

ЖАНУАРЛАРДЫҢ ПАСТЕРЕЛЛЕЗІНЕ ҚАРСЫ ВАКЦИНАНЫҢ ҚАУІПСІЗДІГІ МЕН ИММУНОГЕНДІЛІГІН ЗЕРТТЕУ

К.Б. Баракбаев , А.Б. Алиева , О.Н. Серикбайов , Д.Б. Айдарбекова ,
Е.Қ. Алмас 

«Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС,
Гвардейский қтк, Қазақстан

*o.orazbek@biosafety.kz; k.barakbayev@biosafety.kz

Аннотация. Мақалада генетикалық аттенуирленген «*P.multocida Aro/A*» пастерелланың В серотипі негізінде жасалған жануарлардың пастереллезіне қарсы спецификалық алдын алуға арналған моно- және поливалентті вакцина нұсқаларының қауіпсіздігі мен иммуногенділігін зерттеу нәтижелері келтірілген.

Пастерелланың В серотипінен дайындалған моновалентті вакцина бұзауларға $2,5 \times 10^8$ колония түзуші бірлік (к.т.б.) дозада, ал қойлар мен ешкілерге $2,5 \times 10^9$ к.т.б. дозада егілді. Құрамында генетикалық аттенуирленген «*P.multocida Aro/A*» және пастерелланың D серотипінің микроб жасушалары тең қатынаста (1:1) алынған поливалентті вакциналық препаратпен бұзаулар мен торайларды $2,5 \times 10^8$ к.т.б. дозада, қойлар мен ешкілерді $2,5 \times 10^9$ к.т.б. дозада вакцинациялады. Вакцинациялаудан кейінгі препараттардың иммуногенділігін анықтау үшін егілген жануарларды 28-ші тәулікте, пастерелланың эпизоотиялық «*P.multocida T88*» штамымен жұқтырды. Жануарларды жұқтыру нәтижесінде, барлық тәжірибелік жануарларда пастереллезге тән белгілер: ауырсыну, денесінде және егу аймақтарындағы қызару мен бөртпелер, әлсіздік, жөтел, дене температураларының жоғарылауы байқалмады.

Жүргізілген зерттеулер нәтижесі пастерелланың «*P.multocida Aro/A*» аттенуирленген штамынан дайындалған моно- және поливалентті вакциналық препараттардың жануарлар үшін қауіпсіздігі және иммуногенділігін анықтады.

Түйін сөздер: пастереллез, штам, вакцина, қауіпсіздік, иммуногенділік.

Кіріспе

Пастереллез (латын, ағылш. *Pasteurellosis*; геморрагиялық септицемия) – ауылшаруашылық және жабайы жануарлардың, терісі бағалы аңдар мен құстардың көптеген түрлерінің өлім-жітімімен сипатталатын жұқпалы ауру [1, 2].

Pasteurella multocida – қозғалмайтын, факультативті анаэробты, грамтеріс, таяқша пішінді бактерия. Жіті пастереллез жануарларда дене температурасының жоғарылауы, тыныс алу жолдарының және ішектің шырышты қабығының геморрагиялық қабынуы, септицемия, ауыз және мұрын қуысынан қанның ағуы, шырышты қабаттардың қызаруы, буындардың ісінуі мен тыныс алудың жиілеу белгілерімен сипатталды, ал созылмалы түрінде - өкпенің ірінді-некротизация қабынуы, көздің, буындардың және сүт бездерінің зақымдануы, сонымен қатар, іштің өтуі салдарынан жануар арықтап, салмақ жоғалту нәтижесінде кахексияға ұшырайды.

Пастереллездің географиялық кең таралуына үй жануарларының барлық түрлерінің бейімділігі, сонымен қоса, көптеген жабайы сүтқоректілер мен құстардың індетті тасымалдауы себеп болады [2].

Пастереллезден туындайтын экономикалық залал - жануарлардың өлім-жітімі, өлген жануарлардың қалдықтарын жою, ауырған жануарларды мәжбүрлі сою және сауықтыру шараларын жүргізуге кететін шығындармен сипатталады. Індеттің таралуы (эпизоотия) кезінде өлім-жітім деңгейі шаруашылықтарда және жабайы жануарлар арасында 10%-дан 100%-ға дейін қамтуы мүмкін [3, 4, 5].

P.multocida капсулалық антигендердің спецификалық түріне байланысты А, В, D, Е және F серотиптерге ажыратылады [6]. Аталмыш серотип өкілдері сезімтал жануарлардың барлық түрлерінде ауру тудыруға қабілетті, бірақ әр серотипке тән жануарлардың бір немесе бірнеше түрі үшін жоғары патогенді. Пастерелланың А типі көбінесе құстарда ауру тудырады, ірі қара

малда, шошқада және буйволдарда сирек кездеседі, В және Е типтері - негізінен ірі қара малда, D серотипі жануарлардың барлық түрлерінде кездеседі [7].

Ашық интернет желісінде жарияланған мәліметтерге сүйенсек, 2015 жылы Республикамыздың Қостанай, Ақтөбе, Ақмола облыстарында ақбөкендер арасында пастерелла індеті таралып, нәтижесінде 150 044 бас ақбөкен қырылды. Індеттің таралуын зерттеу бойынша жергілікті және шет елдік ғылыми зерттеу институттары, мемлекеттік ветеринарлық зертханалар және бірқатар мемлекеттік органдар жұмылдырылып, еліміздің Ауылшаруашылық министрінің бұйрығымен арнайы жұмыс тобы құрылған. Республикамыздағы биологиялық қауіпсіздік бойынша жетекші институт Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми зерттеу институты «Ақбөкендердің өлу себептерін анықтау бойынша кешенді мониторинг жүргізу және оның тәуекелін төмендету бойынша шаралар әзірлеу 2015-2017» жобасы аясында індеттің қоздырғышын, географиялық таралу аймағын, өлім-жітім санын және профилактикалық, сауықтыруға бағытталған зерттеу жұмыстарын жүзеге асырды [8]. Сонымен қатар, 2012-2021 жылдар аралығында ірі қара малдар арасында Батыс және Шығыс Қазақстан облыстарында пастереллездің 36-37 ошағы тіркелген, сөйтіп бұл облыстар пастереллез індетінің жоғары таралу аймағына жатқызылды. Ал, Атырау, Ақтөбе, Алматы, Қарағанды, Жамбыл және Қостанай облыстары індеттің орташа таралу аймағына жатады, яғни пастереллездің 6-20 ошағы тіркелген. Қызылорда, Ақмола және Павлодар облыстарында 1-5 індет ошағы тіркеліп, індеттің төменгі таралу аймағына жатқызылған. Індет ошақтары тіркелмеген облыстар олар Маңғыстау, Солтүстік Қазақстан және Түркістан облыстары [9].

