

eISSN 2957-5702

ҒЫЛЫМИ ЖУРНАЛ

БИОҚАУІПСІЗДІК ЖӘНЕ БИОТЕХНОЛОГИЯ

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

**БИОБЕЗОПАСНОСТЬ
И БИОТЕХНОЛОГИЯ**



THE SCIENTIFIC JOURNAL

**BIOSAFETY AND
BIOTECHNOLOGY**

www.biosafety.kz

2023•16
25.12.23



Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау
министрлігі
«Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының
ғылыми-зерттеу институты»
шаруашылық жүргізу құқығындағы
республикалық мемлекеттік кәсіпорыны

Республиканское государственное предприятие
на праве хозяйственного ведения
«Научно-исследовательский институт проблем
биологической безопасности»
Министерство здравоохранения Республики
Казахстан

The Republican Government Enterprise on the
basis of economic control rights
«Research Institute for Biological Safety Problems»
Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan

Ғылыми журнал
**БИОҚАУІПСІЗДІК ЖӘНЕ
БИОТЕХНОЛОГИЯ**

Научный журнал
**БИОБЕЗОПАСНОСТЬ И
БИОТЕХНОЛОГИЯ**

The scientific journal
BIOSAFETY AND BIOTECHNOLOGY

2020 ЖЫЛДАН ШЫҒА БАСТАҒАН
ИЗДАЕТСЯ С 2020 ГОДА
PUBLISHED SINCE 2020

Бас редакторы

Захарья К.Д., б.ғ.д., профессор, Ресей жаратылыстану ғылымдары академиясының академигі, *h-index: WoS – 5, Scopus – 6*, Қазақстан Республикасы Президентінің ғылым және инновациялар мәселелері жөніндегі кеңесшісі (Қазақстан)

Бас редакторының орынбасары

Абдураимов Е.О., в.ғ.д., профессор, *h-index: WoS – 5, Scopus – 6*, «QazBioPharm» ұлттық холдингі» АҚ (Қазақстан)

Редакция алқасы:

Биологиялық қауіпсіздік және биологиялық қорғау

Faez Awad, PhD (Ветеринария), *h-index: Scopus – 3*, Эпидемиология және халық денсаулығы бөлімі (Ливия)
Орынбаев М.Б., в.ғ.к., профессор, ҚР ҰҒА корр.-мүшесі, *h-index: WoS – 10, Scopus – 10*, Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ҒЗИ (Қазақстан)

Айтназаров Р.Б., PhD (Биология), *h-index: WoS – 6, Scopus – 6*, Ресей ғылым академиясының Сібір бөлімшесі, Цитология және генетика институты (Ресей)

Сұлтанқұлова К.Т., б.ғ.к., профессор, *h-index: WoS – 8, Scopus – 9*, Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ҒЗИ (Қазақстан)

Кутумбетов Л.Б., в.ғ.д., профессор, *h-index: WoS – 8, Scopus – 9*, Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ҒЗИ (Қазақстан)

Микробиология

Еспембетов Б.А., PhD (Ветеринария), профессор, *h-index: WoS – 6, Scopus – 6*, Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ҒЗИ (Қазақстан)

Жүгінісов Қ.Д., PhD (Биотехнология), *h-index: WoS – 4, Scopus – 5*, Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ҒЗИ (Қазақстан)

Нұрғазиев Р.З., в.ғ.д., профессор, *h-index: Scopus – 4*, К.И.Скрябин атындағы Қырғыз ұлттық аграрлық университеті (Қырғызстан)

Булатов Е.А., б.ғ.к., профессор, *h-index: WoS – 4, Scopus – 4*, Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ҒЗИ (Қазақстан)

Медициналық және ветеринариялық биотехнология

Risatti G., PhD (Ветеринария), профессор, *h-index: WoS – 29, Scopus – 29*, Коннектикут университеті (АҚШ)

Қошеметов Ж.Қ., б.ғ.д., профессор, *h-index: WoS – 2, Scopus – 4*, Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ҒЗИ (Қазақстан)

Gorge O., PhD (Медицина), *h-index: WoS – 5, Scopus – 5*, Қарулы Күштердің биомедициналық ғылыми-зерттеу институты (Франция)

Айқымбаев А.М., м.ғ.д., профессор, *h-index: WoS – 7, Scopus – 7*, М. Айқымбаев атындағы аса қауіпті инфекциялар Ұлттық ғылыми орталығы (Қазақстан)

Червякова О.В., б.ғ.к., профессор, *h-index: WoS – 5, Scopus – 6*, Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ҒЗИ (Қазақстан)

Стукова М.А., PhD (Медицина), *h-index: WoS – 10, Scopus – 11*, А.А.Сморodinцев атындағы тұмау ғылыми-зерттеу институты (Ресей)

Наханов А.Қ., б.ғ.к., *h-index: WoS – 4, Scopus – 5*, Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ҒЗИ (Қазақстан)

Фитопатология және өсімдіктер биотехнологиясы

Рсалиев А.С., PhD (Ауыл шаруашылығы), профессор, *h-index: WoS – 6, Scopus – 8*, «QazBioPharm» ұлттық холдингі» АҚ (Қазақстан)

Гультяева Е.И., б.ғ.д., доцент, *h-index: WoS – 9, Scopus – 11*, Бүкілресейлік өсімдіктерді қорғау ғылыми-зерттеу институты (Ресей)

Корректор: **Әмірханова Н.Т.**, PhD (Биология), Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ҒЗИ (Қазақстан)

**Ғылыми журнал «Биоқауіпсіздік және Биотехнология»
eISSN 2957-5702**

Құрылтайшы: ҚР ДСМ «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты»
Қазақстан Республикасының Ақпарат және қоғамдық даму министрлігінің Ақпарат комитетінде 20.11.2019 ж.
№KZ33V00017380 куәлікпен тіркелген
Мерзімділігі: жылына 4 рет.

Редакцияның мекен-жайы 080409, Жамбыл облысы, Қордай ауданы, Гвардейский қтк.,
Б. Момышұлы к-сі, 15. тел. (726-36) 7-22-28 [www: biosafety.kz](http://www.biosafety.kz),
E- mail: unots@biosafety.kz

© Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты, 2023

Главный редактор

Закарья К.Д., д.б.н., профессор, академик Российской академии естественных наук, *h-index: WoS – 5, Scopus – 6*, Советник Президента Республики Казахстан по вопросам науки и инноваций (Казахстан)

Заместитель главного редактора

Абдураимов Е.О., д.в.н., профессор, *h-index: WoS – 5, Scopus – 6*, АО «Национальный холдинг «QazBioPharm» (Казахстан)

Редакционная коллегия:

Биологическая безопасность и биозащита

Faez Awad, PhD (Ветеринария), *h-index: Scopus – 3*, Кафедра эпидемиологии и здоровья населения (Ливия)

Орынбаев М.Б., к.в.н., профессор, член-корр. НАН РК, *h-index: WoS – 10, Scopus – 10*, НИИ проблем биологической безопасности (Казахстан)

Айтназаров Р.Б., PhD (Биология), *h-index: WoS – 6, Scopus – 6*, Институт цитологии и генетики Сибирского отделения РАН (Россия)

Султанкулова К.Т., к.б.н., профессор, *h-index: WoS – 8, Scopus – 9*, НИИ проблем биологической безопасности (Казахстан)

Кутумбетов Л.Б., д.в.н., профессор, *h-index: WoS – 8, Scopus – 9*, НИИ проблем биологической безопасности (Казахстан)

Микробиология

Еспембетов Б.А., PhD (Ветеринария), профессор, *h-index: WoS – 6, Scopus – 6*, НИИ проблем биологической безопасности (Казахстан)

Жугунисов К.Д., PhD (Биотехнология), *h-index: WoS – 4, Scopus – 5*, НИИ проблем биологической безопасности (Казахстан)

Нургазиев Р.З., д.в.н., профессор, *h-index: Scopus – 4*, Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И.Скрябина (Кыргызстан)

Булатов Е.А., к.б.н., профессор, *h-index: WoS – 4, Scopus – 4*, НИИ проблем биологической безопасности (Казахстан)

Медицинская и ветеринарная биотехнология

Risatti G., PhD (Ветеринария), профессор, *h-index: WoS – 29, Scopus – 29*, Коннектикутский университет (США)

Кошметов Ж.К., д.б.н., профессор, *h-index: WoS – 2, Scopus – 4*, НИИ проблем биологической безопасности (Казахстан)

Gorge O., PhD (Медицинская наука), *h-index: WoS – 5, Scopus – 5*, Биомедицинский научно-исследовательский институт вооруженных сил (Франция)

Айкимбаев А.М., д.м.н., профессор, *h-index: WoS – 7, Scopus – 7*, Национальный научный центр особо опасных инфекций имени М. Айкимбаева (Казахстан)

Червякова О.В., к.б.н., профессор, *h-index: WoS – 5, Scopus – 6*, НИИ проблем биологической безопасности (Казахстан)

Стукова М.А., PhD (Медицинская наука), *h-index: WoS – 10, Scopus – 11*, НИИ гриппа им. А.А. Смородинцева (Россия)

Наханов А.К., к.б.н., *h-index: WoS – 4, Scopus – 5*, НИИ проблем биологической безопасности (Казахстан)

Фитопатология и биотехнология растений

Рсалиев А.С., PhD (Сельскохозяйственные науки), профессор, *h-index: WoS – 6, Scopus – 8*, АО «Национальный холдинг «QazBioPharm» (Казахстан)

Гультяева Е.И., д.б.н., доцент, *h-index: WoS – 9, Scopus – 11*, Всероссийский НИИ защиты растений (Россия)

Корректор: **Амирханова Н.Т.**, PhD (Биология), НИИ проблем биологической безопасности (Казахстан)

Научный журнал «Биобезопасность и Биотехнология»
eISSN 2957-5702

Учредитель: «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» МЗ РК

Зарегистрирован в Комитете информации Министерства информации и общественного развития Республики Казахстан свидетельством №KZ33V00017380 от 20.11.2019 г.

Периодичность: 4 раза в год.

Адрес редакции 080409, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский,
Ул. Б. Момышулы, 15. тел. (726-36) 7-22-28
www: biosafety.kz, E-mail: unots@biosafety.kz

© Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, 2023

Editor-in-chief

Zakarya K.D., D.B.Sci., Professor, Academician of the Russian Academy of Natural Sciences, *h-index: WoS – 5, Scopus – 6*, Advisor to the President of the Republic of Kazakhstan on Science and Innovation (Kazakhstan)

Deputy Chief Editor

Abduraimov Ye.O., D.V.Sci., Professor, *h-index: WoS – 5, Scopus – 6*, JSC «National Holding «QazBioPharm» (Kazakhstan)

Editorial board:

Biological safety and biosecurity

Faez Awad, PhD (Veterinary Science), *h-index: Scopus – 3*, Department of Epidemiology and Population Health (Libya)

Orynbayev M.B., PhD (Veterinary Science), Professor, Corr.-member of the NAS RK., *h-index: WoS – 10, Scopus – 1013*, Research Institute for Biological Safety Problems (Kazakhstan)

Aitnazarov R.B., PhD (Biological Science), *h-index: WoS – 6, Scopus – 6*, Institute of Cytology and Genetics of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (Russia)

Sultankulova K.T., PhD (Biological Science), Professor, *h-index: WoS – 8, Scopus – 9*, Research Institute for Biological Safety Problems (Kazakhstan)

Kutumbetov L.B., D.V.Sci., Professor, *h-index: WoS – 8, Scopus – 9*, Research Institute for Biological Safety Problems (Kazakhstan)

Microbiology

Yespembetov B.A., PhD (Veterinary Science), Professor, *h-index: WoS – 6, Scopus – 6*, Research Institute for Biological Safety Problems (Kazakhstan)

Zhugunissof K.D., PhD (Biotechnology), *h-index: WoS – 4, Scopus – 5*, Research Institute for Biological Safety Problems (Kazakhstan)

Nurgaziev R.Z., D.V.Sci., Professor, *h-index: Scopus – 4*, Kyrgyz National Agrarian University named after K.I. Scriabin (Kyrgyzstan)

Bulatov Y. A., PhD (Biological Science), Professor, *h-index: WoS – 4, Scopus – 4*, Research Institute for Biological Safety Problems (Kazakhstan)

Medical and veterinary biotechnology

Risatti G., PhD (Veterinary Science), Professor, *h-index: WoS – 29, Scopus – 29*, University of Connecticut (USA)

Koshmetov Zh.K., D.B.Sci., Professor, *h-index: WoS – 2, Scopus – 4*, Research Institute for Biological Safety Problems (Kazakhstan)

Gorge O., PhD (Medical Science), *h-index: WoS – 5, Scopus – 5*, Armed Forces Biomedical Research Institute (France)

Aikimbayev A.M., D.M.Sci., Professor, *h-index: WoS – 7, Scopus – 7*, National Scientific Center of Especially Dangerous Infections named after M.Aikimbayev (Kazakhstan)

Chervyakova O.V., PhD (Biological Science), Professor, *h-index: WoS – 5, Scopus – 6*, Research Institute for Biological Safety Problems (Kazakhstan)

Stukova M.A., PhD (Medical Science), *h-index: WoS – 10, Scopus – 11*, Research Institute of Influenza named after A.A. Smorodintsev (Russia)

Nakhanov A.K., PhD (Biological Science), *h-index: WoS – 4, Scopus – 5*, Research Institute for Biological Safety Problems (Kazakhstan)

Phytopathology and plant biotechnology

Rsaliev A.S., PhD (Agricultural Science), Professor, *h-index: WoS – 6, Scopus – 8*, JSC «National Holding «QazBioPharm», (Kazakhstan)

Gultyayeva E.I., D.B.Sci., Professor, *h-index: WoS – 11, Scopus – 13*, All Russian Institute of Plant Protection (Russia)

Proofreader: **Amirkhanova N.T.**, PhD (Biological Science), Research Institute for Biological Safety Problems (Kazakhstan)

Scientific journal «Biosafety and Biotechnology» eISSN 2957-5702

Founder: «Research Institute for Biological Safety Problems» of the Ministry of Health of the RK

Registered with the Information Committee of the Ministry of Information and Public Development of the RK with the Certificate №KZ33V00017380 dated 20.11.2019

Frequency: 4 times a year.

Address of the editorial office 080409, Zhambyl region, Kordai district, Gvardeysky.

15 B. Momysuly str., Tel. (726-36) 7-22-28

www: biosafety.kz, E-mail: unots@biosafety.kz

© Research institute of biosafety problems, 2023

МАЗМҰНЫ

Байсеит Т.И., Қалимолда Э.Ж., Абсатова Ж.С., Джекебеков К.К., Молдагулова С.У. НЬЮКАСЛ АУРУЫ МЕН ҚҰС ТҰМАУЫНА ҚАРСЫ БЕЛСЕНДІРІЛМЕГЕН ІЛЕСПЕ ВАКЦИНАНЫҢ САПАСЫН БАҚЫЛАУ	6
Жунушов А.Т., Бердибаева А.Б. SARS-COV-2 ВИРУСЫНЫҢ ИЗОЛЯТТАРЫНДА Е ПРОТЕИНЫНЫҢ МУТАЦИЯСЫН АНЫҚТАУ	18
Валиева А.Д., Туысқанова М.С., Кенжебаева М.К., Сарсенқұлова Н.А., Табыс Ш.Т., Килибаев С.С., Музарап Д.И., Мамбеталиев М., Жугунисов К.Д. ТҮЙЕ ШЕШЕГІНЕ ҚАРСЫ БЕЛСЕНДІ ЕМЕС ВАКЦИНАНЫҢ ОҢТАЙЛЫ ИММУНДАУ ДОЗАСЫН АНЫҚТАУ	28
Кондибаева Ж.Б., Аманова Ж.Т., Усембай А.К., Абитаев Р.Т., Саметова Ж.Ж., Тұрыскелді Ш.С., Булатов Е.А. ҚОЙ ШЕШЕГІНЕ ҚАРСЫ ИММУНДАУ КЕЗІНДЕ ЕШКІ ШЕШЕГІНІҢ G20-LKV ВАКЦИНА ШТАМЫНЫҢ ПРОТЕКТИВТІ ҚАСИЕТТЕРІН ЗЕРТТЕУ	38
Ибадуллаева Ғ.С., Азембаев А.А., Назаров С.Г. ТҮЙЕ ТІКЕН (ALHAGE PSEUDALHAGI) ӨСІМДІК ШИКІЗАТЫНАН АЛЫНҒАН ЭКСТРАКТ ҚҰРАМЫНДАҒЫ ФЛАВОНОИДТАРДЫ САПАЛЫҚ ЖӘНЕ САНДЫҚ АНЫҚТАУ	48
Баккожаев А.А., Сарбаканова Ш.Т., Нуркиянов К.Т., Баянаева К.М. ЭПИЗООТИЯЛЫҚ ЖАҒДАЙ ЖӘНЕ АЗЫҚ-ТҮЛІК ҚАУІПСІЗДІГІН БАҚЫЛАУДЫ ЦИФРАЛАНДЫРУ	61
АВТОРЛАР ТУРАЛЫ МӘЛІМЕТ	74
ЖУРНАЛДА ЖАРИЯЛАУ ҮШІН МАҚАЛАЛАРҒА ҚОЙЫЛАТЫН ТАЛАПТАР	77

СОДЕРЖАНИЕ

Байсеит Т.И., Қалимолда Э.Ж., Абсатова Ж.С., Джекебеков К.К., Молдагулова С.У.	6
КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ИНАКТИВИРОВАННОЙ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА И ГРИППА ПТИЦ	
Жунушов А.Т., Бердибаева А.Б.	18
ОПРЕДЕЛЕНИЕ МУТАЦИИ Е БЕЛКА В ИЗОЛЯТАХ ВИРУСА SARS-COV-2	
Валиева А.Д., Туысканова М.С., Кенжебаева М.К., Сарсенкулова Н.А., Табыс Ш.Т., Килибаев С.С., Музарап Д.И., Мамбеталиев М., Жугунисов К.Д.	28
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОЙ ИММУНИЗИРУЮЩЕЙ ДОЗЫ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ОСПЫ ВЕРБЛЮДОВ	
Кондибаева Ж.Б., Аманова Ж.Т., Усембай А.К., Абитаев Р.Т., Саметова Ж.Ж., Тұрыскелді Ш.С., Булатов Е.А.	38
ИЗУЧЕНИЕ ПРОТЕКТИВНЫХ СВОЙСТВ И НАПРЯЖЕННОСТИ ИММУНИТЕТА ВАКЦИННОГО ШТАММА «G20-LKV» ВИРУСА ОСПЫ КОЗ ПРИ ИММУНИЗАЦИИ ОВЕЦ ПРОТИВ ОСПЫ ОВЕЦ	
Ибадуллаева Ғ. С., Азембаев А.А., Назаров С.Г.	48
КАЧЕСТВЕННОЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В ЭКСТРАКТЕ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ВЕРБЛЮЖЬЕЙ КОЛЮЧКИ (ALHAGE PSEUDALHAGI)	
Баккожаев А.А., Сарбаканова Ш.Т., Нуркиянов К.Т., Баянаева К.М.	61
ЦИФРОВИЗАЦИЯ МОНИТОРИНГА ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ И КОНТРОЛЯ ПИЩЕВОЙ БЕЗОПАСНОСТИ	
ДАННЫЕ ОБ АВТОРАХ	74
ТРЕБОВАНИЯ К НАУЧНЫМ СТАТЬЯМ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В ЖУРНАЛЕ	77

