

**Боранбаева Карлыгаш Ерболатовнаның
8D09101-«Ветеринариялық медицина» білім беру бағдарламасы
бойынша философия докторы (Ph.D) дәрежесін алу үшін «Ірі қара
малдың індетті кератоконъюнктивитінің қоздырғыштарын анықтауға
арналған нақты уақыттағы мультиплексті полимеразды-тізбекті
реакциясын құрастыру» тақырыбында орындалған диссертациялық
жұмысының**

АННОТАЦИЯСЫ

Зерттеу тақырыбының өзектілігі. Қазіргі кезде Қазақстан Республикасының көптеген шаруа қожалықтарына алыс және жақын шет елдерден ірі қара мал импортталуда. Шет елдерден алып келген малмен бірге елімізде бұрын тіркелмеген аурулардың қатарында моракселла қоздырушылар тудыратын індетті кератоконъюнктивиті де бар.

Індетті кератоконъюнктивит (лат. - *Keratoconjunctivitis*; ағылш. - Pink-eye (қызғылт көз), моракселлез, көз эпизоотиясы, жұқпалы кератит, ірі қара малдың жайылымдық соқырлығы) - лакримация, көздің шырышты қабығының гиперемиясы, жарықтан қорқуы, қасаң қабықтың бұлыңғырлануы және жаралануы, көз алмасының деформациясы, көру қабілетінің төмендеуі немесе толық жоғалуы тәрізді белгілермен сипатталатын ауру.

Жануарлар көзінің жұқпалы аурулары малды мерзімінен бұрын жарамсыздыққа шығару, олардың асыл тұқымдық құндылығының жоғалуы, сүт өнімділігінің төмендеуі, тірі дене салмағының төмендеуі, ветеринариялық-санитариялық және арнайы ветеринариялық іс-шараларды өткізуге кететін шығындар салдарынан мал шаруашылықтарына айтарлықтай экономикалық зиян келтіреді. Ең жоғары ауру көрсеткіші 1-6 айлық бұзауларда(50–70%) байқалады. Малды өсіру және бордақылау топтарында, әсіресе, мал басы көп қоныстанған жерлерде орналасқанда ауру 30%-ға дейін тіркеледі. Сүтті табындар арасында ІКК 10-12% аралығында кездеседі. Шет елдерде етті ірі қара өсіруге арналған ірі мал шаруашылығы кешендерінің жылдық шығыны 150-ден 230 миллион долларға дейін жетеді.

Мал шаруашылығы фермаларында ауру жыл бойы тіркеледі, бірақ көбінесе жаз айларында, мал жайылымда болғанда және қоздырушыны тасымалдаушы жәндіктердің шабуылына ұшыраған жағдайда байқалады.

Қазіргі заманғы нарық жағдайында Қазақстан Республикасының аумағында осы аурудың нозоареалының кеңеюіне байланысты ірі қара малдағы моракселлезбен күресу өте өзекті мәселе болып табылады.

Қазақстан Республикасында 2018-2020 жылдары жүргізілген мониторинг деректері бойынша көптеген індеттанулық бірліктерде Абердин-ангус, Геррефорд, Қазақтың ақбас тұқымдары арасында моракселлез анықталған.

Біздің елімізде ІКК кең таралуына қарамастан, балау, емдеу және алдын алу мәселелері зерттелмеген. Олай дейтін себебіміз, еліміздегі ірі қара

малдағы моракселлез жаңа, толық зерттелмеген ауру, ауруды балау бактериологиялық зерттеу арқылы жүргізіледі.

Ірі қара малдың індетті кератоконъюнктивитінің пайда болуында жетекші рөл гемолиздік қасиеті бар бактерияларға *Moraxella bovis*, *Moraxella bovoculi* және *Moraxella ovis* тиесілі. Алыс және жақын шет елдердегі иммунологиялық сынақтардың ішінде иммунологиялық тесттердің ішінен ДПР, генотиптеу, ИФТ әдістері қолданылады. Ірі қара малдың індетті кератоконъюнктивитін балау үшін НУ-ПТР әзірлеудің ғылыми және практикалық маңызы зор, өйткені қоздырушыны дер кезінде анықтау инфекцияның нозоформа ретінде болуының даусыз дәлелі болып табылады, бұл сәйкесінше індетке қарсы шараларды тиімді жетілдіру болып табылады. Диагностикалық препараттың өндірісі тиісті зертханаларда және биологиялық өнеркәсіп кәсіпорындарында жолға қойылуы мүмкін.