Қазіргі таңда пастереллезге қарсы профилактикалық жұмыстарға бағытталған спецификалық күресу кешені ретінде *P.multocida* изоляттарының белсенділігі төмендетілген, яғни инактивтелген адьювантты вакциналарды қолдану маңызды орын алуда. Алайда, бұл вакциналар - қысқа мерзімді иммунитет тудырып (шамамен 5-6 айға дейін) және жетік қорғаныс әсеріне қатысты ревакцинациялау қажеттілігімен сипатталады. Препараттың бұл түрі тек гемологиялық серотиптерді қорғайтыны атап өтілген [Ошибка! Источник ссылки не найден.].

Шет елдік басылымдарда жарияланған көптеген зерттеу жұмыстарында генетикалық аттенуирленген вакциналық препараттар сынақтардан сәтті өткен. Кері генетикалық әдіс арқылы «*P. multocida* Aro/A» гені бөлініп алынған жоғары патогенді штаммдардың вируленттілігі төмендеп, вакцина ретінде пайдалануға болатындығы лабораториялық модельдерде: тышқандар, қояндарда, ауылшаруашылық жануарында: ірі қара малдарда зерттелген. Зерттеу нәтижесінде «*P. multocida* Aro/A» мутантты штаммдарымен вакцинациялау гомологиялық және гетерологиялық инфекцияға қарсы иммунитет түзетіндігі анықталған [12-14].

Аталған деректерге сүйене отырып, жұмыстың мақсаты кері генетикалық әдіспен аттенуирленген «*P.multocida* Aro/A» штамы негізінде жануарлардың пастереллезіне қарсы моновалентті және поливалентті вакцина нұсқаларының қауіпсіздігі мен иммуногенділігін зерттеу болып табылады.

Зерттеу материалдары мен тәсілдері

Штамдар: P.multocida Aro/A (коллекциялық номері №0050/L) – індеттің спецификалық алдын алуға арналған кері генетикалық әдіспен аттенуирленген вакциналық штам. Штамның патогенділік деңгейі ақ тышқандарда зерттелген және патогенділік қасиеті ең аз көрсеткішке ие ($4,5 \pm 0,4 \times 10^8$ MLD₅₀) мутант ретінде таңдап алынған.

P.multocida T88 (коллекциялық номері №447) - моновалентті және поливалентті вакциналардың иммуногенділігін зерттеу үшін Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми зерттеу институты (БҚПҒЗИ) микроорганизмдер коллекциясы зертханасынан алынған, жоғары вирулентті жұқтыруға арналған штам.

P.multocida-ның D серотипі – поливалентті вакцина дайындау үшін БҚПҒЗИ микроорганизмдер коллекциясы зертханасынан алынды.

Жануарлар мен жануарлар биоэтикасы. Моно- және поливалентті вакциналық препараттардың қауіпсіздігі мен иммуногенділігін анықтау 6-12 айлық, тірі салмағы шамамен 25-30 кг болатын қойлар мен ешкілер, 160-180 кг салмақ көрсеткіштерімен 10-12 айлық бұзаулар, 35-40 кг салмақтық көрсеткішпен 5 айлық торайларға жүргізілді.

Жануарлармен жүргізілетін барлық тәжірибелер «Жануарларға жауапкершілікпен қарау туралы» Заңға (Қазақстан Республикасының 2017 жылғы 11 желтоқсандағы № 97-VII ҚР Заңы)

және тиісті нұсқаулықтарға сәйкес жүргізілді. Жануарларға жасалған эксперименттер зертханалық жануарлармен жұмыс жасау биоэтикалық талаптары негізінде жүзеге асырылды. Эксперимент талаптары мен жоспарлары жергілікті БҚПФЗИ-ның биоэтика жөніндегі комиссиясымен бекітілген.

Моно- және поливалентті вакциналық препараттарды дайындау. Пастерелланың таза өсіндісін алу үшін асептикалық жағдайда жүрек ми сығындысының ағары (ЖМСА) және жүрек ми сығындысының сорпасы (ЖМСС) қоректік орталарында пастерелла штамдары себіліп, $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ температуралы термостатта 18-24 сағат бойы инкубацияланады. Бактериологиялық стерильдікті анықтау үшін қоректік ортаға себілген өсінділердің бөгде микрофлоралардың өсуін немесе өспеуін анықтау әдістемесі қолданылады. Өскен өсінділерден жағынды алынып, батыру майының көмегімен дайындалған жағынды оттықтың жалынының үстінде кептіріліп, бекітіледі. Содан кейін Грам әдісі арқылы боялып, иммерсия майының көмегімен микроскоппен қарау арқылы өсінділердің пастерелла өсіндісі немесе бөгде микроағзалар екендігі анықталады.

Генетикалық әдіспен аттенуирленген «*P.multocida Aro/A*» штамынан моновалентті вакциналық препаратты дайындау үшін *P.multocida*-ның тек В серотипі қатысымен жекеленіп өскен колониялардан тұратын микроб жасушалары пайдаланылады. Ресей Федерациясы Л.А. Тарасевич атындағы Медициналық препараттарды стандарттау және бақылау мемлекеттік ғылыми-зерттеу институты ұсынған бұлыңғырлық стандарты (10 бірл., 850 млн/мл ішек таяқшалары) көмегімен әр түрлі дозада егу сұйықтықтары дайындалады.