CONTENTS

Baiseit T.I., Kalimolda E.Zh., Absatova Zh.S., Dzehebekov K.K., Moldagulova S.U. QUALITY CONTROL OF INACTIVATED ASSOCIATED VACCINES AGAINST NEWCASTLE DISEASE AND BIRD FLU	6
Zhunushov A.T. , Berdibaeva A.B. DETERMINATION OF E PROTEIN MUTATION IN SARS-COV-2 VIRUS ISOLATES	18
Valieva A.D., Tuyskanova M.S., Kenzhebaeva M.K., Sarsenkulova N.A., Tabys Sh.T., Kilibaev S.S., Muzarap D.I., Mambetaliev M., Zhugunisov K.D. DETERMINATION OF THE OPTIMUM IMMUNIZING DOSE OF INACTIVATED VACCINE AGAINST CAMEL POX	28
Kondibaeva Zh.B., Amanova Zh.T., Usembay A.K., Abitaev R.T., Sametova Zh.Zh., Turyskeldi Sh.S., Bulatov E.A. STUDY OF PROTECTIVE PROPERTIES AND INTENSITY OF INDUCING IMMUNITY OF THE VACCINE STRAIN G20-LKV OF GOAT POX DURING IMMUNIZATION OF SHEEP AGAINST SHEEP POX	38
Ibadullaeva G. S., Azembaev A.A., Nazarov S.G. QUALITATIVE AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF FLAVONOIDS IN EXTRACT FROM PLANT RAW MATERIALS OF CAMEL TONE (ALHAGE PSEUDALHAGI)	48
Bakkozhaev A.A., Sarbakanova Sh.T., Nurkiyanov K.T., Bayanaeva K.M. DIGITALIZATION OF EPIZOOTIC SITUATION MONITORING AND FOOD SAFETY CONTROL	61
AUTHORS' INFORMATION	74
AUTHOR INSTRUCTIONS TO THE JOURNAL	77

QUALITY CONTROL OF INACTIVATED ASSOCIATED VACCINES AGAINST NEWCASTLE DISEASE AND BIRD FLU

T.I. Baiseit*, E.Zh. Kalimolda, Zh.S. Absatova, K.K. Dzhekebekov, S.U. Moldagulova

«Research Institute for Biological Safety Problems» Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan, Gvardeysky, Kazakhstan

*temirlan12tema@gmail.com

Abstract. The work contains the results of quality control of an experimental series of inactivated associated vaccine against Newcastle disease (ND) and avian influenza (AI) produced at the Research Institute for Biological Safety Problems of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan. The purpose of the study was to test to determine the main indicators - the physicochemical properties of an experimental series of inactivated associated vaccine against BN and AI. The results of the experimental series showed that the vaccine is without contaminants, the concentration of hydrogen ions (pH) is 7.29 ± 0.0002137 , the kinematic viscosity of the emulsion is 35.37 ± 0.00944 , the vaccine is immunogenic for 12 month old chickens and harmless for chickens 30 days old. The average titers of antibodies to the virus on the 28th day after vaccination averaged 1:24.5 against the HP virus and 1:27.3 against the ND virus 1:24.5 in the hemagglutination inhibition test (HAI). The vaccine meets all the requirements in its physical and biological properties and is suitable for an associated vaccine against ND and AI.

The vaccine meets all quality requirements according to the scientific and technical documentation of the manufacturer.

Keywords: avian influenza virus; Newcastle disease virus; associated vaccine.

Introduction

Avian influenza (AI) and Newcastle disease (ND) are particularly dangerous infectious diseases of birds, causing enormous economic damage to the global poultry industry [7]. When these diseases occur, it is necessary to urgently notify the World Organization for Animal Health (OIE) about their occurrence. A set of anti-epizootic measures is also carried out, which include: quarantine, depopulation, zoning, disinfection, control of the movement of poultry and poultry products within the country, and surveillance of wild avifauna [10]. The avian influenza virus is a member of the Orthomyxoviridae family, genus Influenza A virus. There are 18 known HA subtypes (H1-H18) and 11 known NA subtypes (N1-N11) [5]. According to the OIE classification, notifiable avian influenza, depending on the degree of pathogenicity, is divided into highly pathogenic influenza (HPI), which includes any subtype of the AP virus characterized as highly pathogenic, and low pathogenic avian influenza (LPI) of the H5 and H7 subtypes [10]. Highly pathogenic AP A/H5N1 was widespread among wild and domestic birds in Southeast Asia in 1999-2006, then in Western Siberia (including Kazakhstan), Europe, East Africa, and caused numerous outbreaks that were accompanied by illness and death of domestic and wild birds, as well as people [6].

ND is a highly contagious viral disease mainly affecting the order Galliformes. ND virus belongs to the avian paramyxovirus type 1, which is a representative of the genus Avulavirus of the family Paramyxoviridae [1]. ND is as important as AI due to its highly contagious nature and worldwide distribution [2]. It is characterized by rapid spread of a large number of birds, high mortality, pneumonia, encephalitis and manifestation of hemorrhagic syndrome in the form of multiple point hemorrhages in internal organs, causes enormous economic losses and is considered a particularly dangerous infection of birds. The disease is endemic in many countries [3]. According to the OIE, in recent years outbreaks of ND have been noted in various countries, including industrialized ones. In November 2010, a mass death of 30-40-day-old broiler chickens from ND occurred at the Allel Agro poultry farm (Iliysky district, Almaty region). The farm had a well-established preventive vaccination program; all birds were vaccinated with a live vaccine (Nobilis ND Clone 30, Intervet international B.V., Netherlands). In October 2012, ND outbreaks were registered in private farmsteads in the Timiryazevsky district, North Kazakhstan region – more than 900 individuals died. In June 2013, a mass death of poultry was also observed in private farmsteads in the village of Otar (Kordai district, Zhambyl region) and the village of Matybulak (Zhambyl district, Almaty region) [7]. Thus, in 2021, the disease was registered in Israel, Bolivia, Russia, Romania, Turkey, Sweden [4].

Currently, vaccination of domestic and wild birds is an effective way to prevent these diseases. However, currently available vaccines against these diseases are unsatisfactory. Inactivated vaccines against AI are mainly used for poultry (95%) [8]. In addition, currently available inactivated vaccines are costly and labor-intensive both in production and during vaccine administration. Also, these vaccines provide suboptimal protection in vaccinated birds [9]. In addition, inactivated vaccines can be effective when birds are immunologically mature (birds >3 weeks old) [10].

In this regard, the urgent issue is the search for effective vaccines for immunization of poultry. Among such analogues, associated vaccines show efficiency in the prevention of various infectious diseases, since one vaccine contains antigens of two or more pathogens. Thus, the use of such vaccines reduces the cost of production and additional preventive measures for each disease separately, reducing the stress of poultry. Based on the above, the purpose of this work is to conduct quality control of the experimental series of inactivated associated vaccine against AI and ND according to scientific and technical documentation (NTD).

Materials and methods

Objects of research

The object of the study in this work is an inactivated associated vaccine against AI and NV from the recombinant strain A/Gyrfalcon/Washington/41088/6/2014 (H5N8) of the influenza virus and from the La Sota strain of the Newcastle disease virus.

The composition of the inactivated associated vaccine consists of an inactivated suspension of the AI and ND viruses with the addition of the oil adjuvant Montanide ISA-70 in a ratio to the antigen of 70:30. The combination of semi-finished products and emulsification, as well as the packaging of the vaccine, were carried out in accordance with the NTD [20].

Research methods

Quality control of the associated emulsified vaccine against ND and AI was carried out in accordance with the NTD. The control was carried out according to the following parameters:

determination of sterility (bacterial and fungal contamination), physicochemical properties and concentration of hydrogen ions (pH), control of vaccine stability, kinematic viscosity, assessment of harmlessness and determination of immunogenicity.

Determination of the appearance of the vaccine

The work was carried out in accordance with the State Pharmacopoeia of the Republic of Kazakhstan I, v. 1, 2.6.14. Determination of the appearance of the vaccine, the presence of foreign impurities, mold.

Determination of hydrogen ion concentration (pH)

Determination of hydrogen ions (pH). Determination of hydrogen ion concentration (pH) was carried out in three replicates using a pH meter according to the State Pharmacopoeia of the Republic of Kazakhstan I, v. 1, 2.2.3.

Sterility control

Determination of hydrogen ion concentration (pH) was carried out according to the State Pharmacopoeia of the Republic of Kazakhstan I, v. 1, 2.6.14. Sowing was carried out on seven media (Sabouraud solid, Sabouraud liquid, meat-peptone agar (MPA), meat-peptone broth (MPB), Kita-Tarotsii, Edward liquid, Edward semi-liquid).

Determination of kinematic viscosity

Viscosity was determined by three-fold measurement using a VPZh-2 capillary viscometer. The work was carried out in accordance with the State Pharmacopoeia of the Republic of Kazakhstan I, v. 1, 2.6.14.

Determination of immunogenicity

The immunogenicity of the vaccine is determined by the level of formation of antihemagglutinins in the blood serum of vaccinated birds using the hemagglutination inhibition reaction (HIR) according to the generally accepted method. The work was carried out in accordance with the State Pharmacopoeia of the Republic of Kazakhstan I, v. 1, 2.6.14.

Determination of harmlessness

The safety of vaccines was tested on 10 month-old chickens. The chickens were vaccinated intramuscularly in the chest area with a five-fold higher dose of vaccines in a volume of 2.5 cm³. The clinical observation period for the vaccinated chickens was 14 days [15].

Emulsion stability control

Emulsion stability control was carried out by centrifuging the vaccine and thermostating at 37.0±0.5 °C [20].

Centrifugation method

From three vials with the vaccine, after vigorous shaking, 12 ml of emulsion were taken and transferred into three glass centrifuge tubes. The tubes with the emulsion were centrifuged at 3000 rpm for 30 min, after which the height of the column of the transparent fraction in the upper part of the tube was measured with a ruler [20].

Thermostat method

From three vials with the vaccine, after vigorous shaking, 10 ml of emulsion were taken and transferred into three glass test tubes, closed with rubber stoppers, placed in a rack and placed in a thermostat with a heating temperature of 37.0 ± 0.5 °C, then for 14 days the appearance of a transparent fraction in the upper part of the test tube and the separation of the emulsion were observed [20].

Results of the study and their discussion

Vaccination has become one of the most important strategies for disease prevention and control in poultry farms. Immunity through the use of associated vaccines is easy to apply, time- and cost-effective, and widely applicable to ensure the safety of birds. In this study, we share the results of quality control of the finished associated vaccine against AI and ND, produced at the Research Institute of Bacterial and Biological Safety of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan. The results showed that the prepared vaccine fully complies with the requirements of the NTD.

Quality control experiments were conducted on one batch of inactivated associated vaccine against AI and ND from the recombinant strain AI A/Gyrfalcon/Washington/41088/6/2014 (H5N8) and from the La Sota ND strain. The first stage was to determine the external parameters of the vaccine. The external appearance of the vials with the vaccine complies with the requirements of the NTD. No mold or foreign impurities were found in the vials with the vaccine.

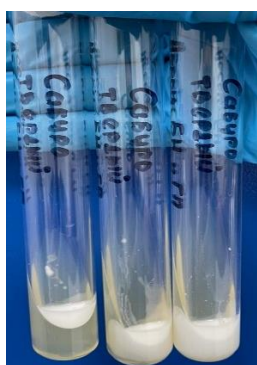
The results of hydrogen ion (pH) measurements of the associated vaccine against ND and AI are presented in Table 1.

Table 1. Results of pH control of the associated inactivated vaccine against ND and AI.

Names of the material	Repeatability of tests	Average pH value	pH	Uncertainty of experience
Inactivated associated vaccines against AI and NV from the A/Gyrfalcon/Washington/41088/6/2014 (H5N8) strain of the AI virus and from the La Sota strain of the NV virus	1	7,30	7,293	$\pm 0,0002137$
	2	7,29		
	3	7,29		

The concentration of hydrogen ions (pH) of the associated inactivated vaccine against ND and AI at a temperature of (2-8) °C was that, with an experimental uncertainty of ± 0.0002137 , the average value was 7.29.

As a result of sterility determination, all media remained clean during the observation period from bacterial and fungal contamination, the sterility of the associated inactivated vaccine against Newcastle disease and bird flu complies with the requirement of the State Pharmacopoeia of the Republic of Kazakhstan. This control was carried out for 14 days (Figure 1).



Saburo solid



Saburo liquid



MPA



MPB



Kita-Tarotsiya



Edwarda liquid



Edwarda semi liquid

Control



Saburo solid



Saburo liquid



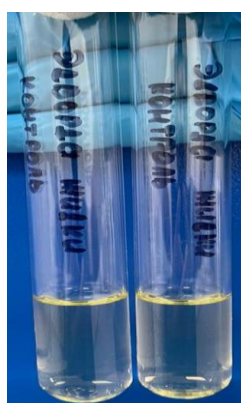
MPA



MPB



Kita-Tarotsiya



Edwarda liquid



Edwarda semi liquid

Figure 1 - Results of seeding the test vaccine associated with AI and NV from the A/Gyrfalcon/Washington/41088/6/2014 (H5N8) strain of the AI virus and from the La Sota strain of the NV virus. The following results were obtained (Figure 1).

In vaccines containing oil adjuvants, the kinematic viscosity of the emulsion is estimated. Viscosity is understood as the properties of a liquid, which determines the resistance of the liquid to external influences. Viscosity can be represented as internal friction between individual layers of liquid types when they are shifted relative to each other. According to regulatory documents for the production of immunobiological preparations in different countries, kinematic viscosity is measured using a viscometer (capillary, rotational, vibration, microfluidic and non-contact rheology). Determination of kinematic viscosity is carried out, according to using a capillary viscometer [22]. The method is based on determining the time of flow through a capillary of a certain volume of liquid from a measuring reservoir. The results are presented in Table 2.

Table 2 – Results of monitoring the kinematic viscosity of the emulsion of the inactivated emulsified associated vaccine against AI and ND from the A/Gyrfalcon/Washington/41088/6/2014 (H5N8) strain of the AI virus and from the La Sota strain of the ND virus

Name of the vaccine	Repeatability of tests	Time t, s	t, averages	Viscosity, V	Uncertainty of experience
Inactivated emulsified associated vaccines against GP and BN from the A/Gyrfalcon/Washington/41088/6/2014 (H5N8) strain of the GP virus and from the La Sota strain of the BN virus	1	36	36,0	35,37	$\pm 0,00944$
	2	36,5			
	3	35,5			

When studying the kinematic viscosity of the inactivated emulsified associated vaccine against AI and ND from the A/Gyrfalcon/Washington/41088/6/2014 (H5N8) strain of the AI virus and from the La Sota strain of the ND virus, it was determined that the kinematic viscosity of the tested vaccines against AI at a storage temperature of (2-8) °C was that, with an experimental uncertainty of ± 0.00944 , the viscosity indices were equal to 35.37 mm²/s.

The main factor of the quality of immunobiological preparations is their stability, i.e. the ability to maintain the physicochemical properties and pharmacological activity stipulated by the requirements of regulatory documentation during the established shelf life. The main criterion of vaccine stability is the preservation of its quality, i.e. appearance, emulsion stability, pH, kinematic viscosity, safety and other standardized indicators [27]. Also, the stability of the immunobiological preparation is significantly affected by the conditions of production, storage and transportation. As a result of violation of the storage conditions of the vaccine, its immunobiological properties are lost, such as the ability to induce active specific immunity. Thus, it is very important to comply with the conditions of the technological process, which ensures compliance with the specification requirements and the stability of the final product.

As a result of the work carried out to determine the stability control of vaccines by the centrifugation method, in each of the three test tubes with the tested vaccines, no changes in the

contents were detected during visual control and the height of the column of the transparent fraction formed in the upper part of the test tube did not exceed 30 mm.

According to the results of vaccine stability control by thermostating during the entire observation period, no transparent water fraction was detected at the bottom of the test tube in each of the three test tubes with the tested vaccines during visual control, and no complete stratification of the emulsion into its constituent components was observed. During the tests, there was a minor appearance of a transparent or yellowish oil fraction at the top of the test tube, which was easily eliminated by shaking, which is not a sign of stratification (Figure 2).

As a result of the work carried out to determine the stability control of vaccines by the centrifugation method, no changes in the contents were detected in each of the three test tubes with the tested vaccines during visual control, and the height of the column of the transparent fraction formed in the upper part of the test tube did not exceed 30 mm, easily removed by shaking, which is not a sign of stratification (Figure 2).

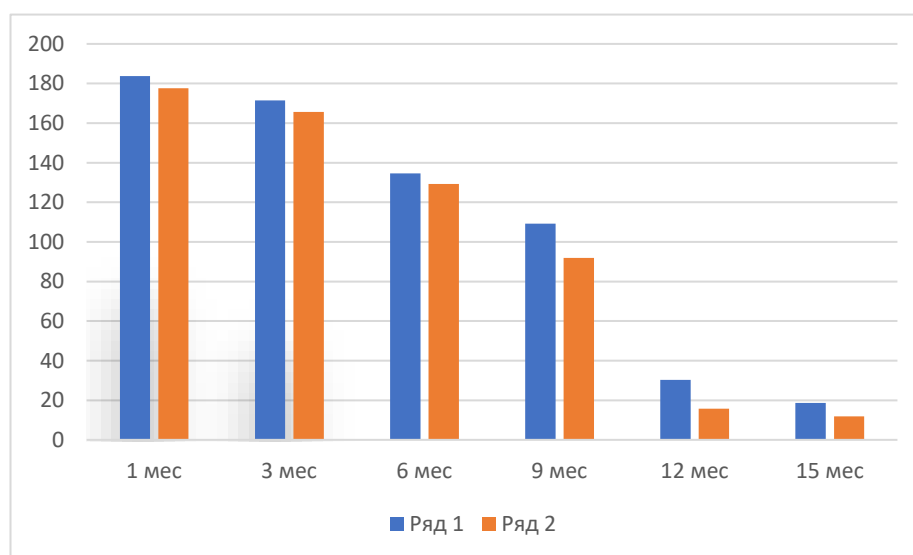


Figure 2 - Stability control of the inactivated emulsified associated vaccine against AI and ND

When testing the serum of birds vaccinated against AI and ND in HAI, after vaccination the birds had 100% antibodies to the AI and ND virus, but after 15 months it decreased to 16.5% antibodies to the AI virus and 6.7% antibodies to the ND virus, therefore after 12 months the birds should be vaccinated again.

