

**Каиржанова Алма Дуйсенбайқызының диссертациясына  
тақырыбы: «Қазақстан аумағында айналымда жүрген *Francisella tularensis* штамдарының әртүрлілігі», 8D09101 – «Жануарлардың ветеринариялық әл-ауқаты» білім беру бағдарламасы бойынша ғылым докторы ғылыми дәрежесін алу үшін**

**АҢДАТПАСЫ**

Туляремия –*Francisella tularensis* гамма-протеобактериясы тудыратын зооантропонозды инфекция. Бұл жедел жұқпалы аурудың мезгіл-мезгіл пайда болатын эпизоотиялы табиғи ошақтық қасиеті бар. *F. tularensis* – жоғары вирулентті, грамтеріс, жасушаішілік коккобацилла, спора түзбейтін, аэробты немесе микроаэрофильді бактерия. Қазіргі уақытта *F. tularensis*-тің төрт кіші тұрасты танылды: *tularensis*, *holarctica*, *mediasiatica* және *novicida*.

Қазақстанда туляремияның табиғи ошақтары 14 облыстың 12-сінде анықталған, ошақтардың жалпы ауданы ел аумағының төрттен бір бөлігін құрайды (552 мың км<sup>2</sup>). Туляремияға иелердің кең ауқымы және алуан түрлілік қасиеттері тән. *F.tularensis*-тің негізгі көзі және резервуары кеміргіштер болып табылады, оларда қансорғыш жәндіктер табиғи ошақтарда қоздырғыштың айналымын сақтауға қатысады. Сезімталдық және инфекциялық сезімталдық дәрежесінің айырмашылығы сүтқоректілердің инфекция көзі - қоздырғышты одан әрі таратушылар ретіндегі рөлін анықтайды. Санитарлық салауаттылыққа жануарлардың, соның ішінде үй жануарларының ауруын бақылау арқылы ғана қол жеткізуге болады, өйткені ауру жабайы сүтқоректілермен және қансорғыш жәндіктермен жиі байланыста болу мүмкіндігі бар.

Айналымдағы штамдардың генотиптерін білу жергілікті және ғаламдық деңгейде эпидемиологиялық және эпизоотиялық мониторинг үшін маңызды. Жергілікті деңгейде генотиптеу инфекцияның көзі мен жолдарын анықтауға мүмкіндік береді. Ғаламдық ауқымда ол табиғи ошақты зиянды мақсатпен жасанды түрде жасалған індеттен ажыратуға мүмкіндік береді және эволюциялық өзгерістерді қадағалауға мүмкіндік береді.

**Зерттеудің мақсаты мен міндеттері**

Диссертациялық жұмыстың мақсаты – Қазақстанда айналымда жүрген *Francisella tularensis* штамдарының генетикалық әртүрлілігін жоғары дискриминациялық әдістермен зерттеу және туляремиямен күресті жақсарту үшін генотиптердің таралу картасын құру.

Мақсатқа сәйкес келесі міндеттер қойылды:

6. MLVA және ПТР әдістерімен генотиптеу үшін қолайлы *Francisella tularensis* штамдарының ДНҚ үлгілерінің коллекцияларын құру.

7. VNTR қайталануларының мультилокусты талдауын қолдана отырып, *Francisella tularensis* генотиптеу хаттамасын жасау.

8. Гипервариабельді VNTR маркерлерінің көмегімен *Francisella tularensis* штамдарының MLVA типтеуін жүргізу. MLVA профильдерін алу.

9. *Francisella tularensis* штамдарының генетикалық әртүрлілігін анықтау, кластерлік талдау жүргізу және ең аз ауқымды ағаштарын құру. Қазақстандағы генотиптердің географиялық таралуын анықтау.

10. *Francisella tularensis* штамдарының тұтас геномдық секвенирлеу. Алынған нәтижелерді талдау. SNP деректері нәтижесінен ең аз ауқымды ағаштарды құру.

**Зерттеу объектілері:** Бұл диссертацияда зерттеу материалы ретінде «М.Айқымбаев атындағы аса қауіпті инфекциялар ұлттық ғылыми орталығының» ШЖҚ РМК (АҚИҰҒО) коллекциялық *Francisella tularensis* штамдарынан бөлініп алынған ДНҚ үлгілері қолданылды.

**Зерттеу пәні:** Қазақстанда айналымда жүрген *Francisella tularensis* штамдарының генетикалық әртүрлілігі.

**Зерттеу әдістері.** Ғылыми жұмыста микробиологиялық, генетикалық және биоинформатикалық зерттеу әдістері қолданылады.

**Орындалған жұмыстың ғылыми жаңалығы төмендегідей:**

Тұңғыш рет Қазақстанда айналымда жүрген *Francisella tularensis* 148 штаммының MLVA генотипі жүргізілді, алғаш рет Қазақстанда табиғи су қоймаларынан, кенелерден, кеміргіштерден, жыртқыштардан және бір қоныс аударатын құстан бөлініп алынған *Francisella tularensis subsp. holarctica* 39 штаммының толық геномдық деректері алынды. MLVA типтеу және геномдық деректер негізінде біздің еліміздегі генотиптердің таралу карталары құрастырылды.