Жоғарыда айтылғандарға сүйене отырып, жылдам, нақты және дәл балауды дамыту – нақты уақыт режимінде полимеразды тізбекті реакциясын әзірлеу өте өзекті болып отыр. Сонымен қатар, ауруды балау және оның алдын алу шараларымен қатар емдеу кезінде тиімді әсер ететін емдік препараттарды қолдану маңызды орын алады.

Қазіргі уақытта экологиялық мәселелелерге байланысты синтетикалық препараттармен салыстырғанда симптоматикалық ғана емес, сонымен қатар тиімді патогенетикалық әсері бар жаңа өсімдік текті препараттарды жетілдіру мәселесі өзекті болып отыр.

Диссертациялық зерттеудің мақсаты. Ірі қара малдың індетті кератоконъюнктивитімен күресу шараларын жетілдіру.

Зерттеудің міндеттері.

1. Қазақстан Республикасының аумағында ірі қара малдың індетті кератоконъюнктивит қоздырғышын бөліп алу және түр тиесілігін ажырату;

2. Ірі қара малдың індетті кератоконъюнктивитінің қоздырғыштарын анықтауға арналған нақты уақыттағы мультиплексті полимеразды-тізбекті реакциясын (ПТР) құрастыру;

3. Құрастылған нақты уақыттағы мультиплексті ПТР тест жүйесін зертханалық және өндірістік жағдайда жағдайда сынақтан өткізу;

4. Ірі қара малдың індетті кератоконъюнктивиті кезінде қолданылған емдік шаралардың салыстырмалы тиімділігін анықтау.

Зерттеу әдістері. Зерттеу жұмыстары 2021-2023 жж. «ҚазҒЗВИ» ЖШС бактериология зертханасында, Қазақстан-Жапон инновациялық орталығының «Жасыл биотехнология және жасушалық инженерия» зертханасында (ҚазҰАЗУ) және Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университетінің «Клиникалық ветеринариялық медицина» кафедрасының ғылыми зертханасында, Сельчук университетінің ветеринария факультетінде (Түркия Республикасы), сонымен қатар, Алматы, Жетісу, Ақмола, Батыс Қазақстан, Түркістан және Қостанай облыстарының індеттанулық бірліктерінде өндірістік сынақтар жүргізілді.

Қазақстан Республикасының аумағында ірі қара малдың індетті кератоконъюнктивит қоздырғышын бөліп алу және түр тиесілігін ажырату

клиникалық ауру жануарлардан алынған биоматериалға бактериологиялық зерттеу жүргізу арқылы жүргізілді. «Bergeys бактерия анықтағышы» (1997), «Зоопатогенді микроорганизм анықтағышы» (1995), «Ірі қара малдың *Moraxella bovis* және *Moraxella bovoculi* бактериялары тудыратын індетті кератоконъюнктивитінің балауы, емдеуі және телімді профилактикасы бойынша нұсқаулығына» (19.10.2017 ж. Ресей АШМ бекітілген) сәйкес оқшауланған моракселла қоздырғышының морфологиялық, тинкториалды және басқа да биологиялық қасиеттерін анықтау арқылы жүргізілді.

Биологиялық материал Алматы, Жетісу, Ақмола, Батыс Қазақстан, Түркістан, Қостанай облысының кейбір шаруашылық нысандарында бағылатын асылтұқымды (Абердин-ангус, Геррефорд), жергілікті (Қазақтың ақбас, жергілікті асыл тұқымды емес) ірі қара малдан алынды. Бактериологиялық зерттеулер үшін мұрын қуысының конъюнктивасынан және шырышты қабатынан биологиялық материал, ал серологиялық зерттеулер (КБР, КҰБР) үшін қан сарысуы алынды. Бөлінген *Moraxella* өсінділеріне бактериологиялық зерттеулер АТСС референттік штаммдарының *Moraxella bovis* АТСС 17948ТМ, *Moraxella bovoculi* ВАА 1259ТМ және *Moraxella ovis* АТСС-33078 штаммдарымен салыстыру арқылы жүргізілді.

Емдік препарат – ланолин негізіндегі «КерКон» жақпа майын дайындауда келесі дәрілік өсімдіктер қолданылды: көздәрі шөбі (*Eirhgasia officinalis* L., очанка), жолжелкен жапырақтары (*Plantago stepposa*, подорожник), тасшөп (*Tymus serpyllum* L., чабрец), түймедақ гүлдері (*Matricaria chamomilla* L., ромашка). Дәрілік өсімдік шикізатының түпнұсқалығы зерттеудің жалпы қабылданған фармакологиялық әдістері бойынша анықталды.