One of the most important indicators of vaccines, along with antigenic activity, is their harmlessness and reactogenicity.

The safety of the tested associated inactivated vaccine against ND and AI was tested on 30-day-old chickens weighing at least 100 g from farms free of acute infectious diseases and sero-negative to the avian influenza virus type A. The results are presented in Table 3.

Table 3 – Results of determining the safety of vaccines against AI and ND in chickens

Name of the vaccines being tested	Number of birds in the experiment, heads	Bird Observation Results (Local Response)	Tissue reaction at the injection site
Inactivated emulsified vaccine associated against avian influenza from the strain A/Gyrfalcon/Washington/41088/6/2014 (H5N8) AI and from the La Sota strain of the ND virus	10	----	----
Notes 1 “+” reaction is insignificant (single discrete growth of fibrous connective tissue of white color, 2.0-2.5 mm in diameter 2 “-” no reaction			

According to the obtained data (Table 3) of the control of the test vaccine against AI and ND, it was revealed that the studied vaccine preparation is harmless/reactogenic and avirulent.

In order to confirm the immunogenicity of the vaccine we tested, studies were conducted to determine the antigenic activity of the experimental sample of the associated inactivated vaccine against AI and ND in birds.

After immunization, blood serum samples were taken from the birds to check for the presence of antibodies against the AI and ND viruses in the HAI. The results are presented in Tables 4 and 5.

Table 4 – Level of antibodies against the AI virus in the blood serum of birds after immunization in the HAI

Name of the vaccine	Bird No.	титр	№ птицы	titer
Ассоциированная инактивированная против болезни Ньюкасла и гриппа птиц	1	1:20	11	1:20
	2	1:40	12	1:40
	3	1:40	13	1:20
	4	1:10	14	1:40
	5	1:20	15	1:20
	6	1:40	16	1:40
	7	1:20	17	1:20
	8	1:10	18	1:40
	9	1:20	19	1:20
	10	0	20	1:10
Average titer: 24,5				

Table 5 – Level of antibodies against the NDV in the blood serum of birds after immunization in the HAI

Name of the vaccine	Bird No.	titer	Bird No.	titer
Ассоциированная инактивированная против болезни Ньюкасла и гриппа птиц	1	1:40	11	1:40
	2	1:80	12	1:20
	3	1:40	13	1:80
	4	1:20	14	1:40
	5	1:20	15	1:20
	6	1:80	16	1:10
	7	1:20	17	1:20
	8	1:10	18	1:20
	9	1:20	19	1:40
	10	1:10	20	1:40
Average titer: 27,3				

The results of the study showed that the intensity of immunity on the 28th day after a single administration of the studied vaccine associated inactivated against ND and AI, the level of antibodies in the blood of vaccinated birds in the HAI was on average 1:24.5 against the AI virus and 1:27.3 against the ND virus.

Conclusion

1. The experimental series of inactivated associated vaccine against Newcastle disease and avian influenza manufactured at the «RIBSP» of the Ministry of Health Republic of Kazakhstan showed full compliance of physical and biological parameters with the requirements of the approved regulatory and technical documentation.

2. The concentration of hydrogen ions (pH) of the preparation is 7.29 ± 0.0002137 . Kinematic viscosity is 35.39 ± 0.00944 .

3. The vaccine is harmless to 30-day-old chickens when administered intranasally with a 10-fold immunizing dose.

4. Immunogen vaccine for 30-day-old chickens. Average antibody titers to the ND virus 28 days after vaccination average 1:24.5 against the AI virus and 1:27.3 against the ND virus.

5. All associated vaccines against ND and AI carried out comply with the requirements of the NTD.

Funding source: The work was carried out within the framework of the project objectives: "Organization and testing of developed drugs used to eliminate biological threats" under the State Assignment "Services for Ensuring Biological Safety in the Field of Science" for 2021.

Conflict of Interest: The authors have no potential conflicts of interest.

Acknowledgments: The authors express their gratitude to the Research Institute for Biological Safety Problems (RIBSP) of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan for conducting this study.

Literature

1. Aulicino F.A., Marranzano M., Mauro L. Surface water pollution and microbiological indicators // Ann Ist Super Sanita. – 2005. – V. 41(3). – P. 359-70. PMID: 16552127.
2. Kolpin D.W., Furlong E.T., Meyer M.T., Thurman E.M., Zaugg S.D., Barber L.B. Buxton H.T. Pharmaceuticals, Hormones, and Other Organic Wastewater Contaminants in US // Environmental Science and Technology. – 2002. – V. 36. – P. 1202-1211. <http://dx.doi.org/10.1021/es011055j>.
3. Sandle T. An approach for the reporting of microbiological results from water systems // PDA J Pharm Sci. Technol. – 2004. – V. 58(4). – P. 231-237.
4. Jimenez L. (Ed.). (2004). Microbial Contamination Control in the Pharmaceutical Industry (1st ed.) // CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9780203026267>.
5. Traeger H. Pharmaceuticals, The Presence of Bacteria, Endotoxins, and Biofilms in Pharmaceutical Water, Ultrapure Water // International Journal of Veterinary Sciences and Animal Husbandry. – 2018. – V. 3(4). – P. 24-29. doi: 10.1016/j.biologicals.2020.07.001
6. Abdul M.M., Qunxing X.D., Kelly G.P., Erin N.H., Andrew J. Direct injection analysis of per and polyfluoroalkyl substances in surface and drinking water by sample filtration and liquid chromatography-tandem mass spectrometry // J Chromatogr A. – 2021. – V. 1653:462426.
7. Marine M., Frédéric V., Thierry B. Comparison of bacterial endotoxin testing methods in purified pharmaceutical water matrices // J Biologicals. – 2020. – V. 67. P. 49-55.
8. European medicines agency. Guideline on the quality of water for pharmaceutical use // 2019. P.10
9. Dang T.H., Vu T.C., Vu T.B., Dao T.T., Nguyen T.H., Nguyen P.T., Do T.T., Ta M.H., Chu M.L., Nguyen V.L. Evaluation of Drinking Water Quality in Schools in a District Area in Hanoi, Vietnam // Environ Health Insights. – 2020. – V. 14:1178630220959672. doi: 10.1177/1178630220959672.
10. Mottaleb M.A., Ding Q.X., Pennell K.G., Haynes E.N., Morris A.J. Direct injection analysis of per and polyfluoroalkyl substances in surface and drinking water by sample filtration and liquid chromatography-tandem mass spectrometry // J Chromatogr A. Epub. – 2021. – V. 1653. doi: 10.1016/j.chroma.2021.462426.
11. Luis A.B., Manmohan S. Acceptable levels of endotoxin in vaccine formulations during preclinical research // J Pharm Sci. – 2011. – V. 100(1). – P. 34-37. doi: 10.1002/jps.22267.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ИНАКТИВИРОВАННОЙ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА И ГРИППА ПТИЦ

Т.И. Байсеит*, Э.Ж.Қалимолда, Ж.С. Абсатова, К.К. Джекебеков,
С.У.Молдагулова

«Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» МЗ РК,
пгт Гвардейский, Казахстан
*temirlan12tema@gmail.com

Абстракт. В работе проведены результаты контроля качества экспериментальной серий инактивированной ассоциированной вакцины против болезни Ньюкасла (БН) и гриппа птиц (ГП) изготовленную в «Научно-исследовательском институте проблем биологической безопасности» МЗ РК. Целью исследования являлись испытаний по определению основных показателей - физико-химических свойств экспериментальной серий инактивированной ассоциированной вакцины против БН и ГП. Результаты экспериментальной серий показали, что вакцина без контаминантов, концентрации водородных ионов (рН) составляет $7,29 \pm 0,0002137$, кинематический вязкость эмульсии $35,37 \pm 0,00944$, вакцина иммуногенна для 12 месячных цыплят и безвредна для цыплят 30-суточного возраста. Средние титры антител к вирусу на 28 сутки после вакцинации составили в среднем 1:24,5 против вируса ГП и 1:27,3 против вируса БН 1:24,5 в реакции торможения гемагглютинации (РТГА). Вакцина соответствует по своим физико-биологическим свойствам всем предъявляемым требованиям и пригодна для ассоциированной вакцины против БН и ГП.

Вакцина соответствует всем требованиям качества согласно научно-технической документации изготовителя.

Ключевые слова: вирус гриппа птиц; вирус болезни Ньюкасла; ассоциированная вакцина.

НЬЮКАСЛ АУРУЫ МЕН ҚҰС ТҰМАУЫНА ҚАРСЫ БЕЛСЕНДІРІЛМЕГЕН ІЛЕСПЕ ВАКЦИНАНЫҢ САПАСЫН БАҚЫЛАУ

Т.И. Байсеит*, Э.Ж.Қалимолда, Ж.С. Абсатова, К.К. Джекебеков,
С.У.Молдагулова

ҚР ДСМ «Биологиялық қауіпсіздік мәселелері ғылыми-зерттеу институты»,
Гвардейский қтк, Қазақстан
*temirlan12tema@gmail.com

Абстракт. Жұмыста Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігінің Биологиялық қауіпсіздік проблемалары ғылыми-зерттеу институтында өндірілген Ньюкасл ауруы (НА) мен құс тұмауына (КТ) қарсы белсендірілмеген ілеспе вакцинаның тәжірибелік сериясының сапасын бақылау нәтижелері қамтылған. Зерттеудің мақсаты негізгі

көрсеткіштерді – НА және ҚТ қарсы белсендірілмеген ілеспе вакцинаның тәжірибелік сериясының физика-химиялық қасиеттерін анықтау үшін тестілеу болды. Тәжірибе сериясының нәтижелері вакцинаның ластаушы заттарсыз екенін, сутегі иондарының концентрациясы (рН) $7,29 \pm 0,0002137$, эмульсияның кинематикалық тұтқырлығы $35,37 \pm 0,00944$, вакцина 12 айлық тауықтар үшін иммуногенді және 30 күндік тауықтар зиянсыз екенін көрсетті. Вакцинациядан кейінгі 28-ші күні вирусқа қарсы антиденелердің орташа титрлері гемагглютинацияның тежелу сынағы (ГАТР) кезінде НР вирусына қарсы орташа 1:24,5 және НА вирусына қарсы 1:27,3 1:24,5 құрады. Вакцина физикалық және биологиялық қасиеттері бойынша барлық талаптарға жауап береді және НА және ҚТ қарсы ілеспе вакцина үшін жарамды.

Вакцина өндірушінің ғылыми-техникалық құжаттамасына сәйкес барлық сапа талаптарына сәйкес келеді.

Түйін сөздер: құс тұмауының вирусы; Ньюкасл ауруының вирусы; ілеспе вакцина.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ МУТАЦИИ Е БЕЛКА В ИЗОЛЯТАХ ВИРУСА SARS-COV-2

А.Т. Жунушов*, А.Б. Бердибаева

Институт биотехнологии Национальной академии наук КР,

г. Бишкек, Кыргызская Республика

*zhunushov.asankadyr@gmail.com

Аннотация. Появление новых вариантов коронавируса SARS-CoV-2 вызвано мутациями в основных структурных белках тяжелого острого респираторного синдрома коронавируса 2. Вакцинация и другие терапевтические подходы могут помочь остановить эпидемию. В настоящее время ученые разрабатывают препараты и вакцины, которые специально нацелены на структурные белки коронавируса SARS-CoV-2. В результате учет мутаций в белках и определение их влияния на функции помогут в высококачественном производстве и разработке профилактических и лечебных средств. В результате секвенирования удалось получить полную нуклеотидную последовательность Е гена коронавируса SARS-CoV-2. Наличие и местоположение мутаций белка оболочки (Е) изолятов вируса SARS-CoV-2 были исследованы путем выравнивания последовательностей с референтной последовательностью вируса SARS-CoV-2. Результаты показали, что наиболее относительные мутации в аминокислотной последовательности белка Е коронавируса SARS-CoV-2 произошли в регионах 9 и 11. Было обнаружено 2 мутаций T9I и T11A по сравнению со штаммом Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (NC_045512.2). Выявленные структурные мутации белка Е могут использоваться в стратегии разработки лекарственных препаратов и вакцин.

Ключевые слова: SARS-CoV-2; COVID-19; Е белок; мутация; секвенирование.

Введение

Тяжелый острый респираторный синдром 2 (SARS-CoV-2), который является этиологическим агентом заболеваний коронавирусной болезни 2019 г. (COVID-19), выявлено в 2019 году в городе Ухань Китайской Народной Республики (КНР) [1]. COVID-19 является тяжелое и высококонтагиозное респираторное заболевание [2]. Основные симптомы болезни COVID-19 включает: лихорадку, общее недомогание, сухой кашель, одышку и затрудненное дыхание [2, 3], а также ослабление вкуса и обоняния, желудочно-кишечный дискомфорт и определенные воздействия на сердечно-сосудистую и нервную систему [2, 4-7]. По данным ВОЗ на 02 июля 2024 года было зарегистрировано более 775 миллионов подтвержденных случаев, из них около 7 миллионов с летальным исходом ([WHO COVID-19 dashboard](#)).

Геном SARS-CoV-2 имеет длину около 29,900 п.о. [8] и состоит из ORF1ab (16 неструктурных белков), 4 структурных белков (шиповидного (S), оболочечного (Е), мембранного (М), нуклеокапсидного (N)) и дополнительных белков [9-11]. В этом исследовании мы сосредоточились на белке Е.

Белок Е является самым маленьким из основных структурных белков, а также выделяется тем, что является наиболее плохо изученным (2). Этот белок состоит из 76-109

аминокислот, встречается с коротким гидрофильным N-концом (7-12 аминокислот) и большим гидрофобным трансмембранным доменом (25 аминокислот) и заканчивается гидрофильным карбоксильным С-концом, который составляет большую часть белка [12-14]. Белок Е способствует высвобождению вируса и проникновению в клетку-хозяина, а также изменяет некоторые клеточные процессы, что указывает на его роль в контроле патогенности вируса. Поэтому его следует рассматривать как важный компонент вирулентности вируса SARS-CoV-2 [14, 15].

Целью данного исследования является определение мутации Е белка изолятов вируса SARS-CoV-2.

Материалы и методы

Выделение РНК

Для выделения РНК вируса SARS-CoV-2 использован биологический материал из ротоглотки больного. Тотальную РНК экстрагировали из вируссодержащей жидкости с набором QIAamp Viral RNA Mini kit (Qiagen, Германия) в соответствии с инструкцией производителя. Параметры концентраций РНК оценивали с помощью наборов для анализа Qubit RNA HS (Life Technologies, Карлсбад, Калифорния, США) на флуориметре Qubit 2.0 (Life Technologies, Карлсбад, Калифорния, США) в соответствии с протоколом производителя.

Синтез кДНК

Обратную транскрипцию (ОТ) проводили с помощью набора SuperScript VILO cDNA Synthesis Kit (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, США) в термоциклере Mastercycler X50s при следующих температурных режимах: 25°C в течение 10 мин; 42°C в течение 60 мин; 85°C в течение 5 мин. Реакционный состав и температурно – временные режимы проводили согласно инструкции производителя.

Постановка полимеразной цепной реакции (ПЦР)

Аmplification проводили на термоциклере Mastercycler X50s с использованием набора Platinum SuperFi PCR Master Mix (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, США) в соответствии с инструкцией производителя. Постановку ПЦР проводили в общем объеме 25 мкл, включая 12,5 мкл 2X Platinum SuperFi Green PCR Master Mix, по 1,25 мкл каждого из 10 мкМ прямого и обратного праймеров, 3 мкл кДНК-матрицы, 5 мкл 5X SuperFi GC Enhancer и воды для ПЦР, чтобы восполнить объем на 25 мкл. Нарботка ПЦР продуктов проведена по следующему температурному режиму: начальная денатурация 95°C-0,5 мин; с последующими 35 циклами амплификации при денатурации 95°C-0,1 мин, отжиге 57°C-0,5 мин, элонгации 72°C-0,5 мин; финальной элонгации 72°C-5 мин. Пара праймеров Forward primer АСТАТАGCGTGCCTTTGTA и Reverse primer GAAGCGGTCTGGTCAGAATA была использована для амплификации продукта ПЦР Е гена [16].

Горизонтальный гель - электрофорез проводили в 1,5 % агарозном геле (Sigma, США), окрашенным бромистым этидием, в трис-ацетатном буфере при напряжении 100 вольт/на см длины геля, в течение 30 мин с дальнейшей детекцией на трансиллюминаторе MiniBIS Pro (DNR Bio Imaging Systems, Ltd, Израиль). Визуализацию и документирование результатов гель-электрофореза осуществляли с помощью программы GelCapture, DNR

Bio-Imaging Systems Ltd, Israel). В качестве маркера молекулярных масс использовали 100 bp DNA Ladder New England Biolabs (Ipswich, MA, USA).

Очистка ПЦР продукта

Очистку ПЦР продукта проводили с набором GeneJET PCR Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, США) согласно инструкции производителя.

Определение нуклеотидных последовательностей

Секвенирование Е гена вируса SARS-CoV-2 после очистки ПЦР продукта проводилось с использованием терминирующих дидеоксинуклеотидов (метод Сенгера) с набором AB BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific, США) и специфический перекрывающий праймер, разработанно для гена Е вируса, которые использовались на этапе наработки. Продукты очищали набором BigDye Xterminator (Thermo Fisher Scientific, США) и секвенировали с помощью генетического анализатора 3130 XL (Applied Biosystems, Hitachi, США). После секвенирования полученные данные последовательности нуклеотидов были обработаны с помощью программы Sequencher v.5.4 (Gene Codes Corporation, США).

Филогенетический анализ

Эволюционный анализ был проведен в MEGA 11 [17]. Филогенетическое дерево из 4 образцов, эталонного генома и геномов вариантов SARS-CoV-2, было построено с использованием методом Neighbor-Joining [18]. Процент повторов, в которых связанные таксоны сгруппированы вместе в тесте начальной загрузки (1000 повторов), показан рядом с ветвями [19]. Дерево построено в масштабе, длины ветвей указаны в тех же единицах, что и эволюционные расстояния, использованные для построения филогенетического дерева. Эволюционные расстояния рассчитаны с использованием метода коррекции Пуассона [20] и выражены в единицах количества аминокислотных замен на сайте. Этот анализ включал 28 нуклеотидных последовательностей.