Генетикалық аттенуирленген «*P.multocida Aro/A*» В серотипі және пастерелланың D серотипінің тең қатынасынан тұратын поливалентті вакциналық препараттың нұсқасы дайындалды.

Вакциналық препараттардың қауіпсіздігін зерттеу. Нысаналы жануарлар моновалентті вакциналық препараттың қауіпсіздігі мен иммуногенділігін зерттеу үшін 3 топқа бөлінді, ал поливалентті вакциналық препаратты зерттеу үшін 4 топқа бөлінді. Әр түр жануарынан 6 бастан алынды. Бірінші және екінші топ жануарлары қойлар мен ешкілерден, үшінші топ бұзаулардан, ал төртінші топ торайлардан тұрды. Иммундеуші вакциналық препарат жануарлардың мойын бөлігінің ортаңғы аймағының тері астына қойлар мен ешкілерге $2,5 \times 10^9$ к.т.б., бұзауларға $2,5 \times 10^8$ к.т.б., және торайларға артқы шап аймағының тері астына $2,5 \times 10^8$ к.т.б. дозасы $1,5 \text{ см}^3$ көлемде егілді.

Вакциналық препараттардың иммуногенділігін зерттеу. Пастерелланың «*P.multocida Aro/A*» штамы негізінде дайындалған моновалентті вакциналық препаратпен имундалған жануарлардың протективті иммундық жауабын анықтау мақсатында, әр топ жануарынан 6 бастан алынып, иммунизациялаудың 28 тәулігінде «*P.multocida T88*» эпизоотиялық штамы қойлар мен ешкілерге жауырынның түксіз төменгі бөлігінің тері астына $1,5 \text{ см}^3$ көлемдегі препараттың $3,5 \times 10^{10}$ к.т.б. дозасы, бұзауларға екі бірдей жамбас бұлшықеті ішіне $0,5 \text{ см}^3$ көлемдегі препараттың $5,0 \times 10^4$ MLD₅₀ (минималды өлтіруші доза) дозасы жұқтырылды. Вакциналық препаратты енгізгеннен кейін эпизоотиялық штамды жұқтыруға дейінгі аралықтарда (7, 14, 21, 28 тәуліктерде) имундалған жануарлардан алынған қан сынамалары *иммуноферменттік талдау реакциясында тексерілді.*

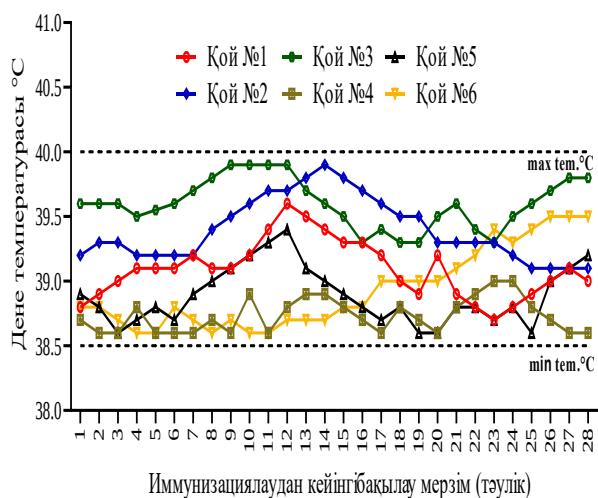
Поливалентті вакциналық препаратпен имундалған жануарларға аналогиялық зерттеулер жүргізілді. Торайларға жамбас бұлшық етінің ішкі бөлігі тері астына $3,5 \text{ см}^3$ көлемінде $3,7 \times 10^7$ к.т.б. дозасы енгізілді. Бақылау тобы ретінде әр түр жануарлардан 1 бастан физиологиялық ерітінді егілді. Тәжірибенің 28-шы күні поливалентті вакциналық препаратпен имундалған жануарларға, сондай-ақ, бақылау жануарларына эпизоотиялық штам «*P.multocida T88*» енгізілді. Қойлар мен ешкілерге жауырынның түксіз төменгі бөлігінің тері астына $1,5 \text{ см}^3$ көлемдегі препараттың $3,5 \times 10^{10}$ к.т.б. дозасы, ал бұзауларға екі бірдей жамбас бұлшықеті ішіне $0,5 \text{ см}^3$ көлемдегі препараттың $5,0 \times 10^4$ MLD₅₀ дозасы жұқтырылды.

Деректерді статистикалық өңдеу. Тәжірибе барысында алынған статистикалық нәтижелер Microsoft Office пакетінің Excel бағдарламасының, GraphPad Prism v.8.0.1 бағдарламасының көмегімен талданды. Мұндағы X осі - бақылау күндері; Y осі - жануарлардың дене температурасының өзгерісі ($^\circ\text{C}$) көрсетілді. Сонымен қатар, X осі - бақылау күндері; Y осі - жануарларда жинақталған антиденелер титрінің көрсеткіштері вертикальды және горизонтальды кеңістіктерде көрсетілді.

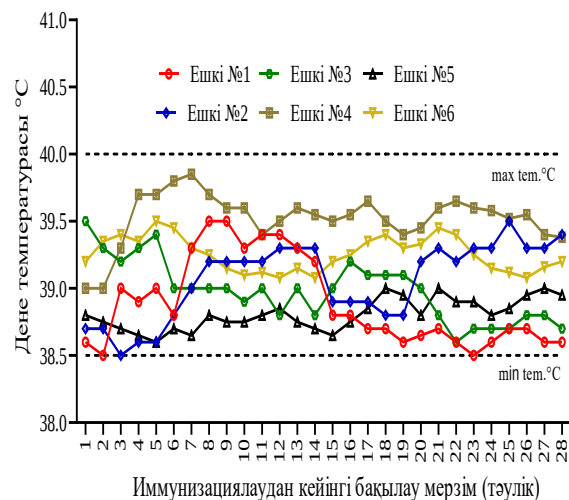
Зерттеу нәтижелері және талқылау

Пастереллезге қарсы вакцинаның алынған нұсқаларының қауіпсіздігі мен иммуногенділігі бойынша зерттеулер қатар жүргізілді.