**Практикалық маңыздылығы** Қазақстанда айналымда жүрген *Francisella tularensis* үшін MLVA генотиптеу схемасын жасауда жатыр. Ұсынылған схеманың дискриминациялау қабілеті жоғары және генотиптеу схемаларын жетілдіреді.

**Теориялық маңыздылығы** Қазақстанда айналымда жүрген *F.tularensis* штамдарының 148 MLVA профилін және 39 толық геномдық деректерін алуда жатыр. Алынған нәтижелер жалпыға қолжетімді халықаралық мәліметтер базасына жүктелді және оны басқа ғалымдар әлемде және Қазақстанда айналымда жүрген *F.tularensis* штамдарының генетикалық әртүрлілігін зерттеу кезінде пайдалана алады. Біздің еліміздің аумағында генотиптердің таралу карталары құрастырылды, онда *Francisella tularensis* штамдарының таралуы көрнекі түрде көрсетілген.

**Қорғауға ұсынылатын негізгі қағидалар:**

4. Гипервариабельді VNTR маркерлерінің көмегімен *Francisella tularensis* штамдарының MLVA генотиптеу.

5. Қазақстандағы *Francisella tularensis* штамдарының генотиптерінің географиялық таралуын анықтау.

6. SNP деректеріне негізделген ең аз ауқымды ағаштарды салу арқылы *Francisella tularensis* штамдарының тұтас геномдық секвенирлеу.

**Зерттеу нәтижелері.**

1. Біздің республикамыздың 8 облысынан MLVA әдісін, ПТР және тұтас геномды секвенирлеуді қолданып генотиптеуге жарамды *Francisella tularensis* 148 штаммының ДНҚ үлгілерінің коллекциясы жасалды. Бұл ретте

штамдардың ең көп саны Батыс Қазақстан облысынан бөлініп алынған, ол пайызбен 41,89% құрады. Барлық үлгілер ДНҚ тазартудың жоғары дәрежесін көрсетті, 260/280 толқын ұзындығы қатынасында орташа 1,8 диапазонын көрсетті. ДНҚ концентрациясы 2-ден 78 нг/мкл-ге дейін өзгерді. ДНҚ үлгілерінің контаминациясын болдырмау үшін және түрлік индентификацияны жүргізу үшін *16S rRNA* генінің нуклеотидтер тізбегі талданды. Талдау нәтижесінде алынған нуклеотидтер тізбегі *F. tularensis* түрінің нуклеотидтік тізбегімен 99-100% максималды сәйкестікке ие болды. Зерттелетін *F. tularensis* штамдарының түр ішілік индентификациясы RD1 геніне тән праймерлер көмегімен ПТР көмегімен жүргізілді, ол біздің ДНҚ топтамамызда 2 тұрастын анықтады: *F. tularensis subsp. holarctica* және *F. tularensis subsp. mediasiatica*.

2. Әрбір бесінші праймер қоспасы үшін реакциялық қоспаның құрамын, амплификация режимін және фрагменттік талдауды қамтитын 11VNTR қайталануының мультилокусты талдау әдісін қолдану арқылы *Francisella tularensis* генотипін анықтау үшін хаттама әзірленді. Әзірленген MLVA типирлеу хаттамасының негізінде медициналық және ветеринариялық зертханалардағы мамандарға ұсынылуы мүмкін нұсқаулықтар шығарылды.

3. 148 *Francisella tularensis* штамдарын MLVA типтеу гипервариабелді 11VNTR маркерлерін қолдану арқылы жүзеге асырылды. Барлық талданған *Francisella tularensis* штамдары үшін MLVA профильдері алынды. Әрбір талданатын локус үшін аллельдік нұсқалар мен Хантер-Гастон кемсітушілік индексінің мәндері анықталды. Хантер-Гастон кемсітушілік индексі (HGDI) MLVA-11 148 *Francisella tularensis* штамдары үшін 0,9295 болды. 11 локуста MLVA жүргізу талданған 148 штаммның ішінде 30 генотипті анықтауға мүмкіндік берді, оның ішінде 6 генотип бір штамнан болды. 11 VNTR қайталануының MLVA типтеуінің нәтижесінде толық геномды реттілік үшін 40 *Francisella tularensis* штамдары таңдалды.

