

Курманбекова Жулдыз Кайратовнанын
6D120100 – «Ветеринариялық медицина» білім беру бағдарламасы
бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алуға ұсынған
«Зертханалық жағдайда қойдың қатаралды безгегін баламалау үшін
тест-жүйені жасап шығару» тақырыбында орындалған диссертациялық
жұмысына

ҒЫЛЫМИ КЕҢЕСШІНІҢ ПІКІРІ

Орындалған жұмыстың өзектілігі, оның қазіргі ғылым мен практика үшін маңыздылығын негіздеу

Қазақстан Республикасындағы (ҚР) эпизоотикалық жағдайдың талдауының көрсеткіштері бойынша ауыл шаруашылық малдарда этиологиясы белгісіз аурулар байқалып, олардың көбісі зерттелмеген күйі қалып отыратыны белгілі. Экзотикалық ауру – Қойдың қатаралды безгегіде (ҚКБ) ҚР-ның шекарасында зерттелмеген. ҚКБ вирусы күйіс қайыратын малдарды – ірі қара малды, ешкілерді, қойларды, бұғыларды зақымдайды, малдар арасында індет *Culicoides* туысының қансорғыш жәндіктері арқылы таралады, ауруға адам да сезімтал. Ауру белгілері қойларда басқасынан гөрі анығырақ байқалады.

ҚКБ-нен экономикалық зияны біріншілік ошақта тікелей жоғалтудан (малдардың өлімі және амалсыздан союдан) тұрады және эпизоотикалыққа қарсы шаралар өткізуге кететін; стационарлық – тікелей шығындар, үйдің күйіс қайыратын жанарларының өнім беруінің азаюы, ұдайы өндірістің нашарлауы, сонымен қатар ауылшаруашылық өнімдерінің экспортына, әсіресе, мал саудасы, ет, жүн және жануарлардан алынатын басқа да өнімдер саудасына шектеулер қойылуы сияқты шығындардан тұрады.

ҚКБ алғаш рет Оңтүстік Африкада 1876 жылы тіркелген. Соңғы кездерде Еуропа елдерінде, сонымен қатар Кипр аралында, Палестинада, Сирияда, Түркияда, Америкада, Португалияда, Испанияда, Ресей Федерациясында, Тәжікстанда, Қырғызстанда және Қазақстанда бұл індеттің малдар арасында кездесетіндігі дәлелденді.

Жалпы ҚКБ ауруына диагноз қою өте қиыншылық туғызтады, өйткені бұл індеттің қазіргі таңда 30-дан аса түрлері кездеседі.

ҚКБ диагностикалауға қолданылатын әдістемелердің біркатар елеулі кемшіліктері бар. Олар негізінен сезімталдық пен тәнділігінің төмендігімен, сондай-ақ реакция нәтижелерін күту уақытының ұзақтығымен байланысты. Соңғы жылдары ҚКБ қоздырғышын анықтау үшін қазіргі иммунохимиялық және молекулалық-генетикалық әдістер ұсынылды. Осылардың ішінде ең тиімдісі иммунді ферменттік талдау (ИФТ), бұл әдістің артықшылығы биоматериалдан кез-келген індетке қарсы қоздырғыштың антигенін және оған қарсы антиденені анықтауға болады. Сонымен қатар ИФТ әдісі жоғарғы деңгейде тәнді, сезімтал, нәтиже алу үшін аз уақыт кетеді, сонымен қатар әдісті қою кезін автоматтандыруға болады.

Тұжымдай келе Курманбекова Жулдыз Кайратовнаның диссертациялық жұмысы актуалды деп есептеймін.

Докторант сүйенетін негізгі ғылыми және әдіснамалық ережелерді ашу

Ж.К. Курманбекованың 6D120100 – «Ветеринариялық медицина» білім беру бағдарламасы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алуға ұсынған «Зертханалық жағдайда қойдың катаралды безгегін баламалау үшін тест-жүйені жасап шығару» тақырыбындағы диссертациялық жұмысының құрылымы мен мазмұны бойынша докторлық диссертацияларға қойылған талаптарға сәйкес келеді. Диссертацияның негізгі бөлімдері тақырыбы, өзектілігі, қойылған мақсаты мен міндеттері бір-біріне үйлесімді, толық шешімін тапқан.