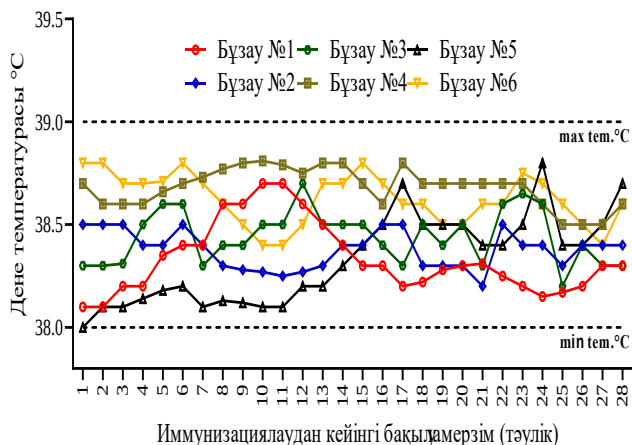
Зерттеу барысында күнделікті (28 тәулікке дейін) дене температурасы өлшеніп, жануарлардың жалпы жағдайы бақылауда болды. Зерттеу нәтижелері 1 және 2 графикте көрсетілген.



А

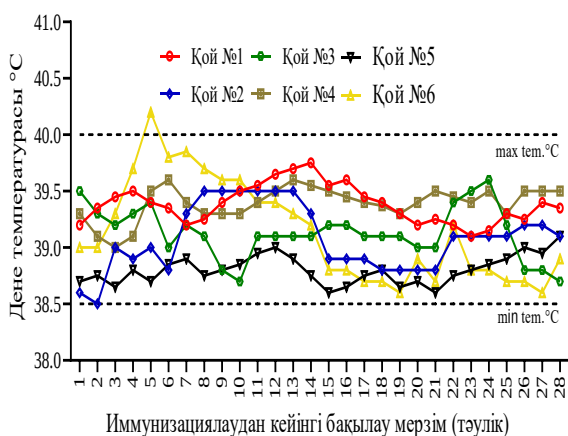


Ә

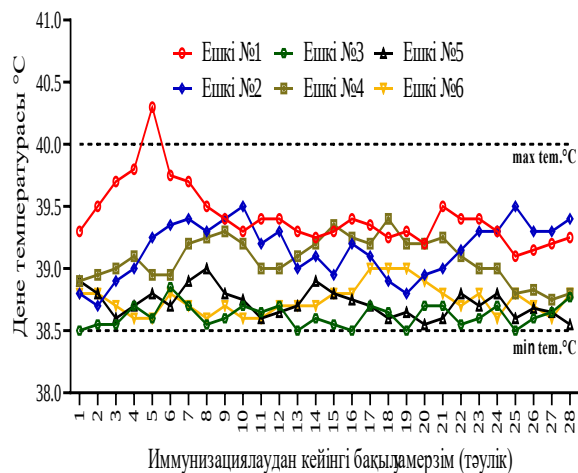


Б

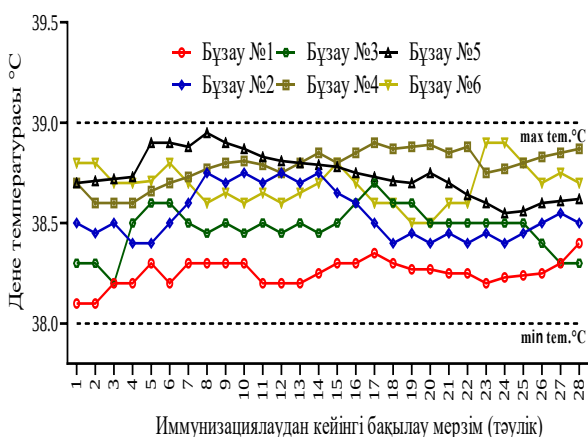
График 1 - Моновалентті препаратпен имундалған жануарлардың дене температурасын бақылау нәтижелері (А – иммунизацияланған қойлар; Ә - иммунизацияланған ешкілер; Б - иммунизацияланған бұзаулар)



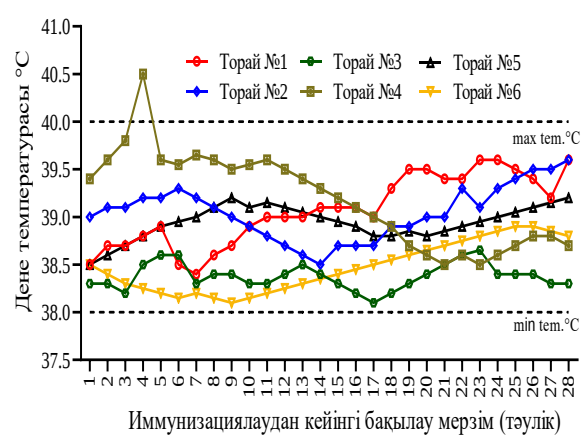
А



Ә



Б



В

График 2 - Поливалентті препаратпен имундалған жануарлардың дене температурасын бақылау нәтижелері (А – иммунизацияланған Ұойлар, Ә - иммунизацияланған ешкілер, Б - иммунизацияланған бұзаулар, В – иммунизацияланған торайлар)

1 және 2 графикте көрсетілген нәтижелерге сәйкес, вакциналық препараттармен имундаған жануарлардың дене температурасы қалыпты көрсеткіштерден асқан жоқ. Иммунизациядан кейінгі күнделікті бақылау нәтижесінде пастереллез ауруына тән клиникалық белгілер мен енгізу жасалған аймақтардағы тері қабатында өзгерістер (қызару, ісіну) байқалмады. Сондай-ақ, жануарлардың қалыпты күйден ауытқу белгілері (әлсіздік, жемнен бастарту, тыныс алу жиілігінің артуы) анықталмады. Дегенмен, поливалентті вакцина нұсқасымен имундаған реттік нөмірлері бойынша №6 Ұойдың, №1 ешкінің және №4 торайдың 4-5-ші тәулікте дене температуралары аздап жоғарылап, бақылаудың 6-7-ші тәулігінде қалыпқа келді. Осының нәтижелері вакциналық препараттардың нысаналы жануарларға қауіпсіз екендігін растайды.