При построении филогенетического дерева сначала проводили выравнивание последовательностей в базе данных GenBank и выбирали нуклеотидные последовательности вируса, которые аналогичны последовательности изучаемого штамма.

В анализе использовались нуклеотидные последовательности следующих штаммов семейства *Coronaviridae* (CoV), доступные в GenBank: альфакоронавирусы: [AAS58179.1](#), [AFD98787.1](#), [AFV53150.1](#), [YP_003769.1](#), [XBA84233.1](#), [UPG58715.1](#), [NP_073554.1](#) и бетакоронавирусы: [AAT84364.1](#), [ADN03341.1](#), [AFS88941.1](#), [AHX71951.1](#), [ASU90686.1](#), [UTS78547.1](#), [UTS78883.1](#), [UVD64635.1](#), [UVF72262.1](#), [YP_173240.1](#), [YP_009047209.1](#), [YP_009555243.1](#), [ACU31035.1](#), [AAP51230.1](#), [ABM92862.1](#), [ACZ72243.1](#), [YP_009724392.1](#).

Результаты

По результатам реакции секвенирования получена полная последовательность Е белка изолятов SARS-CoV-2 и депонированы в базу данных NCBI (таб.1).

Таблица 1 – Результаты депонирования Е белка изолятов вируса SARS-CoV-2 в Genbank

№	Наименования изолятов	ID Genbank
1	SARS-CoV-2/human/KAZ/AST-S396/2023	XBR96835.1
2	SARS-CoV-2/human/KAZ/Omicron-XBB.1.9.1-399/2023	WMJ63848.1
3	SARS-CoV-2/human/KAZ/Omicron-XBB.1.9.1-401/2023	WMJ63870.1
4	SARS-CoV-2/human/KAZ/Omicron-XBB.1.9.1-406/2023	WMJ63903.1

Филогенетический анализ E белка изолятов вируса SARS-CoV-2

В ходе работы была получена аминокислотная последовательность E гена изолятов вируса SARS-CoV-2. На основе полученных аминокислотных последовательностей изолятов вируса построено филогенетическое древо (Рисунок 1) Филогенетический анализ показал, что все изоляты вируса объединены с вирусами подрода *Sarbecovirus* семейства *Betacoronavirus*. Исследуемые коронавирусы SARS-CoV-2 объединены в отдельную монофилетическую группу.

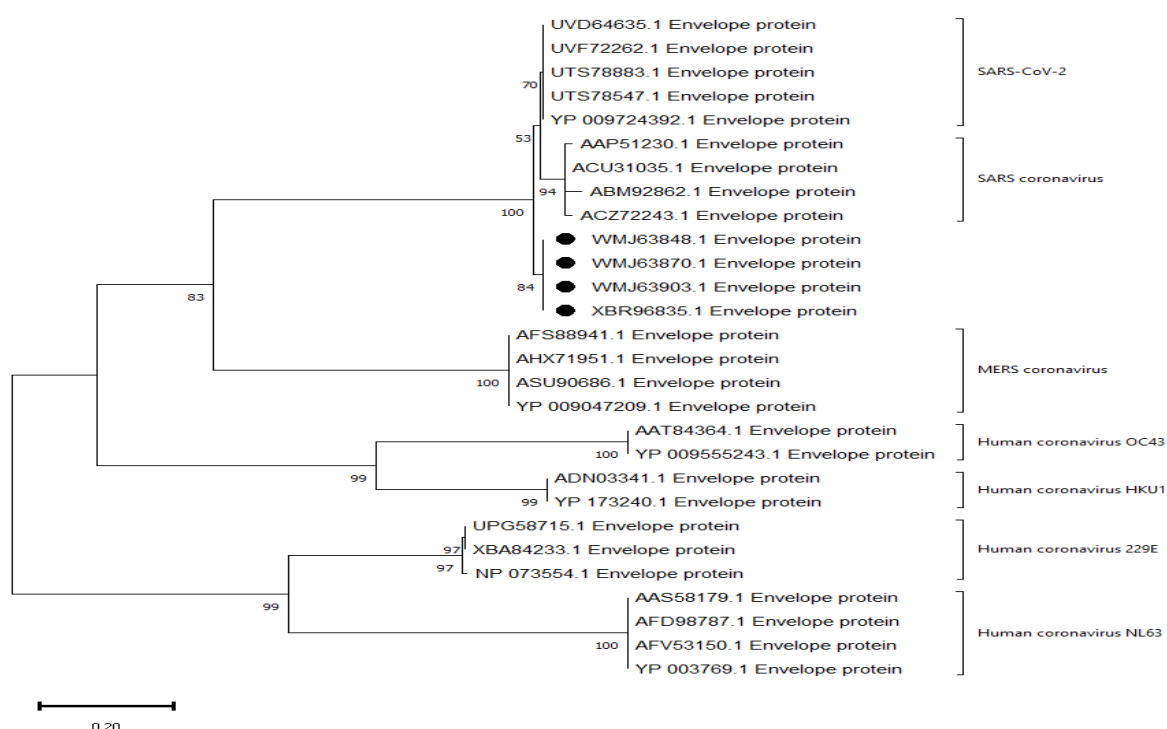


Рисунок 1 - Филогенетическое древо исследуемых изолятов вируса (черный круг) SARS-CoV-2 и других штаммов семейства Coronaviridae по E гену. Здесь ось x представляет масштаб дерева.

Определение мутации в аминокислотной последовательности E белка изолятов вируса SARS-CoV-2

Аминокислотные последовательности E белка изолятов SARS-CoV-2 сравнивали с аминокислотными последовательностями эталонного штамма Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (NC_045512.2) для выявления мутационных изменений. Результаты представлены на рисунке 2.

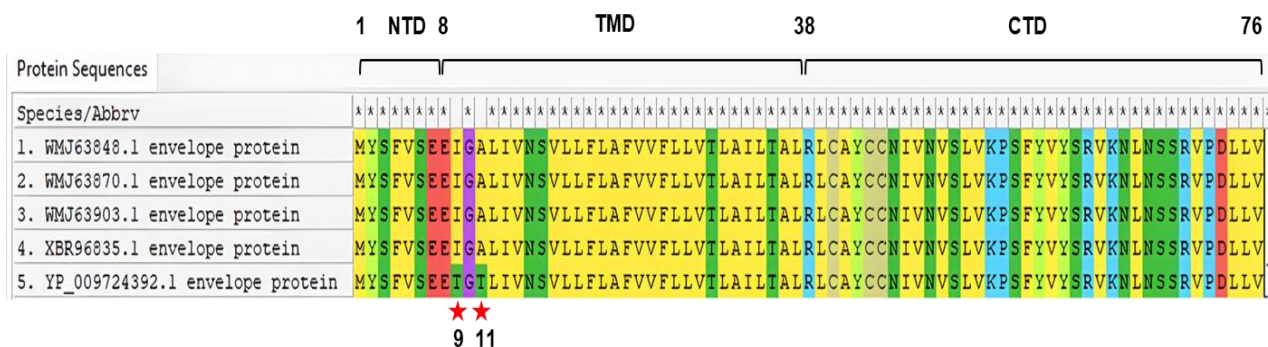


Рисунок 2 - Множественное выравнивание последовательности белка Е изолятов вируса SARS-CoV-2. NTD-N-концевой домен, ТМ-трансмембранный и CTD-С-концевой домен.

Как видно на рисунке 2, Е белок исследуемых изолятов вируса SARS-CoV-2 имеют две специфические аминокислотные замены по сравнению с исходным штаммов. В результате, аминокислота треонин (Т) в исследуемых изолятах заменена на изолейцин (I) в позиции 91 и аланин (А) в позиции 11.

Обсуждение

Выявление тенденций возникновения и распространения мутаций может привести к более практичному подходу, который поможет определить факторы, влияющие на эффективность лекарств и вакцин против кароновиральной инфекции.

SARS-CoV-2, выявленный в 2019 году в городе Ухань КНР и являющийся причиной глобальной пандемии COVID-19, оказал огромное негативное влияние на здоровье людей, систему социального здравоохранения и мировую экономику. Поэтому необходимо более тщательно изучать молекулярно-биологические свойства вируса, чтобы предотвратить появления новых пандемий [21].

Wang M.Y и соавторы описали, что неструктурные, Е и М белки коронавирусов не имеют существенной разницы в структуре белков (неструктурные, Е и М) между SARS-CoV-2 и другими известными человеческими CoV. Aldaais E.A и соавторы продемонстрировали, что ген Е вируса SARS-CoV-2 имел почти на 100%, 93,42% и 37,33% идентичность с вирусами Bat-CoV, SARS и MERS, соответственно [22].

Некоторые исследования показали, что мутации Е гена развиваются медленно [23-27], и не было обнаружено никаких мутаций в некоторых образцах (B.1.1.7, B.1.1 и AY.122) вируса [28-30]. Abavisani M. и соавторы продемонстрировали мутационную изменчивость вируса SARS-CoV-2 по гену Е, и из 6,394,483 нуклеотидных последовательностей было обнаружено, что 96,40% последовательностей от общей доли не претерпели никаких мутаций [26].

Согласно данным Национального центра геномных данных (NGDC), пять вариантов (Альфа, Бета, Гамма, Дельта и Омикрон) SARS-CoV-2 включают 92 мутации с частотой $\geq 0,01\%$ по белку Е. Среди них 13 мутаций показали увеличение частоты, а 71 мутация показала снижение частоты. Wang Y. и соавторы сообщили, что по сравнению с диким видом (WT) SARS-CoV-2, в 13 мутациях выявлена повышенная способность убивать клетки, а 51 мутация ослабила эту способность [31].

20 декабря 2022 года центры по контролю и профилактике заболеваний КНР объявили, что ХВВ является новой линией Omicron, которая недавно появилась в Китае [31]. ХВВ известен как «самый сильный вариант иммунного ускользания», и информации о его патогенности очень мало [32]. Было обнаружено, что вместе с мутацией Т9І в линии ХВВ существует также новая мутация Т11А.

В данном исследовании выявлены две мутации - Т9І и Т11А. Мутация Т9І снижает репликацию и вирулентность вируса, изменяя функцию гомопентамерного катионного канала [26, 33]. Xia B и соавторы показали, что одного канала достаточно, чтобы вызвать гибель клеток и даже повреждение, подобное острому респираторному дистресс-синдрому *in vivo* [34]. Wang Y и соавт. обнаружили, что уровни экспрессии мутаций вируса Т9І и Т11А выше, чем уровни экспрессии дикого типа (WT), в то время как двойные мутации вируса показывают более низкие показатели гибели клеток, чем WT. По сравнению с WT вируса SARS-CoV-2 по белку E, экспрессия Т11А значительно снизила гибель клеток, что привело к меньшему высвобождению цитокинов, а также ослабила способность вируса к образованию [31].

Для разработки препаратов против вируса SARS-CoV-2 важно определить частоту и влияние мутаций. В настоящее время существуют несколько мутационных вариантов SARS-CoV-2, возникающих параллельно с ним. В связи с такой изменчивостью всегда необходимо проводить исследования молекулярно-генетических свойств и строения вируса.

Заключение

Таким образом, в результате исследовательской работы были выявлены две мутации (Т9І и Т11А) в аминокислотной последовательности E белка, свойственные линии ХВВ (Omicron) вируса SARS-CoV-2.

Конфликт интересов: Авторы не имеют потенциального конфликта интересов.

Список литературы

1. Jogalekar MP, Veerabathini A, Gangadaran P. Novel 2019 coronavirus: Genome structure, clinical trials, and outstanding questions. // *Exp Biol Med* (Maywood). – 2020. Vol. 245(11). – P. 964-969. doi: 10.1177/1535370220920540.
2. Cao Y, Yang R, Lee I, Zhang W, Sun J, Wang W, Meng X. Characterization of the SARS-CoV-2 E Protein: Sequence, Structure, Viroporin, and Inhibitors. // *Protein Sci.* – 2021. Vol. 30(6). – P. 1114-1130.
3. Marini JJ, Gattinoni L. Management of COVID-19 respiratory distress. // *J Am Med Assoc.* – 2020. Vol. 323. – P. 2329–2330
4. Wang H-Y, Li X-L, Yan Z-R, Sun X-P, Han J, Zhang B-W. Potential neurological symptoms of COVID-19. // *Ther Adv Neurol Disord.* – 2020. Vol. 13:1756286420917830.
5. Russell B, Moss C, Rigg A, Hopkins C, Papa S, van Hemelrijck M. Anosmia and ageusia are emerging as symptoms in patients with COVID-19: What does the current evidence say? // *Ecancermedicalscience.* – 2020. Vol. 14. – P. ed98.

6. Han C, Duan C, Zhang S, et al. Digestive symptoms in COVID-19 patients with mild disease severity: Clinical presentation, stool viral RNA testing, and outcomes. // *Am J Gastroenterol.* – 2020. Vol.115. – P. 916–923.
7. Zheng Y-Y, Ma Y-T, Zhang J-Y, Xie X. COVID-19 and the cardiovascular system. // *Nat Rev Cardiol.* – 2020. Vol .17. – P. 259–260.
8. Lu R., Zhao X., Li J., Niu P., Yang B., Wu H., Wang W., Song H., Huang B., Zhu N., et al. Genomic Characterisation and Epidemiology of 2019 Novel Coronavirus: Implications for Virus Origins and Receptor Binding. // *Lancet.* - 2020. V 395. - P. 565–574.
9. Kim D, Lee J-Y, Yang J-S, Kim JW, Kim VN, Chang H. The architecture of SARS-CoV-2 transcriptome. // *Cell.* – 2020. Vol. 181. – P. 914–921.
10. Jiang S, Du L, Shi Z. An emerging coronavirus causing pneumonia outbreak in Wuhan, China: calling for developing therapeutic and prophylactic strategies. // *Emerg Microbes Infect.* - 2020. Vol. 31. № 9(1). - P. 275-277.
11. Sangwan J, Tripathi S, Yadav N, Kumar Y, Sangwan N. Comparative sequence analysis of SARS nCoV and SARS CoV genomes for variation in structural proteins. // *Proc.Indian Natl. Sci. Acad.* – 2023. Vol. 89(1). – P. 60–76. doi: 10.1007/s43538-022-00140-y
12. Schoeman D., Fielding B.C. Coronavirus envelope protein: current knowledge. // *Virol. J.* – 2019. Vol. 16 (1). – P. 1-22
13. Liu D., Yuan Q., Liao Y. Coronavirus envelope protein: a small membrane protein with multiple functions // *Cell. Mol. Life Sci.* – 2007. Vol. 64 (16). – P. 2043-2048
14. Ebtisam A. Aldaais, Subha Yegnaswamy, Fatimah Albahrani, Fatima Alsowaiket, Sarah Alramadan. Sequence and structural analysis of COVID-19 E and M proteins with MERS virus E and M proteins — A comparative study. // *Biochemistry and Biophysics Reports,* - 2021. Vol. 26. –P. 101023
15. Cascella M., Rajnik M., Cuomo A., Dulebohn S.C., Di Napoli R. Features, evaluation and treatment coronavirus (COVID-19) Statpearls [Internet], StatPearls Publishing. – 2020.
16. Усербаев Б.С., Бурашев Е.Д., Мелисбек А.М., Ширинбеков М.Ж. Синтез праймеров и наработка значимых генов B.1.1.7 (Альфа) варианта вируса SARS-CoV-2. // *Биобезопасность и Биотехнология.* – 2021. № 8. – С. 41- 48.
17. Tamura K., Stecher G., and Kumar S. MEGA 11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11. // *Molecular Biology and Evolution.* – 2021. <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>
18. Saitou N. and Nei M. (1987). The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. // *Molecular Biology and Evolution* 4. – P.406-425
19. Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. // *Evolution.* - 1985. Vol. 39. – P. 783-791.
20. Zuckerkandl E. and Pauling L. Evolutionary divergence and convergence in proteins. Edited in *Evolving Genes and Proteins* by V. Bryson and H.J. Vogel. // *Academic Press, New York.* – 1965. - P. 97-166. 17.
21. Wang MY, Zhao R, Gao LJ, Gao XF, Wang DP, Cao JM. SARS-CoV-2: Structure, Biology, and Structure-Based Therapeutics Development. // *Front Cell Infect Microbiol.* – 2020. Vol. 25. – P. 10:587269. doi: 10.3389/fcimb.2020.587269
22. Aldaais EA, Yegnaswamy S, Albahrani F, Alsowaiket F, Alramadan S. Sequence and structural analysis of COVID-19 E and M proteins with MERS virus E and M proteins-A

comparative study. // *Biochem Biophys Rep.* – 2021. Vol. 26. – P. 101023. doi: 10.1016/j.bbrep.2021.101023

23. Badua CLDC, Baldo KAT, Medina PMB. Genomic and proteomic mutation landscapes of SARS-CoV-2. // *J Med Virol.* – 2021. Vol. 93(3). – P. 1702-1721. doi: 10.1002/jmv.26548.

24. Islam MR, Hoque MN, Rahman MS, Alam ASMRU, Akther M, Puspo JA, Akter S, Sultana M, Crandall KA, Hossain MA. Genome-wide analysis of SARS-CoV-2 virus strains circulating worldwide implicates heterogeneity. // *Sci Rep.* – 2020. Vol. 19;10(1). – P.14004. doi: 10.1038/s41598-020-70812-6.

25. De Maio F, Lo Cascio E, Babini G, Sali M, Della Longa S, Tilocca B, Roncada P, Arcovito A, Sanguinetti M, Scambia G, Urbani A. Improved binding of SARS-CoV-2 Envelope protein to tight junction-associated PALS1 could play a key role in COVID-19 pathogenesis. // *Microbes Infect.* – 2020. Vol. 22(10). – P. 592-597. doi: 10.1016/j.micinf.2020.08.006.

26. Abavisani M, Rahimian K, Mahdavi B, Tokhanbigli S, Mollapour Siasakht M, Farhadi A, Kodori M, Mahmanzar M, Meshkat Z. Mutations in SARS-CoV-2 structural proteins: a global analysis. // *Virol J.* - 2022 Vol. 19(1). – P. 220. doi: 10.1186/s12985-022-01951-7

27. Kim JS, Jang JH, Kim JM, Chung YS, Yoo CK, Han MG. Genome-wide identification and characterization of point mutations in the SARS-CoV-2 genome. // *Osong Public Health Res Perspect.* – 2020. Vol. 11(3). – P. 101-111. 10.24171/j.phrp.2020.11.3.05

28. Ussebayev B, Zakarya K, Kutumbetov L, Orynbayev M, Sultankulova K, Abduraimov Y, Myrzakhmetova B, Zhugunissov K, Kerimbayev A, Melisbek A, Shirinbekov M, Khaidarov S, Zhunushov A, Burashev Y. Near-Complete Genome Sequence of a SARS-CoV-2 Variant B.1.1.7 Virus Strain Isolated in Kazakhstan. // *Microbiol Resour Announc.* – 2022. Vol. 11(9). – P. e0061922. doi: 10.1128/mra.00619-22.

