

АННОТАЦИЯ

**Садуакасова Меруерт Акберовнаның диссертациялық жұмысы
«Қазақстан Республикасына қауіпі бар Орталық Азия елдерінің
аумағында айналымдағы аусыл вирусының топотипін индикациялау
және идентификациялау үшін геномдық тест-жүйелерін әзірлеу»
тақырыбында философия докторы (PhD) дәрежесіне ұсынылған
6D120100 – «Ветеринария» мамандығы бойынша**

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. Мал шаруашылығы азық-түлік қауіпсіздігін қамтамасыз етуде, экспорттық әлеуетті дамытуда және ауылдық жерлердегі тұрақтылықты қамтамасыз етуде стратегиялық рөл атқаратын Қазақстан агроөнеркәсіп кешенінің негізгі саласы болып табылады. 2024 жылы сою салмағы бойынша ет өндірісі өткен жылмен салыстырғанда 4,3 пайызға артып, 1,2 миллион тоннаны құрады. Өңделген ірі қара мен ұсақ мал етінің көлемі 17%-ға өсіп, 270 мың тоннаны құрады. 2025 жылдың бірінші тоқсанында Қазақстаннан сиыр және қой етінің экспорты 2024 жылдың сәйкес кезеңімен салыстырғанда екі есе өсті. Негізгі экспорттық бағыттар Өзбекстан, Біріккен Араб Әмірліктері және Иран болды, бұл отандық ет өнімдерінің сыртқы нарықтардағы бәсекеге қабілеттілігінің артып келе жатқанын көрсетті.

Алайда, эпизоотиялық қауіпсіздікті қамтамасыз етпейінше саланың одан әрі тұрақты дамуы, әсіресе, аса қауіпті трансшекаралық инфекцияларға, соның ішінде аусылға қатысты мүмкін емес. Бұл аурудың бір рет өршуінің өзі айтарлықтай экономикалық шығындарға, экспортты шектеуге, халықаралық серіктестер арасында ветеринариялық бақылауға деген сенімге нұқсан келтіруі мүмкін. Бұл мәселе әсіресе аусыл вирусының (ОҚВ) әртүрлі генетикалық тармақтары айналуын жалғастыратын Орталық Азия елдерін байланыстыратын қарқынды сауда, логистика және көші-қон жолдарының торабында орналасқан Қазақстан үшін өзекті болып отыр.

Айналымдағы FMDV штаммдарының генетикалық өзгергіштігі эпизоотологиялық мониторингті, молекулалық диагностиканы және тиімді вакцина штаммдарын таңдауды айтарлықтай қиындатады. Осы жағдайларда вирустың генетикалық нұсқаларын, әсіресе Қазақстанға көрші елдерден әкелінетіндерін жылдам анықтау және дәл анықтау үшін жоғары спецификалық және сезімтал әдістердің болуы өте маңызды.

Эпизоотиялық қауіпсіздікті қамтамасыз ету және аумақтың аусылдан таза күйін сақтау инфекцияны ерте анықтау және жедел диагностикалаудың заманауи тәсілдерін енгізуді талап етеді. Молекулярлық-генетикалық әдістерді қолдану, әсіресе геномдық нақты уақыттағы RT-PCR (RT-PCR) тест-жүйелерін әзірлеу және пайдалану аймақта аусылдың алдын алу, бақылау және жою стратегиясын жүзеге асырудың негізгі бағытына айналуға.

Аусыл вирусының серотиптері О, А және Азия1 Орталық Азия елдерінде, соның ішінде Қазақстанда таралады. Бұл серотиптердің қосалқы түрлері молекулалық дифференциация әдістерін қолдануды талап ететін маңызды интрасеротиптік генетикалық әртүрлілікті көрсетеді. VP1 аймағын секвенирлеу және одан кейінгі филогенетикалық талдау ең сенімді әдіс болып

кала береді. Дегенмен, облыстағы ветеринариялық зертханалардың көпшілігінде мұндай зерттеулерді жүйелі жүргізу үшін қажетті ресурстар, арнайы құрал-жабдықтар, биоинформатика инфрақұрылымы және білікті кадрлар жетіспейді.