Докторант алған ғылыми нәтижелер және олардың негізділігі

Зерттеулердің ғылыми жаңалығы Тәжікстан Республикасының эпизоотиялық ошақтарынан ҚКБ вирусының штаммы ұсақ малдардан оқшауланған. Ауру малдардан жаңадан бөлініп алынған «RT/RIBSP-07/16» штаммның жасушалық қасиеттері мен осы штамм негізінде диагностикалық препараттар дайындалған (антиген, иммуноглобулин, конъюгат). Осы диагностикалық препараттар негізінде Қазақстан Республикасында клиникалық сынамадан ҚКБ қоздырғышының антигенін анықтау үшін ИФТ қоюдың тиімді жағдайы таңдалған.

Диссертант ҚКБ вирусының «RT/RIBSP-07/16» штаммын өсіру үшін трипсинделген қозы тестикуласының жасушасы (ҚзТ), және тұрақты жасуша линиялары: сирия атжалманының бүйрегі (ВНК-21), сібір тауешкісінің бүйрегі (СТБ), африка жасыл маймылының бүйрегі (Vero), қойдың бүйрегі (ҚБ) және киіктің бүйрегі (КБ) жасушалары, сонымен қатар тауықтың өскін эмбриондары (ТӨЭ) қолданған. Нәтижесінде ҚКБ-нің вирусы Vero жасушасында жоғарғы белсенділік көрсететіндігін дәлелдеген, биологиялық белсенділігі 3,5-6,5 lg ЦӨТ₅₀/см³ құраған, ал басқа жасушалар вирустың белсенділігі 2,55-4,2 lg ЦӨТ₅₀/см³ болған.

Қазіргі таңдағы плимераздық тізбектік реакция әдісінің нәтижесі бойынша Vero және ҚзТ вирусы бар жасуша суспензияларында ҚКБ вирусының РНК бар екені дәлелдеген.

Электронды микроскопиялық зерттеу нәтижесінде оқшауланған қоздырғыштың *Orbiviruses* түріне жататындығын және морфологиялық жағынан ҚКБ вирусына ұқсас екендігі анықтаған.

Вирустың зерттелген дозалардың арасында вирустың ең жоғары биологиялық белсенділік көрсеткен тиімді дозасы 0,01 ЦӨТ₅₀/жасуша болып табылатындығын дәлелдеген. Бұл дозада вирустың биологиялық белсенділігі 7,25 lg ЦӨТ₅₀/см³ көрсететіндігін дәлелдеген.

Диссертант зерттеу нәтижесінде ҚКБ вирусы "RT/RIBSP-07/16" штамын өскіндеу үшін ең тиімді қоректік орта болып VERO және Игла MEM қоректік орталары екенін дәлелдеген, осы қоректік орталарды пайдаланғанда вирустың

биологиялық белсенділігі 2-3 пассаж деңгейінде $7,00 \pm 0,1 - 7,2 \pm 0,2 \lg \text{ЦЭТ}_{50}/\text{см}^3$ құрағанын көрсеткен.

Диссертант зерттеулердің нәтижесінде ҚКБ вирусының репродукциясына аса қолайлы температура 37°C болып табылатындығын дәлелдеген.

Сонымен қатар диссертант вирусы "RT/RIBSP-07/16" штамын өскіндеу үшін 72 сағат тиімді болатындығын дәлелдеген, осы уақыт ішінде вирус өзінің максималды биологиялық белсенділігіне жеткен, $7,28 \pm 0,13 \lg \text{ЦЭТ}_{50}/\text{см}^3$. Өскіндеудің басқа уақыттарында вирустың белсенділігі $3,62 \pm 0,1 \lg \text{ЦЭТ}_{50}/\text{см}^3$ бастап $6,20 \pm 0,20 \lg \text{ЦЭТ}_{50}/\text{см}^3$ дейін жеткен.