29. Ussebayev B, Abduraimov Y, Kozhabergenov N, Melisbek A, Shirinbekov M, Smagul M, Nusupbayeva G, Nakhanov A, Burashev Y. Complete Coding Sequence of a Lineage AY.122 SARS-CoV-2 Virus Strain Detected in Kazakhstan. // *Microbiol Resour Announc.* – 2023. Vol. 12(7). – P. e0030123. doi: 10.1128/mra.00301-23.

30. Burashev Y, Ussebayev B, Kutumbetov L, Abduraimov Y, Kassenov M, Kerimbayev A, Myrzakhmetova B, Melisbek A, Shirinbekov M, Khaidarov S, Tulman ER. Coding Complete Genome Sequence of the SARS-CoV-2 Virus Strain, Variant B.1.1, Sampled from Kazakhstan. // *Microbiol Resour Announc.* – 2022. Vol. 11(12). – P. e0111422. doi: 10.1128/mra.01114-22.

31. Wang Y, Pan X, Ji H, Zuo X, Xiao GF, Li J, Zhang LK, Xia B, Gao Z. Impact of SARS-CoV-2 envelope protein mutations on the pathogenicity of Omicron XBB. // *Cell Discov.* – 2023. Vol. 9(1). – P. 80. doi: 10.1038/s41421-023-00575-7.

32. Wang Q, Iketani S, Li Z, Liu L, Guo Y, Huang Y, Bowen AD, Liu M, Wang M, Yu J, Valdez R, Llaure AS, Sheng Z, Wang HH, Gordon A, Liu L, Ho DD. Alarming antibody evasion properties of rising SARS-CoV-2 BQ and XBB subvariants. // *Cell.* – 2023. Vol. 186(2). – P. 279-286.e8. doi: 10.1016/j.cell.2022.12.018.

33. Xia B, Wang Y, Pan X, Cheng X, Ji H, Zuo X, Jiang H, Li J, Gao Z. Why is the SARS-CoV-2 Omicron variant milder? *Innovation (Camb).* – 2022. Vol. 3(4). –P. 100251. doi: 10.1016/j.xinn.2022.100251

34. Xia B, Shen X, He Y, Pan X, Liu FL, Wang Y, Yang F, Fang S, Wu Y, Duan Z, Zuo X, Xie Z, Jiang X, Xu L, Chi H, Li S, Meng Q, Zhou H, Zhou Y, Cheng X, Xin X, Jin L, Zhang

HL, Yu DD, Li MH, Feng XL, Chen J, Jiang H, Xiao G, Zheng YT, Zhang LK, Shen J, Li J, Gao Z. SARS-CoV-2 envelope protein causes acute respiratory distress syndrome (ARDS)-like pathological damages and constitutes an antiviral target. // Cell Res. – 2021. Vol. 31(8). – P. 847-860. doi: 10.1038/s41422-021-00519-4.

35. Virus Taxonomy: 2023 Release EC 55, Jena, Germany, August 2023

36. Usserbayev, B. S. et al. Dynamics of the spread of SARS-CoV-2 variants and clades. // Eurasian Journal of Ecology, Vol.71, n.2. – P. 46-56. doi: <https://doi.org/10.26577/EJE.2022.v71.i2.05>

SARS-COV-2 ВИРУСЫНЫҢ ИЗОЛЯТТАРЫНДА Е ПРОТЕИНИНІҢ МУТАЦИЯСЫН АНЫҚТАУ

А.Т. Жунушов* , А.Б. Бердибаева

Қырғыз Республикасы Ұлттық ғылым академиясының биотехнология институты,

Бішкек, Қырғыз Республикасы

*zhunushov.asankadyr@gmail.com

Аннотация. SARS-CoV-2 коронавирусының жаңа нұсқаларының пайда болуы ауыр жіті респираторлық синдром коронавирус 2 негізгі құрылымдық ақуыздарындағы мутациялардан туындады. Вакцинация және басқа емдік тәсілдер эпидемияны тоқтатуға көмектеседі. Қазіргі уақытта ғалымдар SARS-CoV-2 коронавирусының құрылымдық ақуыздарына бағытталған препараттар мен вакциналарды әзірлеуде. Нәтижесінде белоктардағы мутацияларды есепке алу және олардың функцияға әсерін анықтау профилактикалық және емдік агенттерді сапалы өндіруге және дамытуға көмектеседі. Секвенирлеу нәтижесінде SARS-CoV-2 коронавирусының Е генінің толық нуклеотидтік тізбегін алуға мүмкіндік туды. SARS-CoV-2 вирусының изоляттарында конверттік (Е) белок мутацияларының болуы мен орналасуы SARS-CoV-2 вирусының анықтамалық тізбегіне реттілікпен туралау арқылы зерттелді. Нәтижелер SARS-CoV-2 коронавирусының Е ақуызының аминқышқылдарының тізбегіндегі ең салыстырмалы мутациялар 9 және 11 аймақтарда орын алғанын көрсетті. Ауыр жедел респираторлық синдром коронавирусының 2 штаммымен салыстырғанда 2 Т9І және Т11А мутациялары анықталды (NC 045512.2). Е протеинінің анықталған құрылымдық мутациялары дәрілік және вакцинаны әзірлеу стратегияларында қолданылуы мүмкін.

Түйін сөздер: SARS-CoV-2; COVID 19; Е ақуызы; мутация; секвенирлеу.

DETERMINATION OF E PROTEIN MUTATION IN SARS-COV-2 VIRUS ISOLATES

A.T. Zhunushov*, A.B. Berdibaeva

Institute of Biotechnology of the National Academy of Sciences of the Kyrgyz Republic,
Bishkek, Kyrgyz Republic

*zhunushov.asankadyr@gmail.com

Abstract. The emergence of new variants of the SARS-CoV-2 coronavirus is caused by mutations in the main structural proteins of severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. Vaccination and other therapeutic approaches can help stop the epidemic. Scientists are currently developing drugs and vaccines that specifically target the structural proteins of the SARS-CoV-2 coronavirus. As a result, taking into account mutations in proteins and determining their impact on function will help in high-quality production and development of preventive and therapeutic agents. As a result of sequencing, it was possible to obtain the complete nucleotide sequence of the E gene of the SARS-CoV-2 coronavirus. The presence and location of mutations in the envelope protein (E) of SARS-CoV-2 virus isolates were investigated by aligning the sequences with the reference sequence of the SARS-CoV-2 virus. The results showed that the most relative mutations in the amino acid sequence of the E protein of the SARS-CoV-2 coronavirus occurred in regions 9 and 11. Two mutations, T9I and T11A, were found compared with the Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (NC 045512.2) strain. The identified structural mutations of the E protein can be used in the strategy for developing drugs and vaccines.

Keywords: SARS-CoV-2; COVID-19; E protein; mutation; sequencing.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОЙ ИММУНИЗИРУЮЩЕЙ ДОЗЫ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ОСПЫ ВЕРБЛЮДОВ

А.Д. Валиева*^{ID}, М.С.Туысканова^{ID}, М.К.Кенжебаева^{ID}, Н.А.Сарсенкулова^{ID},
Ш.Т.Табыс^{ID}, С.С.Килибаев^{ID}, Д. И. Музарап^{ID}, М.Мамбеталиев^{ID}, К.Д.Жугунисов^{ID}

«Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» МЗ РК,
пгт Гвардейский, Казахстан
*a.dulatbekovna@biosafety.kz

Аннотация. В работе представлены результаты определения оптимальной иммунизирующей дозы инактивированной вакцины против оспы верблюдов из штамма «КМ - 40», полученный из Республиканского депозитария особо опасных возбудителей НИИ проблем биологической безопасности. Результаты исследований показали, что внутримышечное введение инактивированной вакцины против оспы верблюдов на верблюжатах образуются антитела к вирусу оспы верблюдов, титр которых зависит от вводимого препарата. На 14 сут. после вакцинации антитела в сыворотке крови верблюжатах, иммунизированных вакциной в объемах 2.0 и 3.0 мл не обнаружены, тогда как у животных, привитых в объеме 5,0 мл титр антитела составил 1:2 и 1:4 в реакции нейтрализации и реакции диффузионной преципитации, соответственно. Связи с тем применения в полевых условиях рекомендуем использовать дозу вакцины в объеме 5,0 мл. При соблюдении всех требований, указанных в регламенте по изготовлению и контролю вакцины, данная доза вакцинного препарата обеспечивает образование напряженного иммунитета против оспы верблюдов. В период вакцинации за животными вели клиническое наблюдение в течение 14 сут, у которых не зарегистрированы какие-либо клинические симптомы, за исключением небольшого уплотнения на месте введения вакцины, которое исчезало самопроизвольно через 2-3 сут после вакцинации.

Ключевые слова: вирус; инактивированная вакцина; вирус оспа верблюдов; штамм; антитела; иммунизирующая доза; РН; РДП.

Введение

Верблюдоводство в Казахстане является традиционной отраслью животноводства и важным резервуаром производства мяса, молока и шерсти в пустынной и полупустынной зонах республики. Здесь неприхотливые животные обеспечивают население высококалорийными и целебными продуктами питания – молоком, шубатом, мясом, а промышленность – ценным сельскохозяйственным сырьем – шерстью и кожей. Верблюды также широко используются в качестве транспортного средства [1].

Оспа верблюдов (ОВ) встречается практически во всех странах, где занимаются верблюдоводством, при этом часто регистрируется в арабских странах, Индии, Средней Азии, Турции и странах ближнего Востока [2-7].

На успешность развития верблюдоводства в республике наряду с другими причинами, также отрицательно влияют многие факторы, в том числе экономические ущербы, наносимые эпизоотией оспы верблюдов.

Оспа верблюдов (*Camelprox*) – контагиозная вирусная болезнь, характеризующаяся лихорадкой, отеком головы и появлением узелково - пустулезной сыпи на коже и слизистых оболочках больных животных, абортами у верблюдиц и гибелью верблюжат. К оспе восприимчивы верблюды всех возрастов. Однако чаще и тяжелее болеет молодняк. В стационарно неблагополучных по оспе зонах взрослые верблюды болеют редко в связи с тем, что почти все переболевают оспой в молодом возрасте [2,8,9].

Основным средством в мероприятиях по борьбе с оспой верблюдов является специфическая профилактика. На сегодняшний день по данным литературных источников [5, 10-13] в мире имеются 5 производителя живой аттенуированной вакцины: из России, ОАЭ, Иордании, Египта и Казахстана, а также единственный производитель инактивированной вакцины из Марокко, вакцины которых лицензированы в различных странах. Однако отсутствие коммерческих вакцин во многих странах, занимающихся разведением верблюдов, является основным препятствием для борьбы с оспой верблюдов.

Сообщения о существовании вакцины против оспы верблюдов впервые появились в Советском Союзе [14]. Однако, детали относительно штаммов вируса, а также безопасности и эффективности вакцины были неполными.

Согласно данным МЭБ (OIE, 2008) [15] аттенуированные и инактивированные вакцины против ОВ являются коммерчески доступными. Вакцинация живой аттенуированной вакциной обеспечивает защиту в течение не менее 6 лет и инактивированной вакциной - на 12 мес. Стандартизированных требований для диагностических и профилактических препаратов против оспы верблюдов нет.

Анализ доступной литературы показывает, что в настоящее время в ряде стран основным средством предупреждения и борьбы с оспой верблюдов является специфическая профилактика. Следовательно, отсутствие в республике технологии изготовления инактивированной вакцины для профилактики оспы верблюдов, наличие восприимчивого поголовья животных и очага инфекции на территории республики дает основание разработки инактивированной вакцины против оспы верблюдов.

Целью наших исследований являлось определение оптимальной иммунизирующей дозы разработанной инактивированной вакцины из штамма «КМ - 40», обеспечивающей максимальное стимулирование иммунологической перестройки организма у привитых животных.

Известно, что эффективность вакцины тесно связана со сложным технологическим процессом и зависит от многих факторов, таких как правильный выбор производственного штамма и чувствительной системы культивирования, отработка параметров культивирования для наработки высокоактивной биомассы, режима очистки вируса и эффективного режима инактивации, а также подбор эффективного адъюванта. Кроме того, качество и иммуногенность вакцинного препарата зависит от таких параметров как правильная схема вакцинации, метод введения препарата и оптимальной стандартизированной дозой вакцинации [16]. В связи с этим, следующим этапом наших исследований явилось определение оптимальной иммунизирующей дозы разработанной нами инактивированной вакцины, обеспечивающей максимальное стимулирование иммунологической перестройки

организма у привитых животных. Прежде чем приступить к определению минимальной иммунизирующей дозы вакцины нами были приготовлены экспериментальные серии вакцины, инаktivированной сорбированной против вируса оспы верблюдов по разработанной технологии.

Материалы и методы

Штамм вируса. В данной работе использован актуальный штамм «КМ - 40» (эмбриональный, 40 пассажей на развивающихся куриных эмбрионах), полученный из Республиканского депозитария особо опасных возбудителей НИИ проблем биологической безопасности с биологической активностью $6,25 \pm 0,08$ ТЦД₅₀/мл. Выбранный штамм культивировали в клеточных культурах почек ягненка с модифицированной средой Дульбекко среде Игла (DMEM) с 10% фетальной телячьей сывороткой при 37°C. Затем вирусную суспензию инаktivировали β-пропиолактоном в концентрации 0,05 %, при температуре 22 ± 1 °C в течение 6 ч, для обеспечения полной и необратимой потери инфекционной активности вируса при максимальном сохранении его антигенных свойств.

Инаktivация вируса. Инаktivацию вируса проводили химическими методами (35 % формальдегид, 15 % димерэтиленимин, 98 % бетапропиолактон в различных конечных концентрациях 0,05-0,5 %, при pH реакционной среды 6,8-7,5, температуре 22-37 °C в течение 24 ч. Процесс инаktivации останавливали добавлением 25 % раствора бисульфита или тиосульфата натрия до конечной концентрации 0,25 % в зависимости от инаktivантов. После нейтрализации инаktivантов отбирали пробы для определения полноты инаktivации, стерильности. Инаktivированную суспензию хранили при температуре 4-6 °C. Полноту инаktivации вируса определяли путем трехкратного пассирования в культуре клеток.

Приготовление инаktivированной вакцины. Для приготовления вакцины против оспы верблюдов к инаktivированной суспензии вируса оспы добавляли 6 %-ный гель гидроокиси алюминия (ГОА) до конечной концентрации 5-10 мг/см³, затем тщательно перемешивали и выдерживали при температуре (2 - 6) °C в течение суток для адсорбции вирусного антигена. Через 24 ч осторожно, не взбалтывая, декантировали 1/3 надосадка, доливали новую партию инаktivированной вирусной суспензии до первоначального объема, тщательно перемешивали и выдерживали еще 24 ч. Далее полученную смесь (вакцинная жидкость) разливали в стерильные флаконы и герметично закрывали горловину резиновыми пробками в асептических условиях.

Вакцинация животных. Определение прививочной дозы экспериментальных серий инаktivированной вакцины проводилось в лабораторных условиях на верблюжатах 12-15 мес возраста. Животных разделили на три группы по 3 головы и в первую группу вводили вакцины трем животным внутримышечно в задние конечности по 2 мл, во вторую группу – по 3 мл, в третью группу – по 5 мл. В период вакцинации за животными вели клиническое наблюдение в течение 14 сут.

Авторы подтверждают соблюдение институциональных и национальных стандартов по использованию лабораторных животных в соответствии с Consensus Author Guidelines for Animal Use (IAVES, July 23, 2010). Протокол исследования одобрен локальной комиссией по биологической этике Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности КН МОН РК (протокол от 14.04.2021).

Постановка реакции нейтрализации. Вируснейтрализующую активность антител в сыворотках крови определяли в реакции нейтрализации (РН) согласно методике [17].

Постановка реакции диффузионной преципитации (РДП). Данная реакция была поставлена согласно методике [17]

Результаты

В период вакцинации за животными вели клиническое наблюдение в течение 14 сут, у которых не зарегистрированы какие-либо клинические симптомы, за исключением небольшого уплотнения на месте введения вакцины, которое исчезало самопроизвольно через 2-3 сут после вакцинации. Результаты термометрии представлен в таблице 1.

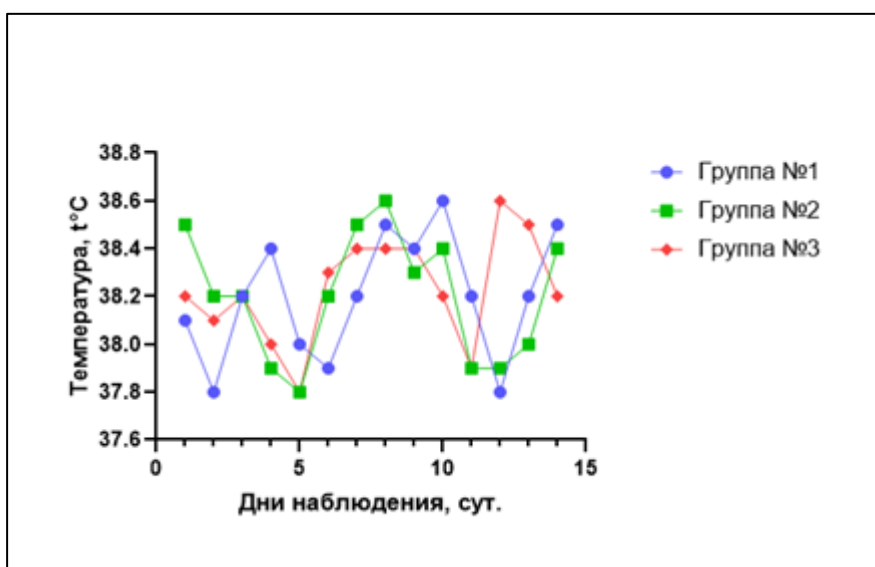


Таблица 1 – Температура тел привитых инактивированной вакциной против ОВ в зависимости от иммунизирующей дозы

Температура тела всех иммунизированных животных была в пределах нормы в течение всего периода исследования. Общее состояние животных было удовлетворительным. Далее с целью определения динамики формирования антител у всех животных отобрали сыворотки крови и исследовали на наличие антител, используя соответствующие диагностические РДП и РН. В опытах установили, что экспериментальные образцы вакцины стерильны, безвредны для лабораторных животных, вызывают у верблюдов формирование выраженного иммунного ответа независимо от объема и дозы вводимого инактивированного антигена вакцины (таблица 2).