Осы шақыруға жауап ретінде Азияда таралатын FMDV топотиптерін/тектерін анықтау және анықтау үшін жоғары спецификалық геномдық RT-PCR сынақ жүйелері сериясы әзірленді. O/ME-SA/PanAsia–PanAsia-2, O/ME-SA/Ind-2001, O/SEA/Mya-98, O/CATHAY, A/ASIA/Iran-05, A/ASIA/G-VII, Asia1/Sindh-08-VII, Asia1/Sindh-08-08/ASIVA6/ASIVA00-ға бағытталған сегіз сынақ жасалды және расталды.

Сынақ жүйелері әртүрлі типтегі оң үлгілердің үлкен жинағында (эпителий, ауыз-жұтқыншақ сұйықтығы, культура үстіңгі қабаты) тексерілді. Нәтижелер жоғары аналитикалық сезімталдықты (дәлдік 96,5%-дан астам) және ерекшелікті (100%) көрсетті, әр түрлі тектер арасында айқаспалы күшейтудің толық болмауы.

Осылайша, әзірленген геномдық тест-жүйелер эпизоотиялық мониторинг үшін қолжетімді құралдарды айтарлықтай кеңейтеді және ауыл ошақтарын анықтау және тарату кезінде жедел басқару шешімдерін қабылдауға мүмкіндік береді. Сонымен қатар, оларды қолдану Орталық Азиядағы профилактикалық шаралардың тиімділігін арттыру үшін маңызды болып табылатын қазіргі молекулалық эпизоотиялық көрініс негізінде вакцинация штаммдарын саналы түрде таңдауға мүмкіндік береді.

Жоғарыда аталған өзектілікті ескере отырып, бұл диссертацияның мақсаты Орталық Азия елдерінде айналымда жүрген және Қазақстан Республикасының эпизоотиялық қауіпсіздігіне қауіп төндіретін ауыл вирусының топотиптерін анықтау және анықтау үшін геномдық тест-жүйелерді әзірлеу болды. Осы мақсатқа сәйкес диссертация аясында келесі міндеттер анықталды:

- VP1 гендік тізбектерін талдау негізінде Азия елдерінде айналымда жүрген ауыл вирустарының молекулалық-генетикалық сипаттамаларын зерттеу;
- Ауыл вирусының жеке топотиптері мен генетикалық линияларына тән прототиптік изоляттарды және репрезентативті нуклеотидтер тізбегін таңдау;
- FMDV-ны топотиптер мен генетикалық сызықтар бойынша саралауға бағытталған RT-PCR-RV форматында күшейту үшін топотипке тән олигонуклеотидтерді (праймерлер мен флуоресцентті зондтарды) әзірлеу;
- Ауыл вирусын негізгі топотиптер бойынша анықтау және анықтау үшін нақты уақыт режимінде RT-PCR диагностикалық тест-жүйелерін оңтайландыру және валидациялау;
- Жасалған геномдық тест-жүйелердің сезімталдығы мен ерекшелігін, оның ішінде генетикалық сызықтар арасындағы кросс-реактивтілікті бағалау;

- Әзірленген геномдық тест-жүйелердің диагностикалық тиімділігін аусыл вирусын анықтау үшін қолданылатын әмбебап 3D rRT-ПТР тест жүйесімен салыстыру.

Зерттеу әдістері. Зерттеуде молекулярлық биология (RT-PCR, праймер және зонд дизайны), вирусология (эпителий үлгілерін, орофарингеальді сұйықтықты және культура үстемелерін оқшаулау және талдау), биоинформатика (көп реттілік, филогенетикалық талдау) және сынақ жүйесінің сезімталдығы мен ерекшелігінің салыстырмалы статистикалық талдауы пайдаланылды.

