

АННОТАЦИЯ

диссертационной работы Кайсаровой Улболсын Жангазиевны на тему «Усовершенствование системы профилактики лейкоза крупного рогатого скота на основе эпизоотологических и молекулярно-генетических исследований», представленной на соискание степени доктора философии (PhD) по образовательной программе 8D09101 – «Ветеринарная медицина»

Актуальность темы исследования. Лейкоз крупного рогатого скота, вызываемый вирусом BLV, является хронической инфекцией, наносящей значительный экономический ущерб животноводству во всем мире. Эндемичный характер инфекции, пожизненное вирусоносительство, иммуносупрессивное действие вируса и отсутствие специфических средств лечения и вакцинопрофилактики определяют сложность борьбы с заболеванием. Традиционные подходы к диагностике, основанные на серологических методах, не всегда позволяют выявить инфекцию на ранних стадиях и оценить эпизоотическую опасность каждого инфицированного животного. Для Казахстана, где скотоводство является стратегической отраслью, а лейкоз имеет эндемический характер с выраженной региональной неоднородностью (менее 1% до 17% серопревалентности в разных областях), разработка эффективных региональных программ контроля имеет критическое значение. При этом действующие программы профилактики и оздоровления стад не учитывают такие важные параметры, как генетические маркеры устойчивости животных к BLV и количественные показатели провирусной нагрузки, что ограничивает их эффективность. В этой связи особую актуальность приобретает совершенствование системы профилактики на основе комплексного подхода, включающего эпизоотологический мониторинг, применение разработанной и оптимизированной качественной ПЦР-РВ тест-системы для раннего выявления BLV, применение количественной ПЦР для оценки провирусной нагрузки (PVL), а также выявление генетических маркеров устойчивости крупного рогатого скота к BLV для использования в селекционно-племенной работе.

Цель диссертационного исследования. Усовершенствование системы профилактики лейкоза крупного рогатого скота на основе эпизоотологических и молекулярно-генетических исследований.

Задачи исследования:

1. Дать эпизоотологическую характеристику лейкоза крупного рогатого скота в Западно-Казахстанской области.
2. Разработать и оптимизировать компонентный состав ПЦР-тест-системы для диагностики лейкоза крупного рогатого скота.
3. Изучить гематологические и цитологические показатели крупного рогатого скота, инфицированного вирусом лейкоза, и охарактеризовать их диагностическое значение.

4. Изучить полиморфизм генов *BoLA-DRB3.2* и *iNOS/NOS2* у крупного рогатого скота и определить их ассоциацию с устойчивостью к вирусу лейкоза.

5. Оценить провирусную нагрузку вируса лейкоза крупного рогатого скота и изучить ее взаимосвязь с гематологическими, диагностическими показателями и генетическими маркерами устойчивости.

6. Разработать рекомендации по усовершенствованию системы профилактики лейкоза крупного рогатого скота.

Методы исследования. Исследование выполнено на базе лаборатории «Биотехнологии и диагностики инфекционных болезней» Испытательного центра НАО «Западно-Казахстанского аграрно-технического университета имени Жангир хана», лаборатории диагностики инфекционных заболеваний ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», а также в лаборатории лейкоза отдела мониторинга и прогнозирования инфекционных болезней структурного подразделения ФГБНУ УрФАНИЦ УрО РАН «Уральский научно-исследовательский ветеринарный институт». Объект исследований – крупный рогатый скот молочного и мясного направлений продуктивности из хозяйств Западно-Казахстанской области. Предмет исследований – эпизоотологические и биологические особенности лейкоза крупного рогатого скота, включая провирусную нагрузку вируса лейкоза и генетические маркеры устойчивости.