Таблица 2 – Динамика формирования антител к ВОВ у животных, привитых инактивированной вакциной против ОВ в зависимости от иммунизирующей дозы

Доза вакцины	0 сут		7 сут		14 сут		21 сут		28 сут	
	РН	РДП	РН	РДП	РН	РДП	РН	РДП	РН	РДП
2 мл	0	0	0	0	0	0	0	1:2	1:2	1:4
3 мл	0	0	0	0	0	0	1:2	1:2	1:2	1:4

5 мл	0	0	0	1:2	1:2	1:4	1:4	1:4	1:4	1:4
PBS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

На 14 сут после вакцинации вируснейтрализующие антитела в сыворотке крови верблюжат, иммунизированных вакциной в объемах 2,0 и 3,0 мл не обнаружены, тогда как у животных, привитых в объеме 5,0 мл титр антитела составил 1:2 и 1:4 в РН и РДП, соответственно. Титр антител на 21 сут после вакцинации у животных, иммунизированных вакциной в объеме 2,0 мл, составил 1:2. Повышение титра антител при этой дозе (2,0 мл) наблюдалось на 28 сут. Уровень антител при дозе 3 мл на 21 сут составила 1:2 в РН и РДП, тогда как максимальное накопление антител отмечались на 28 сут и составило 1:2 в РН (в РДП 1:4). Показатели прививочной дозы вакцины в объеме 5 мл для верблюжат по формированию иммунного ответа оказались наиболее высокими по сравнению с другими дозами вакцины.

Таким образом, показано, что после инъекции вакцины у верблюдов образуются антитела к ВОВ, титр которых зависит от дозы препарата. Следовательно для применения в полевых условиях рекомендуем использовать вакцину в объеме 5 мл

При изучении иммунного ответа у привитых животных установлено, что ранее срока наступления иммунитета против ВОВ начинается на 28-й день после первой иммунизации, однако 100% иммунный ответ наступает на 25-й день после второй вакцинации. При изучении продолжительности иммунитета установлено, что гуморальный иммунный ответ у верблюдов в крови сохраняется в течение 90 дней после второй иммунизации. Иные результаты были получены другими исследователями при полевых испытаниях инактивированной вакцины на верблюдах. Разница между полевыми испытаниями, проведенными Khalafalla и El Dirdiri, и нашими результатами заключается в обнаружении ВНА у вакцинированных верблюдов в течение года с титрами от 1:4 до 1:32. В нашем исследовании антитела к ВОВ не были обнаружены у вакцинированных верблюдов на 180-й и 365-й день.

Обсуждение

Исследование безопасности и иммуногенности вакцины основанной на аттенуированном вирусе - модифицированном вирусе осповакцины Анкара (MVA) [18], тщательно охарактеризовали реакции антител, вызванные вакцинацией MVA различными способами и дозами. MVA в целом хорошо переносился при всех уровнях доз и при всех способах введения. Группы с более высокими дозами для каждого пути вызывали в целом более высокие ответы. Важно отметить, что однократное введение MVA в группах с более высокими дозами (1×10^7 внутрикожно, 1×10^8 подкожно и 1×10^8 внутримышечно) вызывало обнаруживаемые титры нейтрализующих антител у большинства субъектов в течение 14 дней [19].

Анализируя проведенные исследования установлено, что ранний срок частичного иммунного ответа у верблюдов, иммунизированных инактивированной вакциной начинается на 28 сут после первой иммунизации, однако 100% иммунный ответ был сформирован на 21-28 сут после второй вакцинации. При изучении продолжительности иммунитета, создаваемой инактивированной вакциной в крови вакцинированных животных были выявлены специфические антитела к вирусу ОВ в течение 90 сут после второй иммунизации,

однако дальнейшие исследования сыворотки, отобранные с 120 по 180 сут после вакцинации, показали отсутствие ВНА в организме вакцинированных животных. Несмотря на отсутствие гуморального иммунитета вакцинированные животные противостояли к вирулентному вирусу при экспериментальном заражении, что подтверждает присутствие напряжённости и продолжительности клеточного иммунитета в организме иммунизированных животных даже на 180 и 365 сут после вакцинации.

Также аналогичное исследование, проведенное сотрудниками научно-исследовательского института проблем биологической безопасности [20] оптимальной иммунизирующей дозы гетерологической вакцины на основе вируса оспы коз для КРС против узелкового дерматита показали, что все животные, вакцинированные разными испытанными дозами гетерологической вакцины, были устойчивы к контрольному заражению вирулентным штаммом вируса узелкового дерматита КРС. Вакцина, изготовленная на основе штамма G₂₀-LKV вируса оспы коз, обладает протективными свойствами в отношении заражения КРС вирулентным вирусом узелкового дерматита при иммунизирующих дозах от 15 000 до 80 000 ТЦД₅₀. Оптимальная иммунизирующая доза для КРС составляет 15 000 ТЦД₅₀, при которой у вакцинированных животных не отмечаются поствакцинальные осложнения [20].

Среди разных видов вакцин главным преимуществом инаktivированных вакцин является их безопасность. Доза вакцины должна быть оптимальной, обеспечивающей протективный эффект. Следствием неправильного подбора иммунизирующей дозы вакцины может быть низкая иммуногенность или вызывать аутоиммунные реакции в результате поликлональной активации лимфоцитов, стимулирования образования аутоантител и специфических клонов аутореактивных лимфоцитов. В нашем исследовании для оптимальной иммунизирующей дозы, обеспечивающей выработку напряженного иммунитета, опыт был проведен на верблюдах, свободных от антител к ортопоксвирусу. При этом были испытаны три дозы вакцины в следующих объемах: 2,0 мл, 3,0 мл и 5,0 мл. Среди протестированных доз вакцины была выбрана доза 5,0 мл, которая способна вызвать максимальный иммунный ответ в организме привитых животных.

При этом локальная реакция в участках инокуляции вакцины в виде незначительной припухлости, которая на 3–4-е сутки рассасывалась без проявления каких-либо клинических признаков болезни отмечалась во всех исследовательских работах [19, 20].

Заключение

Таким образом, показано, что после инъекции вакцины у верблюдов образуются антитела к ВОВ, титр которых зависит от дозы препарата. Для применения в полевых условиях рекомендуем использовать вакцину в объеме 5 мл. При соблюдении всех требований, указанных в регламенте по изготовлению и контролю вакцины, эта доза вакцинного препарата обеспечивает образование напряженного иммунитета против оспы верблюдов.

Литература

1. Ручкина Г.А., Вахитова Р.З. Верблюдоводство: Уч. пособие для студ. вузов. – К.: ТОО «Костанайполиграфия», 2008. – 142 с. ISBN 9965-851-13-1

2. Килибаев С.С., Нургазиев Р.З., Абсатова Ж.С., Битешова Э.Т., Валиева А.Д., Табынов К.К., Мамбеталиев М. Антигенная активность аттенуированных штаммов вируса оспы верблюдов // Вестник Кыргызского национального аграрного университета им. К.И. Скрябина. — 2015. — №1(33). — С. 23-27.
3. Самарцев А.А., Проксин С.Т. Оспа верблюдов // Тр. КазНИВИ. — Алма-Ата, 1950. — С. 198-200.
4. Kriz B. A study of camelpox in Somalia. J Comp Pathol. 1982 Jan;92(1):1-8. doi: 10.1016/0021-9975(82)90037-8. PMID: 6279703.
5. Wernery U., Meyer H., Pfeffer M. Camelpox in United Arab Emirates and its prevention // Camel Prac. and Res. — 1997. — Vol. 4 (2). — P. 135-139.
6. Khalafalla, A. I., & Mohamed, M. E. H. (1996). Clinical and epizootiological features of camelpox in Eastern Sudan. Journal of Camel Practice and Research, 3(2), 99-102.
7. Bera B.C., Shanmugasundaram K., Barua S. et al. Zoonotic cases of camelpox infection in India // Vet. Microbiol. — 2011. — Vol. 152(1-2). — P. 29-38 doi: 10.1016/j.vetmic.2011.04.010. Epub 2011 Apr 22. PMID: 21571451.
8. Жугунисов К.Д. Совершенствование средств профилактики и технологии приготовления вакцины против блутанга [[Текст]] : дис. ... канд. биол. наук : 03.01.06 - биотехнология / К.Д. Жугунисов; Кыргызской государственной медицинской академии им. И.К. Ахунбаева. — Бишкек : — 2019. — 196 с.
9. Сюрин Б.Н., Фомина Н.В. Вирус оспы верблюдов. // В кн.: Частная ветеринарная вирусология / по ред. Б.Н.Сюрина. — М.: Колос, 1979. — С. 16-18.
10. EL-Harrak M., Isolation of camelpox virus, development of an inactivated vaccine and prophylactic application in Morocco // Int. meeting on camel production and future perspectives. — Al Ain, 1998. — P.736.
11. Hafez SM, al-Sukayran A, dela Cruz D, Mazloun KS, al-Bokmy AM, al-Mukayel A, Amjad AM. Development of a live cell culture camelpox vaccine. Vaccine. 1992;10(8):533-9. doi: 10.1016/0264-410x(92)90353-l. PMID: 1621417.
12. Kaaden O.R., Wernery U., Klopries M. Camel fibroblast cell line DUBCA and its use for diagnosis and prophylaxis of camel diseases // Proc. of the Intl. Conf. of Livestock Production in Hot Climates, Muscat, Oman: A49. — 1995.
13. Wernery U, Zachariah R. Experimental camelpox infection in vaccinated and unvaccinated dromedaries. Zentralbl Veterinarmed B. 1999 Mar;46(2):131-5. doi: 10.1111/j.0931-1793.1999.00250.x. PMID: 10216456.
14. Борисович Ю. Ф.. Оспа верблюдов. в кн.: Малоизвестные заразные болезни животных. (под ред. Орлов Ф.М.) — 2-е изд., перераб. и доп. — Москва: Колос, 1973. — 311 с.
15. Elliot H, Tuppurainen E. Camelpox. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, Vol. 2, Chap. 2.9.2. 2008. — P. 177-184.
16. Верблюдоводство в Казахстане. [Электронный ресурс]. — 2023. — URL: <https://agroexpert.kz/articles/zhivotnovodstvo/verbludovodstvo> (дата обращения 15.09.2023)
17. Сюрин В.Н., Белоусова Р.В., Фомина Н.В./ Ветеринарная вирусология/Колос, Москва /1984
18. Гаффаров Х. З., Иванов А. В., Дуплева Л. Ш., Яруллин А. И., Ефимова М. А., Определение оптимальной иммунизирующей дозы ассоциированной вакцины, сконструированной на основе антигенов аденовируса I-ой и II-ой подгрупп, герпесвируса

типа I, вируса парагриппа-3 и вируса вирусной диареи — болезни слизистых оболочек крупного рогатого скота // «Живые и биокосные системы». – 2014. – № 9, –с.1-12

19. Marissa B. Wilck, Michael S. Seaman, Lindsey R. Baden, Stephen R. Walsh, Lauren E. Grandpre, Colleen Devoy, Ayush Giri, Jane A. Kleinjan, Lizanne C. Noble, Kristen E. Stevenson, Haesook T. Kim, Raphael Dolin, Safety and Immunogenicity of Modified Vaccinia Ankara (ACAM3000): Effect of Dose and Route of Administration, The Journal of Infectious Diseases, Volume 201, Issue 9, 1 May 2010, Pages 1361–1370, <https://doi.org/10.1086/651561>

20. Абитаев Р.Т., Кондибаева Ж.Б., Аманова Ж.Т., и др. Определение оптимальной иммунизирующей дозы гетерологической вакцины вируса оспы коз (Poxviridae: Chordopoxvirinae: Capripoxvirus) против узелкового дерматита // Вопросы вирусологии. - 2022. - Т. 67. - №4. - С. 304-309. doi: 10.36233/0507-4088-116

References

1. Ruchkina G.A., Vahitova R.Z. Verbyudovodstvo: Uch. posobie dlya stud. vuzov. – K.: TOO «Kostanapoligrafiya», 2008. – 142 p. ISBN 9965-851-13-1
2. Kilibaev S.S., Nurgaziev R.Z., Absatova J.S., Biteshova E.T., Valieva A.D., Tabynov K.K., Mambetaliev M. Antigennaya aktivnost' attenuirovannyh shtammov virusa ospy verbyudov // Vestnik Kyrgyzskogo nacional'nogo agrarnogo universiteta im. K.I. Skryabina. — 2015. — №1(33). — p. 23-27.
3. Samarcev A.A., Proksin S.T. Ospa verbyudov // Tr. KazNIVI. – Alma-Ata, 1950. – p. 198-200.
4. Kriz B. A study of camelpox in Somalia. J Comp Pathol. 1982 Jan;92(1):1-8. doi: 10.1016/0021-9975(82)90037-8. PMID: 6279703.
5. Wernery U., Meyer H., Pfeffer M. Camelpox in United Arab Emirates and its prevention // Camel Prac. and Res. – 1997. – Vol. 4 (2). – P. 135-139.
6. Khalafalla A.I., Mohamed M.E.M., Clinical and epizootological features of camelpox in Eastern Sudan // J. Camel Prac. And Res. – 1996. – Vol. 3 (2). – P. 99-102.
7. Bera B.C., Shanmugasundaram K., Barua S. et al. Zoonotic cases of camelpox infection in India // Vet. Microbiol. – 2011. – Vol. 152(1-2). – P. 29-38 doi: 10.1016/j.vetmic.2011.04.010. Epub 2011 Apr 22. PMID: 21571451.
8. Zhugunissov K.D. Sovershenstvovanie sredstv profilaktiki i tehnologii prigotovleniya vakciny protiv blutanga [[Tekst]] : dis. ... kand. biol. nauk : 03.01.06 - biotekhnologiya / Zhugunissov K.D; Kyrgyzskoi gosudarstvennoi medicinskoi akademii im. I.K. Ahunbaeva. – Bishkek : – 2019. – 196 p.
9. Syurin B.N., Fomina N.V. Virus ospy verbyudov. // V kn.: CHastnaya veterinarnaya virusologiya / po red. B.N.Syurina. – M.: Kolos, 1979. – p. 16-18.
10. EL-Harrak M., Isolation of camelpox virus, development of an inactivated vaccine and prophylactic application in Morocco // Int. meeting on camel production and future perspectives. – Al Ain, 1998. – P.736.
11. Hafez SM, al-Sukayran A, dela Cruz D, Mazloun KS, al-Bokmy AM, al-Mukayel A, Amjad AM. Development of a live cell culture camelpox vaccine. Vaccine. 1992;10(8):533-9. doi: 10.1016/0264-410x(92)90353-l. PMID: 1621417.

12. Kaaden O.R., Wernery U., Klopries M. Camel fibroblast cell line DUBCA and its use for diagnosis and prophylaxis of camel diseases // Proc. of the Intl. Conf. of Livestock Production in Hot Climates, Muscat, Oman: A49. – 1995.
13. Wernery U, Zachariah R. Experimental camelpox infection in vaccinated and unvaccinated dromedaries. Zentralbl Veterinarmed B. 1999 Mar;46(2):131-5. doi: 10.1111/j.0931-1793.1999.00250.x. PMID: 10216456.
14. Borisovich YU. F.. Ospa verblyudov. v kn.: Maloizvestnye zaraznye bolezniivotnyh. (pod red. Orlov F.M.) – 2-e izd., pererab. i dop. – Moskva: Kolos, 1973. – 311 p.
15. Elliot H, Tuppurainen E. Camelpox. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals, Vol. 2, Chap. 2.9.2. 2008. – P. 177-184.
16. Verblyudovodstvo v Kazahstane. [Electronic resource]. – 2023. – URL: <https://agroexpert.kz/articles/zhivotnovodstvo/verbludovodstvo> (date of application 15.09.2023)
17. Syurin V.N., Belousova R.V., Fomina N.V./ Veterinarnaya virusologiya/Kolos, Moskva /1984
18. Gaffarov H. Z., Ivanov A. V., Dupleva L. SH., YArullin A. I., Efimova M. A., Opređenje optimal'noi immuniziruyushei dozy asociirovannoi vakciny, skonstruirovannoi na osnove antigenov adenovirusa I-oi i II-oi podgrupp, herpesvirusa tipa I, virusa paragripa-3 i virusa virusnoi diarei — bolezni slizistyh obolochek krupnogo rogatogo skota // «Jivye i biokosnye sistemy». – 2014. – № 9, –p.1-12
19. Marissa B. Wilck, Michael S. Seaman, Lindsey R. Baden, Stephen R. Walsh, Lauren E. Grandpre, Colleen Devoy, Ayush Giri, Jane A. Kleinjan, Lizanne C. Noble, Kristen E. Stevenson, Haesook T. Kim, Raphael Dolin, Safety and Immunogenicity of Modified Vaccinia Ankara (ACAM3000): Effect of Dose and Route of Administration, The Journal of Infectious Diseases, Volume 201, Issue 9, 1 May 2010, Pages 1361–1370, <https://doi.org/10.1086/651561>
20. Abitaev R.T., Kondibaeva J.B., Amanova J.T., i dr. Opređenje optimal'noi immuniziruyushei dozy geterologicheskoi vakciny virusa ospy koz (Poxviridae: Chordopoxvirinae: Capripoxvirus) protiv uzelkovogo dermatita // Voprosy virusologii. - 2022. - T. 67. - №4. - p. 304-309. doi: 10.36233/0507-4088-116

ТҮЙЕ ШЕШЕГІНЕ ҚАРСЫ БЕЛСЕНДІ ЕМЕС ВАКЦИНАНЫҢ ОҢТАЙЛЫ ИММУНДАУ ДОЗАСЫН АНЫҚТАУ

А.Д. Валиева*, М.С.Туысканова, М.К.Кенжебаева, Н.А.Сарсенкулова,
Ш.Т.Табыс, С.С.Килибаев, Д. И. Музарап, М.Мамбеталиев, К.Д.Жугунисов

ҚР ДСМ «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты»,

Гвардейский ктк, Қазақстан

*a.dulatbekovna@biosafety.kz

Аннотация. Жұмыста биологиялық қауіпсіздік проблемалары ғылыми-зерттеу институтының Республикалық ерекше қауіпті қоздырғыштар депозитарийінен алынған КМ - 40 штамынан түйе шешегіне қарсы белсенді емес вакцинаның оңтайлы иммундау дозасын анықтау нәтижелері берілген. Зерттеу нәтижелері инактивацияланған түйе шешек

вакцинасын бұлшықет ішіне енгізу кезінде түйе шешегінің вирусына қарсы антиденелер түзілетінін көрсетті, олардың титрі препараттың дозасына байланысты. 14 күн бойы вакцинациядан кейін вакцинамен иммунизацияланған түйелердің қан сарысуында 2,0 және 3,0 мл көлемінде антиденелер анықталмады, ал 5,0 мл көлемінде егілген жануарларда бейтараптандыру реакциясында антиденелер титрі 1:2 және 1:4 болды, және тиісінше диффузиялық преципитация реакциясында нәтиже сәйкес келеді. Далалық жағдайда қолдану үшін вакцинаны 5,0 мл көлемінде қолдануды ұсынамыз. Вакцинаны өндіру және бақылау ережелерінде көрсетілген барлық талаптар орындалса, вакцина препаратының бұл дозасы түйе шешек ауруына қарсы қарқынды иммунитеттің қалыптасуын қамтамасыз етеді.