Иммунизациялау кезеңінде (7, 14, 21, 28 тәуліктер) нысаналы жануарлардан қан сарысуы алынып, иммуноферменттік талдау реакциясы арқылы антиденелер титрі анықталды. Зерттеу нәтижелері 3 және 4 графиктерде көрсетілген.

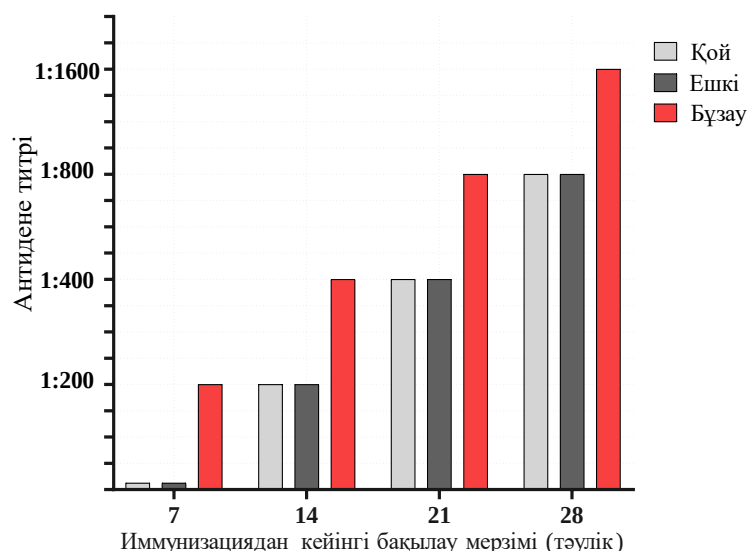


График 3 - Моновалентті вакциналық препаратпен иммундалған жануарлардың иммуноферменттік талдау реакциясындағы антиденелер титрінің көрсеткіштері

3-графикте көрсетілген нәтижелерге сәйкес, иммунизациялаудың 7-ші күні қойлармен ешкілерден алынған қан сынамаларында ауруға қарсы антиденелер анықталмаған, ал бұзауларда антиденелердің титрі 1:200 деңгейінде тіркелді. Иммунизациялаудың 14-ші күні қойлар мен ешкілерде антиденелердің титрі 1:200-ге, ал бұзауларда 1:400-ге дейін көтерілді. 21-ші күні қойлар, ешкілер және бұзауларда антиденелер титрі 2 есеге артып, сәйкесінше 1:400, 1:800 деңгейіне жетті. Зерттеудің 28-шы күні қойлар мен ешкілерде антиденелер титрі 1:800, ал бұзауларда 1:1600 деңгейінде тіркелді.

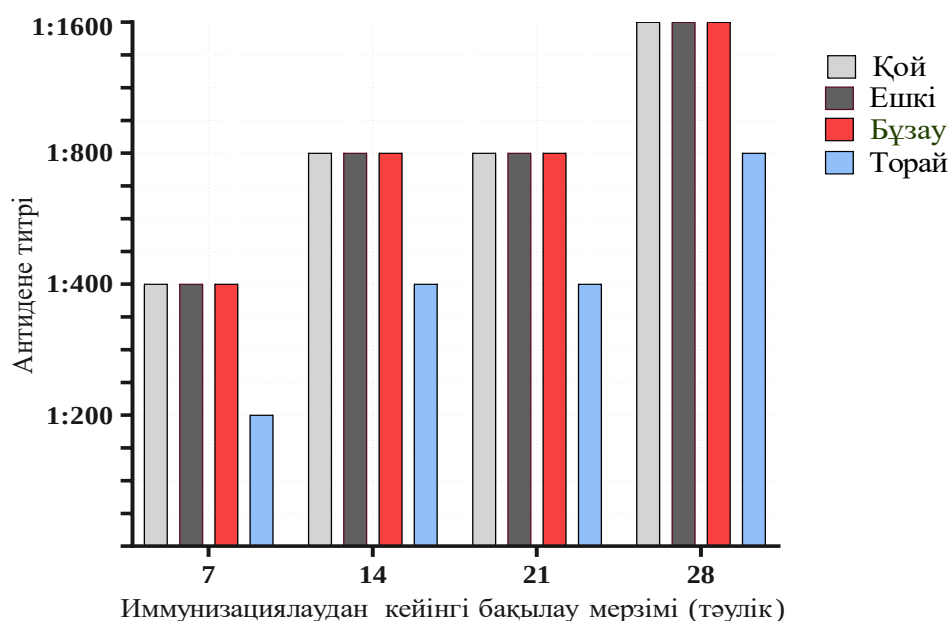
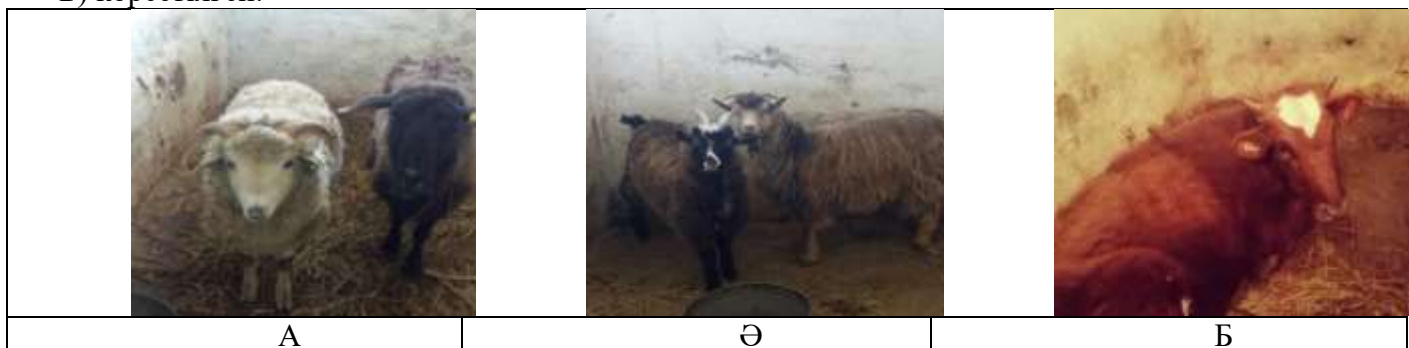