Диссертант 2, 5 және 10 % қоюлылықтағы ірі қара малы қан сарысулары VERO жасушасында ҚКБ вирусы "RT/RIBSP-07/16" штамын өскіндеу кезінде айтарлықтай биологиялық белсенділігіне әсер етпейтінін дәлелдеген, орта есеппен $7,05 \lg \text{ЦЭТ}_{50}/\text{см}^3 - 7,27 \pm 0,3 \lg \text{ЦЭТ}_{50}/\text{см}^3$ болған.

Диссертант ҚКБ вирусының суспензиясынан тәнді антиген дайындау үшін әр-түрлі 8 әдістемелер қолданған. Нәтижесінде ең тиімді әдіс деп ферментпен өңдеу: суспензияға трипсинді соңғы қоюлылығы $0,1 \text{ мг/мл}$ болғанша қосу, сосын $1 \text{ сағ } 37 \pm 0,5^\circ\text{C}$ температурасында қалдыру, трипсин әсерін соя ингибиторын қосу арқылы тоқтату, соңынан $30000 \text{ айналым/мин } 60 \text{ мин}$ центрифугада айналдыру, тұнбаға жүз еселендіріп $0,002 \text{ М рН } 7,5$ трис-буфер ерітіндісін құя әдісі таңдалған, өйткені осы әдіспен дайындалған антигеннің белсенділігі басқа әдістерге қарағанда жоғары болды – ДПР $1,5 \log_{10}$, ал ИФТ – да $3,31 \log_{10}$.

Диссертант ҚКБ вирусына қарсы тәнді қан сарысуын дені сау 6-12 айлық қой және ешкіден алған, ҚКБ вирусына қарсы тәнді және белсенді қан сарысуы №1 қойдан алынған, белсенділігі ДПР-да $4,0 \log_2$ құраған.

Диссертант гамма - глобулин фракциясын тәнді қан сарысуынан оқшалау Кон әдісімен және аммоний сульфатының көмегімен жүргізген.

Нәтижесінде Конның спирттік әдісін қолдана отырып, неғұрлым белсенді иммуноглобулиндер алынатындығы дәлелденген, белсенділігі ДПР-да $1:32$ құраған.

Диссертант иммуноглобулин негізінде Уилсон және Накане әдісімен вирусқа тән иммунопероксидазды конъюгаттар алған. ҚКБ үшін конъюгаттардың шекті титрлері сәйкесінше $1:800$ және $1:400$ болған.

Диссертант дайындалған тәнді антигендер, қан сарысулары, иммуноглобулиндер мен конъюгаттар негізінде, жәнede диагностикалық препараттарды сұйылту үшін әр-түрлі тұз ерітінділерін, және бір-бірімен толық байланысуы үшін температураларды мен уақыттарды тайдай отырып ҚКБ вирусының антигенін анықтау үшін ИФТ қоюдың тиімді жағыдайын жасап шыққан: полистиролды планшет ретінде Финляндияда жасалған тақташасын қолдану; ҚКБ вирусына қарсы гамма – глобулиннің жұмыс ерітіндісін жасау үшін $0,1 \text{ М КББ}$, $\text{pH } 9,6$ тұзын, және осы препаратты тақташа ұяшығына тұндыру үшін 4°C температурада $18, 24$ сағат уақытты пайдалану; ҚКБ вирусына қарсы гамма – глобулин мен тәнді антигені байланысқа түсу үшін 4°C температурада 18 сағат уақытын таңдаған; тәнді конъюгатпен тәнді

антиген байланысу үшін 37 °С температурада 60 минут; диагностикалық препараттардың жұмыс сұйықтығын дайындау мен ұяшықтарды жуу үшін құрамында 0,1% Твин-80 қосылған 0,15 М NaCl, рН 6,8 тұз ерітіндісі; нәтижесін оқу тақташа ұяшықтарына АБТС субстрат ерітіндісін құйып бөлме температурасында 30-60 мин ұстау; нәтижелер визуалды түрде немесе фотометрде 405 нм толқын ұзындығында өлшеу; белгілі тәнді антигені бар ұяшықтарда визуалды бағалауда көк бояуды көрсету, қалыпты антигені бар ұяшықтарда әлсіз көк түс, болмаса түссіз болуы; егер сыналған антигені бар ұяшықтарда қалыпты антигенге қарағанда 405 нм толқын ұзындығында екі еседен жоғарғы оптикалық көрсеткіш байқалса нәтиже оң деп санаған.

