генотиптеуге арналған ПТР-РФҰП, Сэнгер бойынша секвенирлеу) және статистикалық (орташа шамаларды, сенімділік интервалдарын есептеу, Пирсонның  $\chi^2$  критерийі, Фишердің нақты критерийі, Коэннің каппа коэффициенті, OR қатынасы).

#### **Қорғауға ұсынылатын негізгі ережелер:**

1. Батыс Қазақстан облысында ірі қара мал лейкозы бойынша эпизоотологиялық жағдай аурудың тұрақты қолайсыздығымен және оның таралуының аймақтық-шаруашылық тұрғыдан айқын әркелкілігімен сипатталады, бұл ауруды диагностикалау, мониторинг жүргізу және алдын алу шараларында кешенді тәсілді қолдану қажеттілігін негіздейді.

2. Ірі қара мал лейкозын диагностикалауға арналған ПТР-тест-жүйесінің әзірленген және оңтайландырылған компоненттік құрамы жоғары аналитикалық сезімталдық пен ерекшелікті қамтамасыз етеді.

3. Лейкоз вирусымен жұқтырылған ірі қара малдағы гематологиялық және цитологиялық өзгерістер заңды сипатқа ие және инфекциялық үдерістің сатысы мен белсенділігін бағалаудың қосымша критерийлері ретінде диагностикалық маңыздылыққа ие.

4. *BoLA-DRB3.2* және *iNOS/NOS2* гендерінің полиморфизмі ірі қара малдың лейкоз вирусына төзімділігімен және бейімділігімен байланысты, бұл аталған гендердің жеке аллельдік нұсқаларын төзімділіктің генетикалық маркерлері ретінде қарастыруға мүмкіндік береді.

5. Ірі қара мал лейкоз вирусының провирустық жүктемесі гематологиялық ықпалкерлермен, диагностикалық зерттеулер нәтижелерімен және төзімділіктің генетикалық маркерлерімен нақты корреляцияланады, бұл инфекциялық үдерістің белсенділігі мен эпизоотиялық қауіпті бағалау кезінде оның интегралды диагностикалық және болжамдық критерий ретінде ақпараттылығын растайды.

6. Эпизоотологиялық, гематологиялық, молекулалық-генетикалық көрсеткіштер мен провирустық жүктемені кешенді бағалау негізінде ірі қара малды лейкоздан алдын алу жүйесін жетілдіру бойынша ұсынымдар әзірленді.

#### **Зерттеудің негізгі нәтижелерінің сипаттамасы.**

Ретроспективті талдау нәтижесінде Батыс Қазақстан облысындағы эпизоотиялық жағдайдың серопозитивтіліктің орташа көпжылдық деңгейі 5,3% және айқын аумақтық әртүрлілігімен (<0,1%-дан 11,4%-ға дейін) орнықты түрде қолайсыздықпен сипатталатыны анықталды.

BLV-ті ерте анықтауға арналған, әсіресе «серологиялық терезе» кезеңінде төлдің инфекциясын диагностикалау үшін өзекті, жоғары сезімталдығы (анықтау шегі  $\leq 10$  көшірме/реакция) және ерекшелігі (95,5%) бар нақты уақыттағы ПТР тест-жүйесінің компоненттік құрамы әзірленіп, оңтайландырылды.

Модификацияланған JB Key гематологиялық кілті стандартты ЕС Key кілтімен салыстырғанда субклиникалық лимфоцитозды анықтауда жоғары сезімталдыққа ие екені көрсетілді. Цитологиялық белгілер (ядроның тегіс емес контуры, хроматиннің кесектілігі, нуклеолдардың болуы) BLV-инфекциясына жоғары ерекшелікпен тән.

Батыс Қазақстан облысының ірі қара мал популяциясы үшін алғаш рет *BoLA-DRB3.2* (сезімталдықпен байланысты: \*8, \*16, \*22, \*24; төзімділікпен байланысты: \*23) және *iNOS/NOS2* (протективті AA генотипі) гендерінің аллельдері идентификацияланды, бұл маркер-бағытталған селекцияның негізі болып табылады.

Провирустық жүктеме деңгейі мен лимфоцитоз дәрежесі арасында тікелей нақты корреляция анықталды. Генетикалық маркерлердің функционалдық маңыздылығы расталды: *iNOS-HinfI<sup>AA</sup>* протективті генотипінің тасымалдаушылары провирустық жүктеменің ең төменгі деңгейімен сипатталады. Секвенирлеу әдісі өте жоғары провирустық жүктеумен ықтимал байланысты *BoLA-DRB3.2* аллельдерін (сонымен қатар \*027:03) анықтауға мүмкіндік берді.

Алынған мәліметтер негізінде алдын алу жүйесін жетілдіру бойынша ұсынымдар әзірленді, ол қауіп-бағдарлы серологиялық мониторингке көшуді, әзірленген нақты уақыттағы ПТР тест-жүйесін қолдануды, эпизоотиялық үдерісті бақылау үшін провирустық жүктемені сандық бағалауды

пайдалануды, сондай-ақ селекциялық-асылдандыру жұмысына мал басының генетикалық төзімділігін арттыру үшін *BoLA-DRB3.2* және *iNOS/NOS2* гендерінің маркер-ассоциацияланған бағалауын енгізуді қамтиды.