График 4 - Поливалентті вакциналық препаратпен иммундалған жануарлардың иммуноферменттік талдау реакциясындағы антиденелер титрінің көрсеткіштері

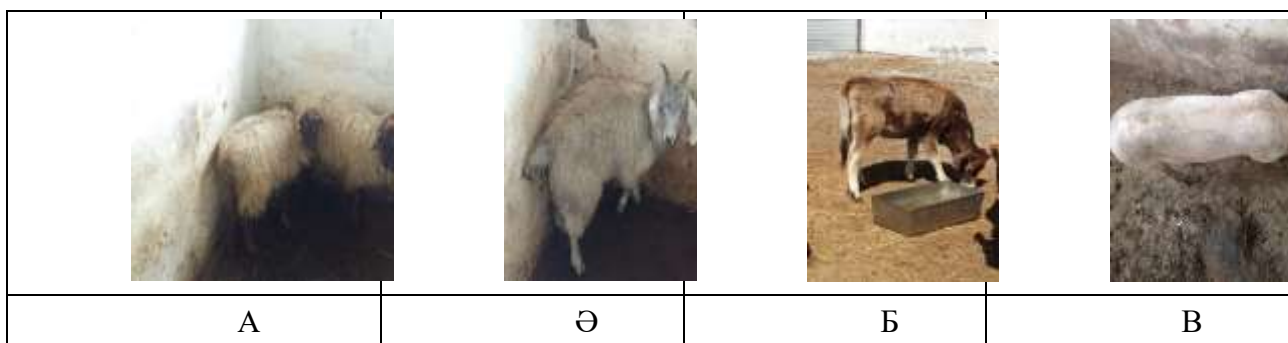
Поливалентті вакциналық препаратпен иммундалған қойлар, ешкілер және бұзауларда иммунизациялаудың 7-ші тәулігінде антиденелер титрі 1:400 көрсетілсе, торайларда 1:1200 титрі тіркелді. Зерттеудің 14 және 21 тәуліктерінде ұсақ және ірі қара малдарда антиденелер титрі

1:400 ден 1:800 жоғарылады, ал торайларда 1:400 титр деңгейінде қалды. 28-шы тәулікте бұл көрсеткіштер 2 есе артып, қойлар, ешкілер және бұзауларда 1:1600 титр, торайларда 1:800 титр көрсеткіштері тіркелді.

Антиденелер титрінің жоғары көрсеткіштері анықталған 28-ші тәулікте барлық нысаналы және бақылау жануарлары «*P.multocida T88*» эпизоотиялық штамымен жұқтырылды. Моновалентті вакцинамен имундалған тәжірибелік жануарларда жұқтырудан кейін 14 тәулік бойы пастереллезге тән клиникалық белгілер байқалмады. Зерттеу нәтижелері 1-суретте (А, Ә, Б) көрсетілген.



Сурет 1 – Моновалентті вакциналық препаратпен имундалып, «*P.multocida T88*» эпизоотиялық штамымен жұқтырылған жануарлар



Сурет 2 –Поливалентті вакциналық препаратпен имундалып, «*P.multocida T88*» эпизоотиялық штаммымен жұқтырылған жануарлар



Сурет 3 – «*P.multocida T88*» эпизоотиялық штамы жұқтырылған бақылау жануарлары

1 және 2 суретте көрсетілгендей, моно- және поливалентті вакцина нұсқаларымен имундалған жануарларда эпизоотиялық штамға қарсы иммунитеттің қалыптасқанын растайды. Жұқтырудан кейін жануарларда дене температурасының жоғарылауы, әлсіздік, жемнен бас тарту сияқты ауру белгілерінің байқалмауы вакциналардың тиімділігін көрсетеді.

Керісінше, бақылау жануарлары жұқтырылғаннан кейін 10-12 сағаттан соң дене температурасының көтерілуі, тыныс алудың қиындауы, жөтелу, сонымен қатар ауыз және мұрын қуыстарынан көбік аралас ірінді бөліндінің ағып кетуі сияқты белгілер анықталды. Жұқтырудан 15-18 сағат өткен соң қан аралас диарея белгілері байқалды, ал 24-26 сағаттан кейін бақылау жануарлары пастереллезге тән белгілермен өлді (3-ші сурет).

Пастереллез қоздырғышы жануардың немесе құстың бір түрінен екінші түріне көшіп, олардың денесінде тамыр алып, оларға қауіпті ауруларды тудыратын қасиетке ие. Пастереллез

індетінің ауруының жыл сайынғы тіркелуі осы ауруға қатысты эпизоотиялық және эпидемиялық жағдайдың шиеленіскенін көрсетеді. [14-22].

Пастереллездің алдын алу саласындағы зерттеулердің қазіргі кезеңінде генетикалық әлсіреген пастерелла штамдарын пайдалану ең озық технологиялар болып табылады [21, 22]. Ирандық ғалымдардың зерттеулерінде Mohammad Tabatabaei, G. R. Moazzeni, A. R. Jabbari and M. Esmailzadeh генетикалық аттенуирленген *P.multocida* Aro/A *serotun* B:2 штаммы вакциналық препарат ретінде сыналған. Зерттеу нәтижелері бойынша аттенуирленген штам індетке қарсы күресуге жеткілікті иммунитет көрсеткен [23].