Түйін сөздер: вирус; белсендірілмеген вакцина; түйе шешесінің вирусы; штамм; антиденелер; иммундау дозасы; RN; RDP.

DETERMINATION OF THE OPTIMUM IMMUNIZING DOSE OF INACTIVATED VACCINE AGAINST CAMEL POX

A.D.Valieva^{ID}, M.S. Tuyskanova^{ID}, M.K. Kenzhebaeva^{ID}, N.A. Sarsenkulova^{ID},
Sh.T. Tabys^{ID}, S.S. Kilibayev^{ID}, D.I. Muzarap^{ID}, M. Mambetaliev^{ID}, K.D. Zhugunisov^{ID}

«Research Institute of Biological Safety Problems» Ministry of Health of the Republic of
Kazakhstan, Guardesky, Kazakhstan

*a.dulatbekovna@biosafety.kz

Annotation. The paper presents the results of determining the optimal immunising dose of inactivated vaccine against camelpox from the strain "KM - 40", obtained from the Republican Depository of especially dangerous pathogens of the Research Institute of Biological Safety Problems. The results of studies showed that intramuscular administration of inactivated vaccine against camelpox on camel rats formed antibodies to camelpox virus, the titre of which depended on the dose of the preparation. At 14 days after vaccination no antibodies were detected in the blood serum of camels immunised with the vaccine in the volumes of 2.0 and 3.0 ml, whereas in animals immunised in the volume of 5.0 ml the antibody titre was 1:2 and 1:4 in the neutralisation reaction and diffusion precipitation reaction, respectively. For use in the field, we recommend the use of 5.0 ml vaccine. If all the requirements specified in the regulations on vaccine production and control are met, this dose of the vaccine preparation ensures the formation of intense immunity against camelpox.

Keywords: virus; inactivated vaccine; camel pox virus; strain; antibodies; immunizing dose; RN; RDP.

ИЗУЧЕНИЕ ПРОТЕКТИВНЫХ СВОЙСТВ И НАПРЯЖЕННОСТИ ИММУНИТЕТА ВАКЦИННОГО ШТАММА «G₂₀-LKV» ВИРУСА ОСПЫ КОЗ ПРИ ИММУНИЗАЦИИ ОВЕЦ ПРОТИВ ОСПЫ ОВЕЦ

Ж.Б. Кондибаева* , Ж.Т. Аманова , А.К. Усембай , Р.Т. Абитаев ,
Ж.Ж. Саметова , Ш.С. Тұрыскелді , Е.А. Булатов 

«Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» МЗ РК,
пгт. Гвардейский, Казахстан
*zh.kondybaeva@ biosafety.kz

Аннотация. В статье представлены результаты исследований по определению иммуногенности вакцины против оспы овец из штамма G₂₀-LKV вируса оспы коз. В опытах, проведенных на овцах 6-12 мес. возраста установили, что гетерогенная вакцина против оспы овец обладает высокой иммуногенностью для овец. Иммунизация вызывала образование в крови овец вируснейтрализующих антител в титрах $1,87 \pm 0,23 \log_2$ и обеспечила протективность на 14 сут после вакцинации, пик среднего титра антител $2,87 \pm 0,25 \log_2$ на 21 сут. Для подтверждения наличия напряженного иммунитета в дальнейшем все группы иммунизированных животных и контрольных, были заражены вирулентным штаммом «Афганский» вируса оспы овец в дозе 1000 ИД₅₀. Животные контрольной группы реагировали на заражение и заболели с характерными клиническими признаками оспы овец (гипертермия, папулы и пустулы в месте введения). У вакцинированных животных не наблюдалось клинических признаков характерных для оспы овец, в течение 14 суток наблюдения. Общее состояние животных было удовлетворительным, побочных явлений, припухлости и развития оспенного процесса на месте введения не выявлено. Таким образом, анализ полученных результатов показал, что после вакцинации у иммунизированных животных в сыворотках крови отмечалось наличие специфических антител достаточно высокого уровня и формирование надежного защитного иммунитета.

Ключевые слова: вакцина; оспа овец; оспа коз; иммунизирующая доза; протективность.

Введение

Оспа овец и оспа коз - вирусные болезни овец и коз, характеризующиеся лихорадкой, образованием папул или узелков, пустул (редко), внутренних поражений (в частности, в легких), с летальным исходом. Обе болезни вызывают штаммы каприпоксвируса, которые могут инфицировать овец и коз. Хотя большинство исследованных штаммов являются причиной проявления более тяжелой клинической формы болезни как у овец, так и у коз, были выделены некоторые штаммы одинаково патогенные для обоих видов животных.

По современной классификации, возбудители этих болезней ДНК - содержащие вирусы оспа овец (sheeppoxvirus) и оспа коз (goatpoxvirus) и узелкового дерматита (Lumpyskindisease) КРС входят в род Capripoxvirus в обширном семействе Poxvirida, состоят в

близком генетическом, антигенном и серологическом родстве, но по патогенности обладают строгой видовой специфичностью и являются отдельными таксономическими видами [2, 3, 4].

Штаммы SPPV и GTPV могут передаваться от овец козам и наоборот, хотя большинство вызывают более тяжелые клинические формы болезни только у одного вида. SPPV и GTPV являются трансграничными болезнями, которые регулярно распространяются на сопредельные, эндемичные территории. Оспа овец и оспа коз эндемичны в Африке к северу от экватора и в странах Среднего Востока и Азии (см. OIE WAHIS для получения последней информации о распространении (<http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/wahis-portal-animal-health-data/>)).

Для обеспечения защиты от оспы овец и оспы коз используют разнообразные аттенуированные живые и инактивированные вакцины против каприпоксвируса. Все штаммы каприпоксвируса овец, коз или КРС, исследованные на настоящее время, имеют главный нейтрализующий сайт, так что животные, перенесшие заражение одним штаммом становятся резистентными к заражению другими штаммами (Capstick, 1961). Таким образом, существует возможность использовать отдельный штамм каприпоксвируса для защиты как овец, так и коз от всех полевых штаммов вируса, независимо от того, имеют ли они азиатское или африканское происхождение (Kitching et al., 1986; Kitching & Taylor, 1985). Однако данные полевых испытаний предполагают, что некоторые штаммы являются довольно специфичными по отношению к хозяину и используются только у овец против вируса оспы овец и только у коз против вируса оспы коз.

Ряд штаммов каприпоксвируса имеет широкое применение в качестве живых вакцин (Davies & Mbugwa, 1985), например, Румынский и RM-65 штаммы, используемые, главным образом, для овец, и штаммы Mysore и Gorgan, используемые для коз. Недавно было подтверждено, что очевидная идентичность традиционно используемого кенийского штамма 0240 вакцинного вируса оспы овец и оспы коз (KSGP) фактически является LSDV (Turpurainen et al., 2014). Следует оценивать и учитывать идентичность и аттенуированность штамма вируса при выборе штаммов вакцин для использования у КРС, овец и коз. Защитная доза зависит от используемого вакцинного штамма. Иммунитет у овец и коз к каприпоксвирусу после вакцинации штаммом 0240 длится более года, а румынский штамм обеспечивает защиту не менее 30 месяцев [10, 11, 12].

Все исследованные к настоящему времени штаммы каприпоксвируса антигенно схожи. Из-за этой антигенной гомологии всех штаммов существует возможность использования одного вакцинного штамма для трёх инфекций [13], как при ортопоксвирусах: по данным Всемирной организации здравоохранения, эффективность вакцины от натуральной оспы для профилактики оспы обезьян составляет около 85%

Все исследованные к настоящему времени штаммы каприпоксвируса антигенно схожи. Из-за этой антигенной гомологии всех штаммов существует возможность использования одного вакцинного штамма для трёх инфекций [14], как при ортопоксвирусах: по данным Всемирной организации здравоохранения, эффективность вакцины от натуральной оспы для профилактики оспы обезьян составляет около 85% [15, 16]. В связи с этим, в настоящее время перспективным направлением является применение вакцинных препаратов с использованием гетерологичных штаммов.

Целью наших исследований является определение иммунизирующей дозы гетерологической вакцины на основе вируса оспы коз, против оспы овец.

Материалы и методы

Животные. Иммунизирующую дозу вакцины проверяли на клинически здоровых овцах невакцинированных против оспы овец. До вакцинации определяли иммунный фон у овец к вирусу оспы овец. С этой целью сыворотки крови исследовали в реакции нейтрализации (РН) на наличие вируснейтрализующих антител к вирусу оспы овец.

Вакцинация. В качестве объекта исследований использовали аттенуированный вакцинный штамм «G20-LKV» вируса оспы коз (GenBank:AY077836.1), полученный путем последовательных пассажей в культуре клеток почки ягнят с биологической активностью $10^{6.00}$ ТЦД₅₀/см³, и эпизоотический вирус оспы овец, вирулентный штамм «Афганский» с инфекционной активностью $10^{4.5}$ ИД₅₀.

До использования и во время транспортировки вакцину хранили при температуре (2-8)°С. Перед применением лиофилизированную вакцину, соблюдая правила асептики, растворяли физиологическим раствором. Для этого в ампулы вносили физиологический раствор в объеме, равном объему до высушивания и тщательно встряхивали до полного растворения вакцины. После растворения вакцину разводили стерильным физиологическим раствором для получения необходимой прививной дозы. Вакцину использовали в течение 2 час с момента вскрытия ампулы.

Для определения иммунизирующей дозы гетерологической вакцины использовали овец 6-12 месячного возраста (15 гол овец). Животные были распределены на 5 групп по 3 овцы в каждой. Животные с 1 по 4 группы были иммунизированы подкожно в объеме 1,0 мл вакциной в дозах 500, 1000, 3000, 6000 ТЦД₅₀ соответственно, а 5 группа являлась контрольной. На 7, 14 и 21 сутки вакцинации были отобраны пробы сывороток крови на наличие вируснейтрализующих антител в реакции нейтрализации (РН). Для РН использовали сыворотку после предварительной инактивации при 56°С в течение 30 мин. Вируснейтрализующую активность сывороток определяли по индексу нейтрализации, который вычисляли с учетом разницы логарифмических показателей титров контрольной и испытуемой сывороток.

Изучение протективных свойств вакцины

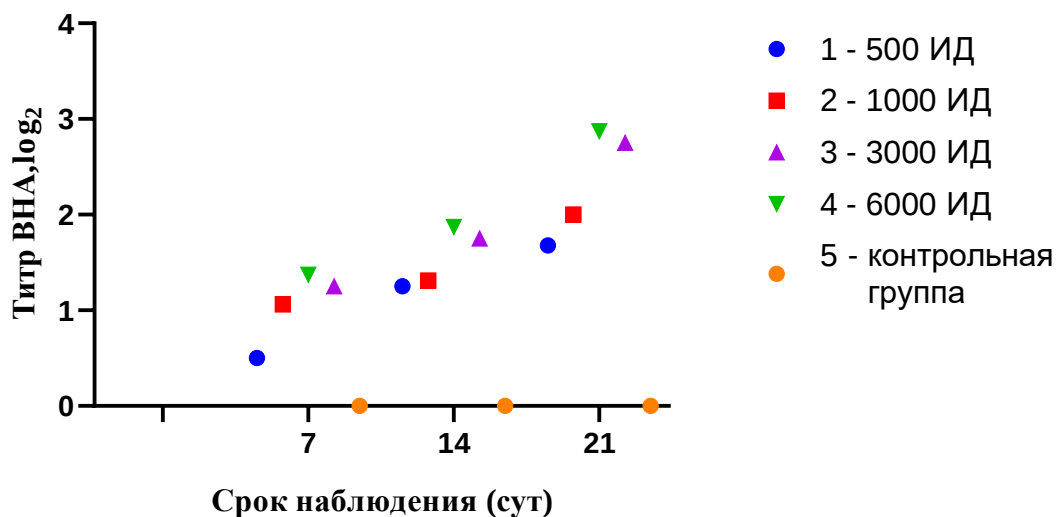
На 21 сут после вакцинации всех вакцинированных и контрольных животных заражали вирулентным штаммом «Афганский» вируса оспы овец в дозе 1000 ИД₅₀ в объеме 0,5 мл. Ежедневно, в течение 21 сут измерялась температура тела инфицированных овец.

Статистическая обработка экспериментальных данных. Полученные данные анализировали с помощью программы GraphPadPrism 6.0. Статистически значимыми считали различия при $P < 0.05$.

Результаты исследований

Результаты определения титра вируснейтрализующих антител в сыворотках крови иммунизированных животных в зависимости от дозы вакцинации представлены в рисунке 1

Рисунок 1 – Результаты определения титра вируснейтрализующих антител в сыворотках крови иммунизированных животных



Из данного рисунка 1 видно, что титр антител в сыворотках крови овец через 7, 14 и 21 суток после введения вакцины составил от $0,50 \pm 0,00$ до $2,87 \pm 0,25 \log_2$ в различные сроки после вакцинации.

Животные контрольной группы реагировали на заражение и заболели с характерными клиническими признаками оспы овец. У контрольных животных на 4-5 сут отмечались покраснение место введения в диаметре 1,5-2 см, и на 7-8 сут у обоих контрольных отмечалось повышение температуры тела (от $40,5$ до $41,0$)°C.

(Рис 1 а), б), и рис 2)

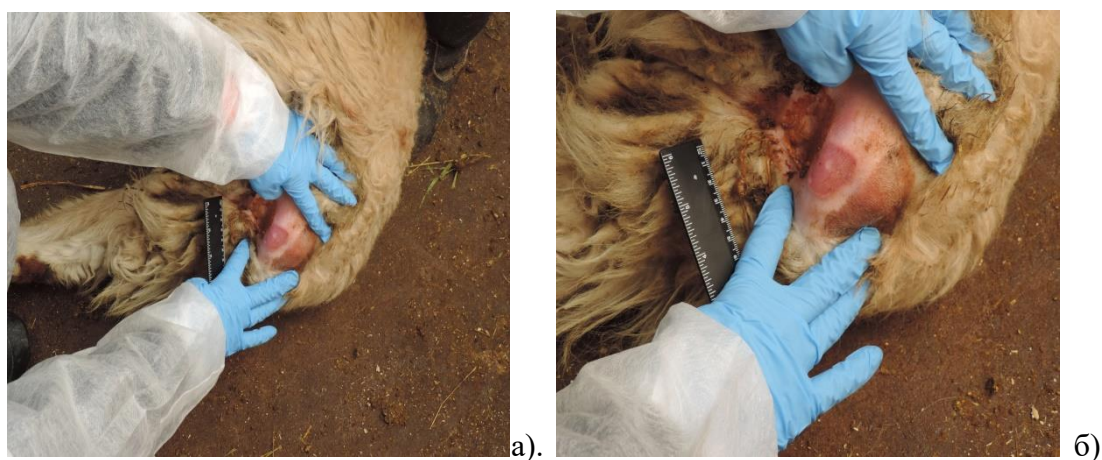


Рисунок 1 – Папулы и пустулы в местах введения эпизоотическим штаммом «Афганский» вируса оспы овец в дозе 1000 ИД₅₀.



Рисунок 2 – Температура тела овец, находившихся в опыте по определению иммуногенности вакцины против ЧМЖЖ

У вакцинированных животных не наблюдалось клинических признаков характерных для оспы овец, в течение 14 суток наблюдения. Температура тела была в пределах нормы (39,0-39,5°C). Общее состояние животных было удовлетворительным. После вакцинации все животные оставались клинически здоровыми без каких-либо изменений аппетита и поведения. Побочных явлений, припухлости на месте введения не выявлено.

Обсуждение

На сегодняшний день, по результатам многочисленных исследований установлено, что гетерологичные вакцины не уступают гомологичным вирусвакцинам против ЧМЖЖ по иммуногенной активности. Известно, использование в ряде стран вирусвакцины из аттенуированного штамма RM/65 вируса оспы овец (BOO), но она оказалась не эффективной против некоторых местных полевых изолятов BOO в Индии и Марокко (Fassi-Feliri M. et al. Ann. Rech. Vet., 1984, 15, 1; Sharma P.C. et al. Indian J. Anim. Sci., 1987, 57, 9; Singh F. P. et al. J. Anim. Sci., 1984, 54, 7). В связи с этим нами были получены аттенуированные варианты BOO из местных эпизоотических штаммов [17].

Ранее нами были проведены исследования по изучению безопасности и иммуногенности вакцинного штамма НИСХИ вируса оспы овец и штамма G20-LKV вируса оспы коз, используемых для специфической профилактики оспы овец и оспы коз [18, 19, 20]. При этом для иммунизации КРС данными вакцинами нами были испытаны высокие дозы, которые составляли 80 000 ТЦД₅₀, а для проверки безопасности использовались десятикратные дозы – 80 000 ТЦД₅₀. При этом у вакцинированного обоими препаратами КРС в течение 21 дня наблюдения каких-либо клинических признаков болезни исчезали в течение 2-3 дней. Температура тела оставалась в норме.

Все исследованные штаммы каприпоксвируса антигенно неразличимы, и выздоровление от инфекции одним штаммом обеспечивает иммунитет против всех других штаммов. Из-за

этой антигенной гомологии среди всех штаммов существует возможность использования одного вакцинного штамма для защиты крупного рогатого скота, овец и коз [21, 22].

Заключение

На основании проведенных исследований можно заключить, что вакцина обладает высокой иммуногенностью и выраженной эффективностью. Таким образом, гетерологичная вакцина из штамма G₂₀-LKV вируса оспы коз при иммунизирующих дозах от 500 до 6000 ТЦД₅₀ обладает протективными свойствами в отношении заражения овец вирулентным вирусом оспы овец. Предлагаемый биопрепарат рекомендуется для профилактической иммунизации овец как в угрожаемых, так и в неблагополучных хозяйствах по болезни оспы овец.

Финансирование: Работа выполнена в рамках государственного задания «Услуги по обеспечению биологической безопасности в сфере науки» на 2022 год при поддержке Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии каких-либо коммерческих или финансовых конфликт интересов касающихся к данным исследований.