Алынған нәтижелердің жаңалығы мен маңыздылығын негіздеу

Диссертациялық жұмыстың ғылыми жаңалығы Орталық Азия елдерінде айналымда жүрген аусыл вирусының топотиптерін бір мезгілде индикациялауға және сәйкестендіруге арналған нақты уақыт режимінде полимеразды тізбекті реакциясы бар кері транскрипцияға негізделген диагностикалық тест-жүйелерінің кешенін жасауында (RT-PCR-RV, real time RT-PCR).

Серотипіне қарамастан аусыл вирусының РНҚ-сын көрсету үшін халықаралық тәжірибеде «алтын стандарт» ретінде қолданылатын кең таралған пан-серотипті 3D тестінен айырмашылығы, осы жұмыста әзірленген геномдық тест-жүйелері вирустың бар-жоғын растауды ғана емес, сонымен қатар эпизоотиялық және эпизоотиялық маңызды гендік линияларды типке спецификалық сәйкестендіруді қамтамасыз етеді. (O/ME-SA/PanAsia–PanAsia-2, O/ME-SA/Ind-2001, O/SEA/Mya-98, O/CATHAY, A/ASIA/Iran-05, A/ASIA/G-VII, A/ASIA/Sea-97, Asia-1/Sindh-08).

Сынақ жүйелері вирустың серотиптік ерекшелігін анықтай отырып, мақсат ретінде VP1 генінің жоғары айнымалы аймағын пайдаланып жобаланған. Бұл тәсіл штаммдар арасындағы айқаспалы күшейтуді болдырмай, жоғары сезімталдық пен ерекшелікті қамтамасыз етті. TaqMan талдау технологиясын қолдану анықтау дәлдігін арттырып, жалған-оң нәтижелерді жойды, бұл әзірленген сынақтарды күнделікті диагностика мен эпизоотиялық мониторингке жарамды етеді.

Әзірленген тест-жүйелер әмбебап 3D тестімен салыстырылды, бұл олардың вирустың типтік дифференциациясы бойынша жоғары рұқсатпен эквивалентті сезімталдығын растады.

Алынған нәтижелердің маңызды практикалық маңызы бар, өйткені олар инфекция көздерін жедел анықтауды, вирустың айналымдағы топотиптері мен генетикалық линияларын бақылауды, вакцина штаммдарын іріктеуді және соның нәтижесінде Қазақстан Республикасының аумағына аусылдың ену қаупіне қарсы профилактикалық іс-шаралардың тиімділігін арттыруды қамтамасыз етеді.

Практикалық маңыздылығы келесі ережелермен расталады:

Орталық және Оңтүстік-Шығыс Азия елдерінде айналымда жүрген аусыл вирусының штаммдарына молекулярлық-генетикалық және филогенетикалық талдау жүргізілді, бұл аймақтық бейімделген диагностикалық құралдарды құру қажеттілігін негіздеуге мүмкіндік берді.

Аусыл вирусының (O/ME-SA/PanAsia, Ind-2001, SEA-MCATHya, SEA) ең өзекті топотиптері мен генетикалық линияларын жылдам және дәл анықтауды және көрсетуді қамтамасыз ететін нақты уақыттағы полимеразды тізбекті реакциясы бар кері транскрипцияға негізделген геномдық тест-жүйелерінің жиынтығы әзірленді. A/ASIA/G-VII, A/ASIA/Iran-05, Азия-1 және т.б.).

Жасалған праймерлер мен зондтар жоғары диагностикалық спецификалықты қамтамасыз ете отырып, вирус тегі арасындағы антигендік және филогенетикалық айырмашылықтарды анықтайтын жоғары айнымалы VP1 аймағына бағытталған.