В работе использован комплекс методов: эпизоотологический анализ (ретроспективный, пространственно-временной, расчет минимального объема выборки), серологические (РИД, ИФА), гематологические (подсчет форменных элементов крови на автоматическом анализаторе с расчетом лейкоцитарной формулы по ключам ЕС Key и JB Key), цитологические (микроскопия мазков крови, окрашенных по Романовскому-Гимза), молекулярно-генетические (выделение ДНК/РНК, ПЦР в реальном времени для качественной и количественной детекции BLV, ПЦР-ПДРФ для генотипирования генов *BoLA-DRB3.2* и *iNOS/NOS2*, секвенирование по Сэнгеру) и статистические (расчет средних величин, доверительных интервалов, критерий χ^2 Пирсона, точный критерий Фишера, коэффициент каппа Козна, отношение шансов OR).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Эпизоотологическая ситуация по лейкозу крупного рогатого скота в Западно-Казахстанской области характеризуется устойчивым неблагоприятием и выраженной территориально-хозяйственной неоднородностью распространения заболевания, что обосновывает необходимость применения комплексного подхода к диагностике, мониторингу и профилактике болезни.

2. Разработанный и оптимизированный компонентный состав ПЦР-тест-системы для диагностики лейкоза крупного рогатого скота обеспечивает высокую аналитическую чувствительность и специфичность.

3. Гематологические и цитологические изменения у крупного рогатого скота, инфицированного вирусом лейкоза, носят закономерный характер и обладают диагностической значимостью в качестве дополнительных критериев оценки стадии и активности инфекционного процесса.

4. Полиморфизм генов *BoLA-DRB3.2* и *iNOS/NOS2* ассоциирован с устойчивостью и восприимчивостью крупного рогатого скота к вирусу лейкоза, что позволяет рассматривать отдельные аллельные варианты указанных генов в качестве генетических маркеров устойчивости.

5. Провирусная нагрузка вируса лейкоза крупного рогатого скота достоверно коррелирует с гематологическими показателями, результатами диагностических исследований и генетическими маркерами устойчивости, что подтверждает ее информативность как интегрального диагностического и прогностического критерия при оценке активности инфекционного процесса и эпизоотического риска.

6. На основе комплексной оценки эпизоотологических, гематологических, молекулярно-генетических показателей и провирусной нагрузки разработаны рекомендации по усовершенствованию системы профилактики крупного рогатого скота от лейкоза.

Описание основных результатов исследования. В результате ретроспективного анализа установлено, что эпизоотическая ситуация в Западно-Казахстанской области характеризуется устойчивым неблагополучием со средним многолетним уровнем серопозитивности 5,3% и выраженной территориальной неоднородностью (от <0,1% до 11,4%).

Разработан и оптимизирован компонентный состав высокочувствительной (предел детекции ≤ 10 копий/реакция) и специфичной (95,5%) ПЦР-РВ тест-системы для раннего выявления BLV, особенно актуальной для диагностики инфекции у молодняка в период «серологического окна».

Показано, что модифицированный гематологический ключ JB Key обладает более высокой чувствительностью в выявлении субклинического лимфоцитоза по сравнению со стандартным ключом EC Key. Цитологические признаки (неровный контур ядра, глыбчатость хроматина, наличие нуклеол) являются высокоспецифичными для BLV-инфекции.

Впервые для популяции крупного рогатого скота Западно-Казахстанской области идентифицированы аллели генов *BoLA-DRB3.2* (ассоциированные с восприимчивостью: *8, *16, *22, *24; с устойчивостью: *23) и *iNOS/NOS2* (протективный генотип AA), что является основой для маркер-ориентированной селекции.

Установлена прямая достоверная корреляция между уровнем провирусной нагрузки и степенью лимфоцитоза. Подтверждена функциональная значимость генетических маркеров: носители протективного генотипа *iNOS-HinfI^{AA}* характеризуются минимальным уровнем PVL. Метод секвенирования позволил выявить аллели *BoLA-DRB3.2* (в том числе *027:03), потенциально ассоциированные с экстремально высокой провирусной нагрузкой.