Pallab Chaudhuri et al. [12] зерттеуінде генетикалық аттенуирленген *P.multocida* P52/Aro *serotun* B:2 вакциналық препараты 18 бас қояндарға (1×10^8 к.т.б.) 3 апталық интервалмен бірдей дозада екі рет вакциналанған. Иммундалған қояндарға 30, 60, 90 тәуліктен кейін эпизоотиялық штам жұқтырғанда: 30-шы тәулікте иммундалған 6 қоянда ауруға төзімді болған, 60-шы тәулікте иммундалған 6 қоянның біреуі өлген, 90-тәулікте барлық иммундалған қояндар (6) эпизоотиялық штамға төзімділік көрсеткен. Әр жұқтыру кезінде бақылауға алынған қояндар 48-72 сағатта өлген. Аталмыш зерттеудің авторлары *P.multocida* P52/Aro вакцинасының қауіпсіздігімен иммуногенділігін зерттеуде қоянды лабораториялық жануар моделі ретінде ұсынған және P52/Aro препаратты геморрагиялық септицемияға қарсы күресуге кандидатты вакцина ретінде таңдаған.

Біздің зерттеулерімізде моно- және поливалентті вакцина нұсқаларының қауіпсіздігі және иммуногенділігі зерттеу үшін таңдалған келесі дозалар: бұзаулар мен торайлар үшін $2,5 \times 10^8$ к.т.б. дозасы, қойлар мен ешкілер үшін $2,5 \times 10^9$ к.т.б. дозасы иммундау үшін тиімділігі анықталды. Иммундалған нысаналы жануарлар эпизоотиялық штамға төзімділік көрсетті және бұл жануарлар бақылау штаммы жұқтырылғаннан кейін 14 тәулік бақылауда ұстау кезінде жануарларда физиологиялық ауытқулар байқалмады.

Қорытынды

Зерттеу нәтижелерін талдай келе, генетикалық аттенуирленген *Pasteurella multocida*/AroA штаммынан әзірленген моновалентті және *Pasteurella multocida*/AroA штаммы мен Д серотипі негізінде әзірленген поливалентті вакциналық препараттардың қойлар, ешкілер, бұзаулар және торайлар үшін қауіпсіздігі расталды. Зерттеу барысында вакциналардың енгізілген дозалары (қойлар мен ешкілер үшін $2,5 \times 10^9$ к.т.б., бұзаулар мен торайлар үшін $2,5 \times 10^8$ к.т.б.) жануарлардың қалыпты физиологиялық жағдайларына теріс әсер етпей, жануарларда клиникалық белгілердің пайда болуына жол бермеді. Иммунизациядан кейін нысаналы жануарларда «*P.multocida* T88» эпизоотиялық штаммына қарсы иммунитеттің қалыптасуы байқалды, бұл вакциналардың тиімділігін көрсетеді.

Қолданылған әдебиеттер

1. Мека-Меченко В.Г., Некрасова Л.Е., Мека-Меченко Т.В., Лухнова Л.Ю., Куница Т.Н., Избанова У.А., Бегимбаева Э.Ж. Пастереллез животных в Республике Казахстан // Вестник КазНУ. – 2014. - № 40. Б. 156-159.
2. Сайдұлдин Т. Индеттану және жануарлардың жұқпалы аурулары Алматы – 2009. – 206 б.
3. Намет А.М. Иммунопрофилактика пастереллеза лошадей: автореф Алматы – 2006. – 3 б.
4. Кожаяев А.Н. Поливалентная вакцина против пастереллеза сельскохозяйственных животных // Алматы – 2008. – 3 б.
5. Борисенкова А.Н. Рекомендации по диагностике, профилактике и мерам борьбы с пастереллезом птиц: технологические процессы // Госагропром СССР. – 1986. – 25 б.
6. Rimler, R. B. & Rhoades, K. R. *Pasteurella multocida*. In *Pasteurella and Pasteurellosis* // Academic Press. London. – Б. 37-73
7. Осидзе Д.Ф. Инфекционные болезни животных // Москва, – 1987. – 188 с.
8. Гибель сайгаков в Костанайской, Актюбинской и Акмолинской областях [Электрон.ресурс] [https://www.cms.int/saiga/sites/default/files/document/1.%20TW%2026.10_Abdrahmanov %20Overview%20of%20the%202015%20saiga%20mass%20mortality%20event%20in%20Kazakhstan.pdf](https://www.cms.int/saiga/sites/default/files/document/1.%20TW%2026.10_Abdrahmanov%20Overview%20of%20the%202015%20saiga%20mass%20mortality%20event%20in%20Kazakhstan.pdf)