Салыстырмалы зерттеу жүргізілді. Әмбебап 3D rRT-ПТР тест жүйесімен әзірленген тест-жүйелерді валидациялау аусыл вирусын анықтау үшін «алтын стандарт» ретінде пайдаланылады, бұл алынған нәтижелердің жоғары диагностикалық тиімділігі мен сенімділігін растады.

Реагенттерді лиофилизациялау мүмкіндігі көрсетілді, бұл сынақ жүйелерінің белсенділігі мен тұрақтылығын сақтау және тасымалдау кезінде сақтауды қамтамасыз етеді. суық тізбек, сондай-ақ оларды далалық жағдайларда және ресурстары шектеулі зертханаларда қолдану.

Алынған нәтижелер аймақтағы өзгеретін эпизоотиялық жағдайды ескере отырып, вакцина штаммдарының құрамын жаңартуға және патогенді енгізу қаупі туындаған жағдайда алдын алу шараларын саналы түрде таңдауға мүмкіндік береді.

Жұмыстың теориялық маңыздылығы төмендегідей:

Нуклеотидтер тізбегін талдау негізінде аусыл вирусының топотиптерін саралау үшін VP1 гендік аймағында бірегей генетикалық нысандарды таңдау принциптері негізделді, бұл FMDV молекулалық құрылымы мен филогенетикалық әртүрлілігі туралы заманауи түсініктерді толықтырады.

Алынған деректер молекулярлық эпизоотология және аусыл вирусының эволюциясы саласындағы ғылыми білімдерді кеңейтеді, оның молекулалық типіне және оны бақылау тәсілдерін дамытуға ықпал етеді.

Алынған ғылыми нәтижелер бойынша Қазақстан Республикасы ұсынылған шешімдердің түпнұсқалығы мен практикалық құндылығын растайтын № 2025/0884.2 «Асыл вирусын диагностикалау әдісі» пайдалы модельге патент алды.

Ғылыми даму бағыттарына немесе мемлекеттік бағдарламаларға сәйкестігі Диссертация Қазақстан Республикасы Ауыл шаруашылығы министрлігінің мемлекеттік ғылыми бағдарламасы аясында (мемлекеттік тіркеу нөмірі 0115RK01952) және Біріккен Корольдіктің Қоршаған орта, азық-түлік және ауыл істері департаментінің халықаралық серіктестерінің (DEFRA, SE2943 және SE1129 Ғылыми Биотехнология және Биотехнологиялар Кеңесінің жобалары) қолдауымен және қаржыландыруымен аяқталды. (BBSRC, BB/E/I/00007017 жобасы).

Диссертациялық зерттеу тақырыбы Қазақстан Республикасының ветеринариялық қауіпсіздік саласындағы ұлттық басымдықтарымен, сондай-

ақ жануарлардың трансшекаралық ауруларымен (ТҚА) күресу саласындағы халықаралық стратегиялық бағыттарымен толық сәйкес келеді, оның ішінде:

Дүниежүзілік жануарлар денсаулығы ұйымының (ХЭБ) және Біріккен Ұлттар Ұйымының Азық-түлік және ауыл шаруашылығы ұйымының (ФАО) мақсаттары мен міндеттері;

Аусылмен күресудің жаһандық стратегиясы – PCP-FMD (Асыл ауруын бақылаудың прогрессивті жолы);

Эпизоотиялық мониторингті күшейту және жануарлардың аса қауіпті инфекцияларының ошақтарына жедел ден қою тұжырымдамалары.

Осылайша, зерттеу ғылыми-қолданбалы сипатта ғана емес, сонымен қатар биологиялық қауіпсіздік және трансшекаралық инфекциялардың алдын алу саласындағы халықаралық бастамаларды жүзеге асыруға ықпал ететін стратегиялық маңызы бар.