ҚКБ вирусының антигенін анықтау үшін жасалынып шыққан ИФТ әдісінің тәнділігі мен сезімталдығын зерттелген, зерттеу барысында жасалынған ИФТ әдісі жоғарғы деңгейде сезімталдығы мен тәнділігімен ерекшеленген.

Диссертант мониторинг кезінде Алматы, Түркістан және Жамбыл облыстарының территорияларынан қой, ешкі және сиыр малдарынан алынған қан сынамалары құрамынан ҚКБ вирусының антигенін анықтау үшін осы диссертациялық жұмыс аясында жасап шығарылған ИФТ әдісі пайдаланған, сонымен қатар салыстырмалы түрде IDvet шығарған ИФТ-дың жиынтығы да қолданылды. Нәтижесінде ИФТ жоғарғы деңгейде сезімтал екендігін көрсеткен.

Диссертацияның құрылымдық және мазмұндық тұтастығы

Диссертациялық жұмыс қойылған талаптарға сәйкес рәсімделген. Диссертация келесідегідей бөлімдерден тұрады кіріспе, негізгі бөлім, зерттеу материалдары және әдістер, зерттеу нәтижелері, зерттеулер нәтижелерін қорытындылау және бағалау, тәжірибелік ұсыныстар, қолданылған әдебиеттер тізімі, қосымшалар тұрады.

Докторанттың жеке үлесі, зерттеу көлемі

Ізденуші диссертациялық тақырып бойынша дәстүрлі және заманауи зерттеу әдістерін, тәжірибе жұмыстарын жеке өзі және кейбір материалдарды ғылыми кеңесшілерінің нұсқауымен орындады. Бірнеше халықаралық ғылыми тәжірибелік конференцияларға катысып, ғылыми мақалалар жариялады және ұсыныс дайындады.

Докторанттың зерттеуші ретіндегі сапасы, ғылыми зерттеу әдістерінен алған тәжірибесі

Диссертациялық жұмысты орындау нәтижесінде докторанттың ғылыми қызметкер ретінде сапасы айтарлықтай артты. Алынған ғылыми зерттеу тәжірибесі докторантқа қолданбалы зерттеулерді одан әрі жоғарғы деңгейде жүргізуге мүмкіндік береді. Сондай-ақ, ғылым жолында орындалған жұмысы бойынша зерттеулер мен сараптамаларды жасау барысында тәжірибесінің мол екендігін байқатып, іскерлігі мен ғылымға құштарлығын ғылыми зерттеу жұмыстарын жүргізуге барысында жақсы қырынан көрсете білді.

Қорытынды. Докторант Курманбекова Жулдыз Кайратовнаның диссертациясы автордың өзі орындаған, толық аяқталған ғылыми зерттеу жұмысы болып табылады және философия докторы (PhD) дәрежесін алу үшін ҚР ғылым және жоғарғы білім министрлігінің білім және ғылым саласындағы бақылау комитетінің диссертацияларға қойылатын талаптарына сәйкес келеді. Жоғарыда аталғандардың негізінде, Курманбекова Жулдыз Кайратовнаның «Зертханалық жағдайда қойдың катаралды безгегін баламалау үшін тест-жүйені жасап шығару» тақырыбында дайындалған диссертациясы талаптарға сай орындалған және авторы 6D120100 – «Ветеринариялық медицина» мамандығы бойынша философия докторы (PhD) дәрежесін алуға лайық деп санаймын.

Ғылыми кеңесшісі:

«Биологиялық қауіпсіздік
проблемаларының ғылыми-зерттеу
институтының»

Индеттік ауруларды балау
зертханасының меңшерушісі,
биология ғылымдарының докторы,
профессор



Ж.К. Кошеметов

Пікір беруші, б.ғ.д., профессор
Ж.К.Кошеметовтың қолын растаймын
Бас ғылыми хатшы:



С.О. Садикалиева