Геномдарды талдау және нақты праймерлерді іздеу үшін бастапқы деректер ретінде бактерия штаммдарының толық геномдарының нуклеотидтер тізбегін пайдаланатын SpeciesPrimer алгоритмі пайдаланылды. Талдау кезінде алынған барлық праймерлер мен зондтар BLAST+, MFEprimer, MPprimer және Mfold бағдарламалары арқылы телімділігі мен димерлердің бар-жоғына тексерілді.

Нақты режимде мультиплексті полимеразды тізбекті реакция әдісін пайдалана отырып, *Moraxella bovoculli*, *Moraxella ovis* және *Moraxella bovis* ДНҚ анықтау үшін «НУ-Моракелла-ПТР» реагенттер жинағының тәжірибелік сериясын сынау ЖШС ҰС 071240018450-002-2023 сәйкес жүргізілді.

Қорғауға ұсынылатын негізгі ережелер.

1. *M. bovis* және *M. bovoculi* індеттік өсінділері бөлініп алынды. Оқшауланған өсінділердің, морфологиялық, тинкториалды және биохимиялық қасиеттері АТСС референттік штаммдарының *Moraxella bovis* АТСС 17948ТМ және *Moraxella bovoculi* ВАА 1259ТМ штаммдарына сәйкес келді. Түр тиесілігі полимеразды тізбекті реакциясы арқылы расталды.

2. Бір сынамадағы ірі қара малдың індетті кератоконъюнктивитінің үш қоздырушысын (*M. bovis*, *M. bovoculi* және *M. ovis*) анықтау үшін нақты уақыт режимінде мультиплексті полимеразды тізбекті реакциясы (НУ ПТР) әзірленді. *Moraxella ovis*, *Moraxella bovoculi* және *Moraxella bovis* ДНҚ

анықтау үшін НУ ПТР реакциясында олигонуклеотидтер жиынтығын пайдаланатын аналитикалық сезімталдық 21 көшірмесі құрастырылып, оның реакцияда 50 фг сәйкес екені анықталды. *Moraxella* олигонуклеотидтері жиынтығының телімділігі кейбір зооноздардың (*Salmonella enterica*, *Streptococcus equi*, *Helicobacter pylori*, *Pasteurella equi*) жақын туыс микроорганизмдері мен патогендерін сынау арқылы дәлелденді. Нақты уақыттағы ПТР реакциясында олигонуклеотидтер жиынтығын пайдалану *Moraxella* өсінділерін анықтау үшін 100% телімділігін көрсетті.

3. Әзірленген реагенттер жинағын сынақтан өткізу зертханалық және өндірістік жағдайларда жүргізілді. Препараттың телімділігі, сезімталдығы және жарамдылық мерзімі ҚР АШМ ВБЖҚК «Ветеринария бойынша ұлттық референттік орталығы» ШЖҚ РМК базасында апробациялық сынақтармен расталды (№ҚР-ВП-2-5289-24 тіркеу куәлігі). Ақмола, Жетісу, Түркістан, Қостанай облыстарының шаруашылық жүргізуші субъектілерінің ауруға шалдыққан ірі қара малдарынан 542 жағындыға өндірістік сынақтар жүргізілді. Бұл ретте Ақмола облысынан 15 оң сынама анықталды. Осылайша, *Moraxella bovoculli* (100%) ретінде анықталған 15 оң сынамада *Moraxella ovis* 33,3%, *Moraxella bovis* 6,7% құрады.

4. Дәрілік шөптер негізінде «КерКон» жақпа майы әзірленді. Емдеу ұзақтығы 10-16 күнді құрап, емдік тиімділігі 86,7% көрсетті. Фитожақпа май конъюнктивға жергілікті тітіркендіргіш әсер етпейді.

Зерттеудің негізгі нәтижелерінің сипаттамасы. Қазақстан Республикасында алғаш рет ірі қара малдың індетті кератоконъюнктивит қоздырушыларын анықтау үшін нақты уақыт режимінде мультиплексті полимеразды тізбекті реакциясы әзірленді. Бұл сынақ жүйесінің құндылығы оның телімділігімен, аналитикалық белсенділігімен Қазақстан Республикасында, жақын және алыс шетелдерде коммерциялық жинақ аналогының болмауымен расталды.