4. *Francisella tularensis* штамдарының генетикалық әртүрлілігі анықталды, кластерлік талдау жүргізілді, ең аз ауқымды ағаштар салынды. QGIS электрондық жүйесін пайдалана отырып, Қазақстан Республикасының аумағы бойынша *Francisella tularensis* штамдарының генотиптерінің таралу картасы әзірленді. Біздің зерттеулеріміз бойынша Қазақстанда айналымда жүрген *F.tularensis subsp. holarctica* генотиптеу үшін 25 классикалық VNTR локустарының бесеуін, Ft-M3, Ft-M4, Ft-M6, Ft-M20A, Ft-M22 және қосымша таңдалған екі *in silico*-FT-4 және *in silico*-FT-8 локустарын қамтитын жеңілдетілген генотиптеу схемасын қолданған жөн. Барлық жеті локусты әртүрлі флуоресцентті бояғыштармен бір ПТР реакциясында амплификациялауға және генетикалық анализаторда бір айналымда талдауға болады. Жеті вариабельді локус негізінде 39 штамм 19 генотипке топтастырылған.

5. Қазақстанда алғаш рет *F. tularensis* штамдарының толық геномдық секвенирлеуі жүргізілді, 40 штамм қолданылды: *F. tularensis subsp. holarctica* тұрастының 39 штамы және *F. tularensis subsp. mediasiatica* тұрастының 1 штамы, олардың оқу саны бір үлгіде 347926-дан 1219022 оқылымға дейін

өзгерді. Талданған *F. tularensis subsp. mediasiatica* 240 штамы МІ субтиптерінің штамдарымен топтастырылған. 219 штамм арасында 2022 SNP анықтадық, оның ішінде Қазақстаннан 39 штамм және *holarctica* В.4, В.6 немесе В.12 жататын 180 жалпыға қолжетімді деректер жиынтығы. Біздің ДНҚ жинақта филогенетикалық топ В.6 кездеспеді. SNP деректеріне негізделген ең аз ауқымды ағаштар құрастырылды.

**Жұмысты апробациялау.** Диссертацияның негізгі ережелері ғылыми-практикалық конференция материалдарында жарияланды: Қазақстан Республикасы Тәуелсіздігінің 30 жылдығына арналған «Сейфуллин оқулары - 17: «Қазіргі заманғы аграрлық ғылым: цифрлық трансформация»» халықаралық ғылыми-теориялық конференциясы, келесі тақырып бойынша: «*Francisella tularensis* генетикалық идентификациясы» (Нұр-Сұлтан, 2021); Ветеринария ғылымдарының докторы, профессор Валентин Иванович Пионтковскийді еске алуға арналған «Қазіргі ауыл шаруашылығы ғылымы мен ветеринарияны дамытудың өзекті мәселелері мен тенденциялары» халықаралық ғылыми-тәжірибелік конференциясы: «Қазақстанда айналымда жүрген *Francisella tularensis* штамдарының генетикалық әртүрлілігі» (Қостанай, 2021).

#### **Зерттеу нәтижелерін жариялау.**

Диссертациялық жұмыс материалдары негізінде үш ғылыми жұмыс жарияланды, оның ішінде Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі Білім және ғылым саласындағы бақылау комитеті ұсынған басылымдарда: Жәңгір хан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университетінің «Ғылым және білім» ғылыми-практикалық журналы (Орал, 2020 ж.), «*Francisella tularensis* штамдарының MLVA типирлеу» әдістемелік ұсыныстары жарияланды ISBN 978-601-332-968-0 (Нұр-Сұлтан, 2020 ж.), Web of Science Core Collection және Scopus дерекқорына енгізілген «Microbiology Resource Announcement» журналында 1 басылым (Q4, 2020), Web of Science Core Collection және Scopus ғылыми журналының дерекқорына енгізілген «PLOS Neglected Tropical Diseases» журналында 1 жарияланым (2021 ж. 1-тоқсан) (Q1, 2021).

**Диссертацияның мемлекеттік бағдарламалармен байланысы.** Зерттеу жұмысы Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі Ғылым комитетінің гранттық қаржыландыру бағдарламасы аясында: «Қазақстандағы сібір жарасы мен туляремия қоздырғыштарының геномдарының молекулалық-генетикалық ерекшеліктерін салыстырмалы талдау» жобасы бойынша жүргізілді, AR05131460, 2018-2020 ж.ж.

**Диссертацияның көлемі мен құрылымы.** Диссертация компьютерлік мәтіннің 123 бетінде ұсынылған және әдебиеттерге шолу, материалдар мен зерттеу әдістері, зерттеу нәтижелері, қорытынды, пайдаланылған әдебиеттер тізімі, 3 қосымшадан тұрады. Пайдаланылған дереккөздер тізімі отандық және шетелдік авторлардың 204 атауынан тұрады. Диссертация жұмысында 12 кесте, 21 сызба бар.