**Алынған нәтижелердің жаңалығы мен маңыздылығының негіздемесі.** Батыс Қазақстан облысы жағдайында алғаш рет ірі қара мал лейкозына эпизоотологиялық, гематологиялық және молекулалық-генетикалық әдістерді қолдана отырып кешенді бағалау жүргізілді. BLV диагностикасына арналған отандық ПТР-тест-жүйесі әзірленіп, оңтайландырылды. Өңірдегі ірі қара малда *BoLA-DRB3.2* және *iNOS/NOS2* гендері полиморфизмінің лейкоз вирусына төзімділікпен байланысы алғаш рет анықталды. Инфекциялық үдеріс белсенділігінің интегралды критерийі ретінде провирустық жүктеменің диагностикалық және болжамдық маңыздылығы дәлелденді. Нәтижелердің практикалық маңыздылығы аурудың таралуын азайтуға және экономикалық зиянды барынша азайтуға бағытталған ұсынымдармен расталады.

«Ірі қара мал лейкоз вирусын анықтауға арналған олигонуклеотидті праймерлер мен флуоресцентті зонд жиынтығы» пайдалы моделіне патент алынды (№ 11842, 27.02.2026).

**Ғылымның даму бағыттарына немесе мемлекеттік бағдарламаларға сәйкестігі.** Диссертациялық жұмыс Қазақстан Республикасының агроөнеркәсіптік кешенін дамытудың 2021–2030 жылдарға арналған тұжырымдамасында белгіленген басым бағыттарына, атап айтқанда ветеринариялық-санитариялық қауіпсіздікті қамтамасыз ету және мал шаруашылығы өнімдерінің экспорттық әлеуетін арттыру бөлігіне сәйкес орындалды. Зерттеу ірі қара мал лейкозы кезіндегі эпизоотияға қарсы іс-шаралар жүйесін жетілдіруге бағытталған.

Ғылыми зерттеулер докторант орындаушы болған ҚР ҒЖБМ ғылыми жобалары – AP08052983 «Голштин тұқымды ірі қара малда туа біткен иммунитет гендерінің полиморфизмдері бойынша бактериялық инфекцияларға резистенттілік/сезімталдылық бағалау жүйесін әзірлеу» (2020-2022 жж.) және AP19678641 «Лейкозға төзімділікпен байланысты *BoLA-DRB3* генінің полиморфизмін бағалау арқылы маркер-бағытталған селекцияға ғылыми негізделген тәсілдерді әзірлеу» (2023-2025 жж.) жобалары шеңберінде алынған нәтижелері ескеріле отырып жүргізілді. Осы жобалар барысында алынған нәтижелер төзімділіктің генетикалық маркерлерін зерттеу негізінде ірі қара мал лейкозымен күресу шараларын жетілдіруге бағытталған кейінгі зерттеулер үшін ғылыми база ретінде қолданылды.

**Докторанттың әрбір жарияланымды дайындауға қосқан үлесінің сипаттамасы.** Докторант диссертациялық зерттеудің барлық кезеңдеріне, оның ішінде ғылыми тұжырымдаманы қалыптастыруға, зертханалық эксперименттерді жоспарлау мен жүргізуге, деректерді жинау мен талдауға, нәтижелерді статистикалық өңдеуге, алынған мәліметтерді интерпретациялауға, сондай-ақ ғылыми жарияланымдарды дайындау мен рәсімдеуге тікелей қатысты.

Диссертация тақырыбы бойынша жарияланған барлық жұмыстарда докторанттың үлесі негізгі болып табылады.

Диссертация тақырыбы бойынша 21 ғылыми жұмыс жарияланды, оның ішінде: ҚР ҒЖБМ Ғылым және жоғары білім саласындағы сапаны қамтамасыз ету комитеті ұсынған басылымдарда 5 мақала, импакт-факторы нөлден жоғары рецензияланатын ғылыми басылымдарда 2 мақала, RSCI тізіміне енгізілген ғылыми басылымдарда 1 мақала, Қазақстан Республикасы мен ТМД елдерінің ғылыми басылымдарында 1 мақала, халықаралық конференциялар материалдарында 8 мақала, 3 әдістемелік ұсыным жарияланды, 1 пайдалы модельге патент алынды (№ 11842, 27.02.2026).

**Диссертацияның көлемі мен құрылымы.** Диссертация 125 беттен, қосымшаларымен есептегенде -146 бетте компьютерлік мәтінде баяндалған және кіріспеден, әдебиетке шолудан, зерттеу материалдары мен әдістерінен, өзіндік зерттеу нәтижелерінен, қорытындыдан, пайдаланылған әдебиеттер тізімінен және 6 қосымшалардан тұрады. Жұмыста 8 формула, 24 кесте мен 24 сурет берілген. Пайдаланылған әдебиеттер тізімі 279 атаудан тұрады.