Жергілікті мал тұқымдары арасында моракселлездің одан әрі таралуының қаупіне байланысты нақты уақыт режимінде мультиплексті полимеразды тізбекті реакциясын пайдалана отырып, *Moraxella bovoculli*, *Moraxella ovis* және *Moraxella bovis* ДНҚ-сын анықтауға арналған НУ-Моракселла-ПТР реагенттер жиынтығы мал шаруашылығы саласындағы фермерлер, ғалымдар, ветеринария мамандары үшін үлкен практикалық қызығушылық тудырады, ол ірі қара малдың кератоконъюнктивитінің пайда болуын болжауға және алдын алуға, ауыл шаруашылығына үлкен экономикалық зиян келтірмеуге, індетке қарсы шараларды дер кезінде және тиімді әзірлеуге мүмкіндік береді.

Өсімдік негізінде дайындалған ірі қара малдың індетті кератоконъюнктивитін емдеуге арналған «КерКон» жақпа майы жасалынды.

Алынған нәтижелердің жаңалығы мен маңыздылығын негіздеу.

Қазақстан Республикасында алғаш рет қолайлы температурасы мен реакция компоненттерін таңдауды қамтитын реакцияны қоюдың оңтайлы параметрлері белгіленді. Дәрілік өсімдіктер негізіндегі фитожақпа майының құрамы оңтайландырылды және «КерКон» препаратын басқа емдік

препараттармен қоса қолдану арқылы ІҚМ конъюнктивитін емдеу сұлбасы әзірленді. Сыналған емдеу әдісі белгілі басқа әдістермен салыстырғанда жануарлардың калпына келу уақытын орта есеппен 5-6 күн бұрын қысқартуға мүмкіндік беретіні дәлелденді.

Ұсынылып отырған диагностикалық және емдік препараттар індетке қарсы тиімді шараларды дер кезінде әзірлеуге мүмкіндік береді.

Жұмыстың жаңалығы 3 қорғау құжатымен (12.08.2023 ж. №7332, 30.06.2023 ж. №8214, 05.04.2024 ж. №8587) қорғалған, 1 әдістемелік құрал (Ірі қара мал моракселлезінің алдын алу және жою бойынша ветеринариялық-санитариялық шараларды жүзеге асыру ұсынысы) шығарылды.

Ғылыми даму бағыттарына немесе мемлекеттік бағдарламаларға сәйкестігі. Диссертациялық жұмыс 2021-2023 жылдар аралығында «Ауру жануарларды балау, аурудың алдын алу, емдеу және топырақтағы сібір жарасының ошақтарын залалсыздандыру құралдары мен әдістерін әзірлеу және өндіріске ұсыну» ғылыми-техникалық бағдарламасының негізінде «Ірі қара малдың індетті кератоконъюнктивитінің қоздырғыштарын анықтау үшін нақты уақыттағы полимеразды-тізбекті реакцияны (ПТР) әзірлеу және өндіріске ұсыну» (BR10764975) жобасы негізінде орындалды.

Докторанттың әрбір басылымды дайындауға қосқан үлесін сипаттау. Ғылыми зерттеулердің нәтижелері бойынша докторант ғылыми кеңесшілердің жетекшілігімен 17 ғылыми мақала дайындап, жариялады, оның ішінде 4 мақала Қазақстан Республикасы Ғылым және жоғары білім министрлігінің Ғылым және жоғары білім саласындағы сапаны қамтамасыз ету комитеті ғылыми зерттеулердің негізгі нәтижелерін жариялауға ұсынған отандық басылымдарында және шетелдік (РФ) басылымында 1 мақала, 3 мақала Scopus базасына енген рейтингтік журналында (Research Journal of Pharmacy and Technology 2023; 16(1):46-4. doi: 10.52711/0974-360X.2023.00009; Veterinary World. 2023 Dec;16(12):2526-2532. doi: 10.14202/vetworld.2023.2526-2532; International Journal of Veterinary Science 12(6): 822-831. <https://doi.org/10.47278/journal.ijvs/2023.071>), 5 халықаралық (Қазақстан, Ресей, Грузия) ғылыми конференция жинақтарында жарияланып, 1 ұсыныс және 3 қорғаныс құжаты алынды.

Диссертацияның көлемі мен құрылымы. Диссертациялық жұмыс компьютерде терілген 132 беттік мәтіннен тұрады. Оның мазмұны кіріспеден, әдебиетке шолудан, зерттеу материалдары мен әдістерінен, зерттеу нәтижелерінен, зерттеу нәтижелерін талқылаудан, қорытындыдан, тәжірибелік ұсыныстардан және қосымша материалдардан тұрады. Диссертациялық жұмыста 19 кесте, 36 сурет. Пайдаланған әдебиеттер тізімі 156 аталымнан тұрады, оның ішінде 72 шет тіліндегі жариялым.