Жұмысты сынау. Диссертациялық зерттеудің негізгі ережелері мен нәтижелері халықаралық және республикалық ғылыми іс-шараларда ұсынылды:

Аусыл ауруын бақылау жөніндегі Еуропалық комиссияның (EuFMD) халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференциясында – «Асылға қарсы тиімді вакциналарды жеткізуде жаһандық қауіпсіздікті арттыру» (EuFMD ашық отырысы, Италия, 2018 ж.);

жас ғалымдардың V халықаралық конференциясында: биотехнологтар, молекулалық биологтар және вирусологтар (АНО Кольцово инновациялық орталығы, Новосибирск, 2018 ж.);

«Astana Biotech 2018» халықаралық конференция-симпозиумында Астана, 2018 ж.;

Пирбрайт институтында (The Pirbright институты, Ұлыбритания) диссертациялық жұмыстың нәтижелері туралы есеп.

Аяқталған диссертациялық зерттеудің нәтижелері бойынша 18 ғылыми жұмыс жарияланды, оның ішінде:

- Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі Білім және ғылым саласындағы бақылау комитеті ұсынған ғылыми мерзімді басылымдарда:

- «Ізденістер, нәтижелер. Зерттеулер, нәтижелер» (Алматы, 2017);

- «Ғылым және білім», Жәңгір хан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университетінің ғылыми-практикалық журналы (Орал, 2019);

- «Қазақстан жоғары мектебі», ғылыми-педагогикалық журнал (Алматы, 2018 ж.);

- халықаралық рецензияланатын ғылыми журналдарда:

- Virological Methods журналы (Нидерланды, 2018 ж.; мақала: A/ASIA/G-VII тегінің жаңадан шыққан аусыл вирустарын анықтау үшін нақты уақыттағы жаңа RT-ПТР әзірлеу және бағалау) – Web of Science-те индекстелген;

- Frontiers in Veterinary Science (Швейцария; мақала: Азияда айналымда жүрген аусыл вирустарын анықтау және сипаттау үшін нақты

уақыттағы RT-PCR талдауларының линияға тән молекулярлық құралдар жинағын құру) Web of Science журналында индекстелген халықаралық, рецензияланған, ашық қолжетімді журнал.

Өтініш берушінің жеке үлесі және алғысы. Бұл диссертацияны автор өз бетінше, өзінің ғылыми нәтижелері мен эксперименттік мәліметтерін пайдалана отырып аяқтады. Автор ғылыми және әдістемелік көмегі үшін, сондай-ақ осы зертханада зерттеулер жүргізуге мүмкіндік бергені үшін Аусыл ауруларының Дүниежүзілік референттік зертханасының (WRLFMD) командасына шынайы алғысын білдіреді. Қазақстан Республикасы Ауыл шаруашылығы министрлігі Мақсатты қаржыландыру бағдарламасының басшысы Ахметжан Ақиұлы Сұлтановқа зерттеулерді жүзеге асыруға көрсеткен қолдауы мен көмегі үшін ерекше алғысымызды білдіреміз. Ғылыми кеңесшім, ветеринария ғылымдарының докторы, профессор Бекболатұлы Леспек Құтымбетовке құнды ғылыми кеңестері мен қолдауы үшін шын жүректен алғыс айтамын. Менің шетелдік ғылыми кеңесшім, Ph.D докторы Дональд Кингке және Катарзина Бачанек-Банковскаға кәсіби жетекшілігі, зертханалық зерттеулерге көмектескені және жемісті ынтымақтастық үшін ерекше алғысымды білдіремін.

Диссертацияның көлемі және құрылымы. Диссертациялық жұмыс компьютерлік мәтіннің 131 бетінде ұсынылған және 27 кестеден, 21 суреттен тұрады және келесі бөлімдерден тұрады: кіріспе, зерттеу бағытын таңдау, материалдар мен зерттеу әдістері, өз зерттеулерінің нәтижелері, қорытынды, пайдаланылған әдебиеттер тізімі, оның ішінде 157 атау.