9. З.А. Латыпова, А.М. Намет, Б.Ж. Исакулова, З.К. Буйенбаева, Р.А. Керимбаева
Зонирование территории республики казахстан по степени распространения заболевания пастереллёзом среди крупного рогатого скота // Микробиология және вирусология. – 2022 г. – Б. 55-63 DOI:10.53729/MV-AS.2022.03.04.
10. Евтыхова Е.Б., Мукантаев К.Н., Турсунов К., Сытник И.И., Карибаев Т.Б., Хасенов Б.Б., Шустов А.Б. Метод выделения ДНК и тест-система ПЦР в реальном времени для диагностики лейкоза крупного рогатого скота // Биотехнология. Теория и практика. – 2012. -№ 2. – Б. 78–84.
11. Далбаев Н.К., Кайсенов Д.Н., Султанкулова К.Т., Тайлакова Э.Т., Червякова О.В, Алиева А.Б., Абсатова Ж.С., Баракбаев К.Б. Получение генетически аттенуированного AroA мутантного штамма *Pasteurella multocida*. // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2020. – № 3.
12. Pallab Chaudhuri, V.P.Singh, A Thamizharasan, Jonathan Lalsiamthara. *Pasteurella multocida* P52 aroA mutant conferred protection to rabbits and mice against haemorrhagic septicemia // DHR International Journal of Biomedical and Life Sciences. – 2012. – Б 2278-8301.
13. Saleem L., Munir R., Ferrari G., Afzal M., Chaudhary F.R. Efficacy and cross protection of live intranasal aerosol hemorrhagic septicemia vaccine in buffalo calves. // International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. – 2014. - № 3. – Б. 300–307.
14. Mohammad Tabatabaei, G. R. Moazzeni Jula, A. R. Jabbari and M. Esmailzadeh. Vaccine efficacy in cattle against hemorrhagic septicemia with live attenuated *aroA* mutant of *Pasteurella multocida* B:2 strain. // Journal of Cell and Animal Biology – 2007. - № (4). – Б. 062-065.
15. Verta N.D. *P.multocida* B:2 in haemorrhagic septicemia outbreak in pigs in India // Vet.Res. – 1988. - № 123. – Б. 63-69.
16. Dwived P.N., Sodhi S.S. Isolation and serotyping of *P.multocida* from Punjab // Indian J.anamsc. – 1989. -№59. – Б. 545-547.
17. Carter G.R. Identification of antigenic characteristics and colonial variants // Vet.Res. – 1957. - №18. – Б. 210-213.
18. Hummel P.H. Isolation of *P.multocida* Carter type E in Tanzania // Vet.Rec. – 1970. - № 86. – Б. 42-43.
19. Voigts A., Ngaisiue G., HentonM.M., Hubschle O.J.B. Hemorrhagic septicemia due to *Pasteurella multocida* type B 2 in Namibia // Trop anim health prod. – 1997. - № 29 (4). – Б. 247-248.
20. Hill B.D., Jonhson R.B. *P.multocida* septicemia in two calves // Aust.Vet.J. – 1992. - № 69. – Б. 197-198.
21. Blackball P.J., Fegan N., Chew G.T.I., Hampson D.J. Population structure and diversity of avian isolates of *Pasteurella multocida* from Australia // Microbiol. Reading. – 1998. - № 144. – Б. 279-289.
22. Hoiseth S.K., Stocker B.A. Aromatic-dependent *Salmonella typhimurium* are non-virulent and effective as live vaccines // Nature. – 1981. – Б. 238-239.
23. Scott P.C., Markham J.F., Whithear K.G. Safety and efficacy of two live *Pasteurella multocida* aroA mutant vaccines in chickens // Avian Dis. – 1999. - № 43. – Б. 83-88.

ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ И ИММУНОГЕННОСТИ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

Баракбаев К.Б. , Алиева А.Б. , Серикбайов О.Н. , Айдарбекова Д.Б. , Алмас Е.К. 

ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности»,
пгт Гвардейский, Казахстан

* o.orazbek@biosafety.kz; k.barakbayev@biosafety.kz

Аннотация. В статье приведены результаты исследования безопасности и иммуногенности моно- и поливалентных вакцин, предназначенных для специфической профилактики пастереллеза у животных, на основе генетически аттенуированного штамма пастереллы «*P. multocida* Aro/A» серотипа В.

Моновалентная вакцина, приготовленная на основе серотипа В пастереллы, была введена телятам в дозе $2,5 \times 10^8$ КОЕ (колониеобразующих единиц), овцам и козам — $2,5 \times 10^9$ КОЕ. Поливалентная вакцина, содержащая генетически аттенуированный штамм «*P. multocida* Aro/A» и микробные клетки пастереллы серотипа D в равных пропорциях (1:1), была введена телятам и поросятам в дозе $2,5 \times 10^8$ КОЕ, овцам и козам — $2,5 \times 10^9$ КОЕ. Для оценки иммуногенности препаратов животные были заражены эпизоотическим штаммом пастереллы «*P. multocida* T88» на 28-й день после вакцинации. В результате заражения у всех опытных животных не было отмечено признаков пастереллеза: боли, покраснения и сыпи в области тела и инъекций, слабости, кашля и повышения температуры тела.

Результаты проведенных исследований подтверждают безопасность и иммуногенность моно- и поливалентных вакцин, приготовленных на основе аттенуированного штамма пастереллы «*P. multocida* Aro/A» для животных.

Ключевые слова: пастереллез, штамм, вакцина, безопасность, иммуногенность.

STUDY OF SAFETY AND IMMUNOGENICITY OF ANIMAL PASTEURELLOSIS VACCINE

Barakbayev K.B. , Alieva A.B. , Serikbayov O.N. , Aidarbekova D.B. ,
Almas E.K. 

«Scientific Research Institute of Biological Safety Problems» LLP, Gvardeysky, Kazakhstan

* o.orazbek@biosafety.kz; k.barakbayev@biosafety.kz

Abstract. The article presents the results of a study on the safety and immunogenicity of mono- and polyvalent vaccines designed for the specific prevention of pasteurellosis in animals, based on the genetically attenuated strain of *P. multocida* Aro/A serotype B.

The monovalent vaccine, made from *P. multocida* serotype B, was administered to calves in a dose of 2.5×10^8 CFU (colony-forming units), and to sheep and goats in a dose of 2.5×10^9 CFU. The polyvalent vaccine, containing a genetically attenuated strain of *P. multocida* Aro/A and microbial cells of *P. multocida* serotype D in equal proportions (1:1), was administered to calves and piglets in a dose of 2.5×10^8 CFU, and to sheep and goats in a dose of 2.5×10^9 CFU.

To evaluate the immunogenicity of the vaccines, animals were infected with the epizootic strain of *P. multocida* T88 on the 28th day after vaccination. Following infection, no signs of pasteurellosis were observed in any of the experimental animals: there were no indications of pain, redness or rashes at the body and injection sites, weakness, coughing, or elevated body temperature.

The results of the conducted studies confirm the safety and immunogenicity of the mono- and polyvalent vaccines prepared from the attenuated strain of *P. multocida* Aro/A for animals.

Key words: pasteurellosis, strain, vaccine, safety, immunogenicity.