На основе полученных данных разработаны рекомендации по усовершенствованию системы профилактики, включающий переход к риск-ориентированному серологическому мониторингу, применению разработанной ПЦР-РВ тест-системы, использованию количественной оценки провирусной нагрузки для контроля эпизоотического процесса, а также внедрению в селекционно-племенную работу маркер-ассоциированной оценки генов *BoLA-DRB3.2* и *iNOS/NOS2* для повышения генетической устойчивости поголовья.

Обоснование новизны и важности полученных результатов. Научная новизна работы заключается в том, что впервые в условиях Западно-Казахстанской области проведена комплексная оценка лейкоза крупного рогатого скота с использованием эпизоотологических, гематологических и молекулярно-генетических методов. Разработана и оптимизирована отечественная ПЦР-тест-система для диагностики BLV. Впервые установлена ассоциация полиморфизма генов *BoLA-DRB3.2* и *iNOS/NOS2* с устойчивостью к вирусу лейкоза у крупного рогатого скота в регионе. Доказана диагностическая и прогностическая значимость провирусной нагрузки как интегрального критерия активности инфекционного процесса. Практическая важность результатов подтверждается разработанными рекомендациями, направленными на снижение распространенности заболевания и минимизацию экономического ущерба.

Получен патент на полезную модель «Набор олигонуклеотидных праймеров и флуоресцентного зонда для выявления вируса лейкоза крупного рогатого скота» (№11842 от 27.02.2026).

Соответствие направлениям развития науки или государственным программам. Диссертационная работа выполнена в соответствии с приоритетными направлениями развития агропромышленного комплекса Республики Казахстан, обозначенными в Концепции развития АПК на 2021–2030 годы, в части обеспечения ветеринарно-санитарной безопасности и повышения экспортного потенциала животноводческой продукции. Исследование направлено на совершенствование системы противозпизоотических мероприятий при лейкозе крупного рогатого скота.

Научные исследования проводились с учетом результатов, полученных в рамках выполнения научных проектов МНВО РК, ГФ AP08052983 «Разработка системы оценки резистентности/восприимчивости к бактериальным инфекциям по полиморфизмам генов врожденного иммунитета у крупного рогатого скота голштинской породы» 2020-2022 гг.), а также AP19678641 «Оценка полиморфизма гена *BoLA-DRB3*, ассоциированного с устойчивостью к лейкозу, для разработки научно-обоснованных подходов к маркер-ориентированной селекции крупного рогатого скота» (2023-2025 гг.), где докторант являлась исполнителем. Полученные в ходе данных проектов результаты послужили научным заделом для дальнейших исследований, направленных на совершенствование мер борьбы с лейкозом крупного рогатого скота на основе изучения

генетических маркеров устойчивости.

Описание вклада докторанта в подготовку каждой публикации. Докторант принимала непосредственное участие во всех этапах диссертационного исследования, включая формирование научной концепции, планирование и проведение лабораторных экспериментов, сбор и анализ данных, статистическую обработку результатов, интерпретацию полученных данных, а также подготовку и оформление научных публикаций.

Во всех опубликованных работах по теме диссертации вклад докторанта является основным.

Опубликовано по теме диссертации 21 научная работа, из них: 5 статей в изданиях, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования МНВО РК, 2 статьи в рецензируемых научных изданиях с ненулевым импакт-фактором, 1 статья в научных изданиях, включенных в перечень RSCI, 1 статья в научных изданиях Республики Казахстан и стран СНГ, 8 статей в материалах международных конференций, 3 методических рекомендаций, получен 1 патент на полезную модель №11842 от 27.02.2026.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 125 страницах, с приложениями – на 146 страницах компьютерного текста, и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследований, результатов собственных исследований, заключения, списка использованных источников и 6 приложений. Работа содержит 8 формул, 24 таблицы и 24 рисунка. Список использованных источников включает 279 наименований.