Список литературы

1. В.И. Диев, С.К. Старов, Д.К. Басова и др. Изучение эффективности вирусвакцины против оспы на овцах в экспериментальных условиях и условиях эпизоотии // Ветеринария сегодня. – 2017. №2- С.62-66.
2. Ф.П. Курченко., В.И. Уласов, В.И. Диев и др. Стандартизация метода контроля иммуногенности вирусвакцины против оспы овец и коз // Ветеринария. – 2006. – №10 – С.22-24.
3. Sheep pox and goat pox // OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees). – 2017. – Vol. 2, Chap. 2.7.13. – 12 p. URL: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.07.13_S_POX_G_POX.
4. Zro K., Azelmat S., Bendouro Y., Kuhn J.H., El Fahime E. & Ennaji M.M. PCR-based assay to detect sheeppox virus in ocular, nasal, and rectal swabs from infected Moroccan sheep. J. Virol. Methods. - 2014a. C. 38–43
5. Zro K., Zakham F., Melloul M., El Fahime E. & Mustapha M. A sheeppox outbreak in Morocco: isolation and identification of virus responsible for the new clinical form of disease. BMC Vet Res. - 2014b. Vol.10. 31 p.
6. Bowden T.R, Babiuk S.L, Parkyn G.R., Copps J.S. & Boyle D.B. Capripox virus tissue tropism and shedding: A quantitative study in experimentally infected sheep and goats. Virology. - 2008. P. 380–393.
7. Capstick P.B. Annual Report. Kenya Veterinary Department. - 1961. P. 45–47.
8. Kitching R.P., Hammond J.M. & Taylor W.P. A single vaccine for the control of capripox infection in sheep and goats. Res. Vet. Sci. - 1986. P. 53–60.
9. Kitching R.P. Vaccines for lumpy skin disease, sheep pox and goat pox. Dev Biol (Basel).- 2003. 114:161-7. PMID: 14677686.

10. Davies F.G. & Mbugwa G. The alterations in pathogenicity and immunogenicity of a Kenya sheep and goat pox virus on serial passage in bovine foetal muscle cell cultures. J. Comp. Pathol. - 1985. Vol 95. P. 565–576.
11. Davies F.G. & Otema C. The antibody response in sheep infected with a Kenyan sheep and goat pox virus. J. Comp. Pathol. - 1978. P. 205–210.
12. Tuppurainen E.S.M., Pearson C.R., Bachanek-Bankowska K., Knowles N.J., Amareen S., Frost L., Henstock M.R., Lamien C.E., Diallo A. & Mertens P.P.C. Characterization of sheep pox virus vaccine for cattle against lumpy skin disease virus. Antiviral Res. - 2014. Vol. 109. P. 1–6.
13. Barnard B.J., Munz E., Dumbell K., Prozesky L. Lumpy skin disease. In: Coetzer J.A.W., Thomson G.R., Tustin R.C., eds. Infectious Diseases of Livestock. Cape Town, South Africa: Oxford University Press. – 1994. P. 4–12.
14. Abutarbush S.M., Tuppurainen E.S.M. Serological and clinical evaluation of the Yugoslavian RM65 sheep pox strain vaccine use in cattle against lumpy skin disease. Transbound. Emerg. Dis. – 2018. 65(6) <https://doi.org/10.1111/tbed.12923>
15. ВОЗ. Информационный бюллетень. Оспа обезьян. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/monkeypox>
16. Sheep pox and goat pox // OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees).–2018.– Chap.3.7.12.URL:http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.07.12_S_POX_G_POX.pdf
17. Абдураимов Е.О., Мамадалиев С.М., Мамбеталиев М.А., Булатов Е.А. Изучение иммунобиологических свойств штамма «G20-LKV» вируса оспы коз // В кн.: «Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане» Сборник трудов посвященный 10-летию суверенитета Республики Казахстан и 50-летию Талдыкорганской противочумной станции. Выпуск 4. Алматы, -2001 – с 296-297.
18. Иванющенко В.Н., Биологические свойства вакцинного штамма НИСХИ вируса оспы овец./ В.Н.Иванющенко, О.А.Кореба, И.Г.Кекух, Т.Н.Уфимцева, К.П.Уфимцев, В.Л.Зайцев и Ф.П.Курченко. //Ветеринария 1990, №8, С.22-24
19. Zhugunissof K., Bulatov Ye., Orynbayev M., Kutumbetov L., Abduraimov Ye., Shayakhmetov Ye., et al. Goatpox virus (G20-LKV) vaccine strain elicits a protective response in cattle against lumpy skin disease at challenge with lumpy skin disease virulent field strain in a comparative study. Vet. Microbiol. – 2020. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108695>.
20. Абдураимов Е.О. Разработка технологии изготовления вирусвакцины против оспы коз. Диссертация на соискания кан-дидата ветеринарных наук. Алматы; 2001.
21. Abitaev R.T., Kondibaeva Zh.B., Amanova Zh.T., Sametova Zh.Zh., Ussembay A.K., Bulatov Ye.A. Determination of the optimal immunizing dose of heterologous goat pox virus vaccine (Poxviridae: Chordopoxvirinae: Capripoxvirus) against lumpy skin disease. Problems of Virology (Voprosy Virusologii). – 2022. 67(4). С. 304-309 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-116>
22. Кондибаева Ж. Б., Шаяхметов Е. А., Саметова Ж. Ж., Аманова Ж. Т., Усембай А. К., Абитаев Р. Т., Булатов Е. А. Иммуногенность гетерологичной вакцины из вируса оспы коз штамма «G20-LKV» против нодулярного дерматита КРС. Актуальные вопросы ветеринарной биологии № 2 (54), 2022. С. 6-12. DOI: 10.24412/2074-5036-2022-2-6-12

References

1. V.I. Diev, S.K. Starov, D.K. Basova i dr. Izuchenie`ffektivnostivirusvakciny` protivospy` naovczax v e`ksperimental`ny`xusloviyax i usloviyaxe`pizotii // Veterinariyasegodnya. – 2017. №2- C.62-66.
2. F.P. Kurchenko., V.I. Ulasov, V.I. Diev i dr. Standartizaciyametodakontrolyaimmunogen- nostivirusvakciny` protivospy` ovecz i koz // Veterinariya. – 2006. – №10 – C.22-24.
3. Sheep pox and goat pox // OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees). – 2017. – Vol. 2, Chap. 2.7.13. – 12 p. – URL: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.07.13_S_POX_G_POX.
4. Zro K., Azelmat S., Bendouro Y., Kuhn J.H., El Fahime E. &Ennaji M.M. (2014a). PCR-based assay to detect sheeppox virus in ocular, nasal, and rectal swabs from infected Moroccan sheep. J. Virol. Methods, 204, 38–43
5. Zro K., Zakham F., Melloul M., El Fahime E. & Mustapha M. (2014b). A sheeppox outbreak in Morocco: isolation and identification of virus responsible for the new clinical form of disease. BMC VetRes., 10, 31.
6. Bowden T.R, Babiuk S.L, Parkyn G.R., Copps J.S. & Boyle D.B. (2008). Capripox virus tissue tropism and shedding: A quantitative study in experimentally infected sheep and goats. Virology , 371, 380–393.
7. Capstick P.B. (1961). Annual Report. KenyaVeterinaryDepartment, Kenya, 45–47.
8. Kitching R.P., Hammond J.M. & Taylor W.P. (1986). A single vaccine for the control of capripox infection in sheep and goats. Res. Vet. Sci., 42, 53–60.
9. Davies F.G. &Mbugwa G. (1985). The alterations in pathogenicity and immunogenicity of a Kenya sheep and goat pox virus on serial passage in bovine foetal muscle cell cultures. J. Comp. Pathol., 95, 565–576.
10. Davies F.G. &Otema C. (1978). The antibody response in sheep infected with a Kenyan sheep and goat pox virus. J. Comp. Pathol., 88, 205–210.
11. Tuppurainen E.S.M., Pearson C.R., Bachanek-Bankowska K., Knowles N.J., Amareen S., Frost L., Henstock M.R., Lamien C.E., Diallo A. &Mertens P.P.C. (2014). Characterization of sheep pox virus vaccine for cattle against lumpy skin disease virus. AntiviralRes., 109, 1–6.
12. Barnard B.J., Munz E., Dumbell K., Prozesky L. Lumpy skin disease. In: Coetzer J.A.W., Thomson G.R., Tustin R.C., eds. Infectious Diseases of Livestock. Cape Town, South Africa: Oxford University Press; 1994: 604–12.
13. Abutarbush S.M., Tuppurainen E.S.M. Serological and clinical evaluation of the Yugoslavian RM65 sheep pox strain vaccine use in cattle against lumpy skin disease. Transbound. Emerg. Dis. 2018; 65(6): 1657–63. <https://doi.org/10.1111/tbed.12923>
- 15.VOZ. Informacionny`jbyulleten`. Ospaobez`yan. Available at: <https://www.who.int/ru/news-room/fact-sheets/detail/monkeypox>
16. Sheep pox and goat pox // OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals (mammals, birds and bees).–2018.– Chap.3.7.12.URL:http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.07.12_S_POX_G_POX.pdf
17. Abduraimov E.O., Mamadaliev S.M., Mambetaliev M.A., Bulatov E.A. Study of the immunobiological properties of the goatpox virus strain “G20-LKV” // In the book: “Quarantine and zoonotic infections in Kazakhstan” Collection of works dedicated to the 10th anniversary of the

sovereignty of the Republic of Kazakhstan and the 50th anniversary of the Taldykorgan anti-plague station. Issue 4. Almaty, -2001 – pp. 296-297.

18. Ivanyushchenkov V.N., Biological properties of the NISHI vaccine strain of sheeppox virus./ B.N. Ivanyushchenkov, O.A. Koreba, I.G. Kekukh, T.N. Ufimtseva, K.P. Ufimtsev, V.L. Zaitsev and F. P. Kurchenko. //Veterinary Medicine 1990, No. 8, pp. 22-24

19. Zhugunissov K., Bulatov Ye., Orynbayev M., Kutumbetov L., Abduraimov Ye., Shayakhmetov Ye., et al. Goatpox virus (G20-LKV) vaccine strain elicits a protective response in cattle against lumpy skin disease at challenge with lumpy skin disease virulent field strain in a comparative study. Vet. Microbiol. 2020; 245: 108695. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2020.108695>.

20. Abduraimov E.O. Razrabotka texnologii izgotovleniya virusvakciny` protiv ospy` koz. Dissertatsiya na soiskaniya kan- didata veterinarny`x nauk. Almaty; 2001.

21. Abitaev R.T., KondibaevaZh.B., AmanovaZh.T., SametovaZh.Zh., Ussembay A.K., BulatovYe.A. Determination of the optimal immunizing dose of heterologous goat pox virus vaccine (Poxviridae: Chordopoxvirinae: Capripoxvirus) against lumpy skin disease. Problems of Virology (VoprosyVirusologii). 2022; 67(4): 304-309 (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.36233/0507-4088-116>

22. KondibaevaZh. B., Shayakhmetov E. A., SametovaZh. Zh., AmanovaZh. T., Usembay A. K., Abitaev R. T., Bulatov E. A. Immunogenicity of a heterologous vaccine from goatpox virus strain "G20-LKV" against bovine lumpy dermatitis. Current issues in veterinary biology No. 2 (54), 2022. pp. 6-12. DOI: <https://doi.org/10.24412/2074-5036-2022-2-6-12>

ҚОЙ ШЕШЕГІНЕ ҚАРСЫ ИММУНДАУ КЕЗІНДЕ ЕШКІ ШЕШЕГІНІҢ G₂₀-LKV ВАКЦИНА ШТАМЫНЫҢ ПРОТЕКТИВТІ ҚАСИЕТТЕРІН ЗЕРТТЕУ

Ж.Б. Кондибаева*, Ж.Т. Аманова, А.К. Усембай., Р.Т. Абитаев,
Ж.Ж. Саметова, Ш.С. Тұрыскелді, Е.А. Булатов

ҚР ДСМ «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты»,
Гвардейский ктк, Қазақстан
*zh.kondybaeva@ biosafety.kz

Аннотация. Мақалада ешкі шешегінің G₂₀-LKV штамына негізделген қой шешегіне қарсы вакцинаның иммуногенділігін анықтау бойынша зерттеу нәтижелері келтірілген. 6-12 айлық қойларда жүргізілген тәжірибелерде қой шешегіне қарсы гетерогенді вакцинаның қойлар үшін жоғары иммуногенділігі бар екені анықталды. Иммундаудан кейін қойлардың қанында жоғары титрде вирусқа қарсы антиденелер пайда болды және қой шешегінің "Ауған" штамымен бақылау жұқтырудан кейін қарқынды иммунитет қалыптасты. Бақылау тобындағы жануарлар жұқтырудан кейін ауырып, қой шешегіне тән клиникалық белгілері (гипертермия, енгізу орнында папула және пустулалар) көрініс берді. Вакцинацияланған жануарларда 14 тәулік бақылау уақытында қой шешегіне тән клиникалық белгілер байқалмады. Жануарлардың жалпы жағдайы қанағаттанарлық болды, жанама әсерлер, енгізу орнында ісіну және шешек процесінің дамуы анықталған жоқ.

Түйін сөздер: вакцина; ешкі шешегі; қой шешегі; иммундау дозасы; протективтілік.

STUDY OF PROTECTIVE PROPERTIES AND INTENSITY OF INDUCING IMMUNITY OF THE VACCINE STRAIN G₂₀-LKV OF GOAT POX DURING IMMUNIZATION OF SHEEP AGAINST SHEEP POX

Zh.B. Kondibayeva* , **Zh.T. Amanova** , **A.K. Usembay** , **R.T. Abitaev** ,
Zh.Zh. Sametova , **Sh.S. Turyskeldi** , **Ye.A. Bulatov** 

«Research Institute for Biological Safety Problems»
Ministry of Health of the RK, Gvardeysky, Kazakhstan
*zh.kondybaeva@ biosafety.kz

Abstract. The article presents the results of studies to determine the immunogenicity of sheep pox vaccine based on the G₂₀-LKV strain of goat pox virus. In experiments conducted on sheep aged 6-12 months, it was found that a heterogeneous sheep pox vaccine has high immunogenicity for sheep. Immunization caused the formation of viral neutralizing antibodies in the blood of sheep in high titers and ensured the formation of intense immunity, which was confirmed by the results of control infection of sheep with virulent sheep pox virus, strain "Afghan". The animals of the control group reacted to infection and became ill with characteristic clinical signs of sheep pox (hyperthermia, papules and pustules at the injection site). Vaccinated animals did not have clinical signs characteristic of sheep pox, during 14 days of observation. The general condition of the animals was satisfactory, no side effects, swelling and development of the smallpox process at the injection site were detected.

Keywords: vaccine; goat pox; sheep pox; immunizing dose; protectivity.

ТҮЙЕ ТІКЕН (*Alhage pseudalhagi*) ӨСІМДІК ШИКІЗАТЫНАН АЛЫНҒАН ЭКСТРАКТ ҚҰРАМЫНДАҒЫ ФЛАВОНОИДТАРДЫ САПАЛЫҚ ЖӘНЕ САНДЫҚ АНЫҚТАУ

Ғ.С. Ибадуллаева², А.А. Азембаев¹, С.Г. Назаров^{2*}.

¹«Инфекцияға қарсы препараттар ғылыми орталығы» АҚ, Алматы, Қазақстан

² С. Ж. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медицина университеті, Алматы, Қазақстан

*nazarovsg2@mail.ru

Аннотация. Бұл шолуда түйе тікен (*Alhage pseudalhagi*) өсімдік шикізатының құрамындағы биологиялық белсенді заттардың сапалық және сандық құрамына сараптама жасалынды. Зерттеуде түйе тікен (*Alhage pseudalhagi*) өсімдік шикізатынан ультрадыбыстың көмегімен экстракт алынды. Өсімдік шикізатындағы флавоноидтардың, антиоксидантты және басқа да биологиялық қасиеттері бар маңызды биоактивті қосылыстардың мөлшерін анықтау әдісі қарастырылады. Ультрадыбыстық экстракция әдісінде флавоноидтар мен экстрактивті заттардың жоғары мөлшерін алуға мүмкіндік беретіні анықталды. Ультрадыбыстың көмегімен экстракт алу технологиясы жасалып, алынған экстракт жоғары өнімді сұйықтық хроматографиясымен идентификацияланды. Алынған нәтижелер шикізаттан биоактивті қосылыстардың шығымдылығын арттыру үшін ультрадыбыстық өңдеудің әлеуетін жоғары екендігіне ақпарат береді.

Түйін сөздер: *Alhagi pseudalhagi*; биологиялық белсенді заттар; ультрадыбыстық экстракция; биоактивті қосылыс; иілік заттар; спектрофотометриялық әдіс.

Кіріспе

Түйе тікен немесе жантақ (бұрынғы *Adans.*) қазіргі таңдағы *Alhagi Tourn* тұқымдасының өсімдіктері. Түйе тікен – бұршақ тұқымдасына жататын тікенді көпжылдық шөптесін бұталы өсімдік – *Fabaceae Lindl (Leguminosae Juss.)* [1].

Түйе тікенек өсімдік шикізатының әртүрлі мүшелінен, өсу орнына және түріне байланысты химиялық құрамын зерттеу нәтижесінде табиғи қосылыстардың әртүрлі класына жататын 100 ден астам заттардың құрылымы анықталған, атап айтқанда: фенолды қосылыстар – фенолкарбон қышқылдары, флавоноидтар, проантоцианидиндер, ксантондар, кумариндер, гидролизденетін таниндер, β–пирондар, дифенил эфирлері және нафтохинондар, алкалоидтар, тритерпеноидтар, политерпеноидтар, май қышқылдары және олардың альдегидтері, көмірсутектер, көмірсулар [2, 6].

Флавоноидтар – көптеген өсімдіктерде кездесетін полифенолды қосылыстар. Олар аллергияларға, вирустарға және канцерогендерге организмнің реакциясын өзгерту қабілетіне байланысты табиғи биологиялық модификаторлар болып табылады. Себебі олардың қабынуға, аллергияға, вирусқа және канцерогенге қарсы қасиеттеріне байланысты. Антиоксиданттық белсенділігі жағынан флавоноидтар С, Е дәрумендері мен каротиноидтардан жоғары [7, 8].

Түйе тікен (*Alhage pseudalhagi*) өсімдік шикізатының құрамындағы флавоноидтар полифенолдардың әртүрлі кластарына жататын гликозидтердің қоспалары түрінде болады, бұл оларды анықтау әдісін таңдауды қиындатады және жүйелі зерттеулерді қажет етеді.

Әдебиет деректерін талдау осы мақсатта әртүрлі хроматографиялық [9, 10], электрохимиялық [11] және электрофоретикалық [10] талдау әдістерінің қолданылғанын көрсетті. Қарапайым және қол жетімді абсорбциялық спектроскопия болып табылады, бұл зерттелетін объектілердегі флавоноидтардың жалпы құрамын анықтауға мүмкіндік береді [12, 13].

Зерттеу жұмысының мақсаты

Түйе тікенегінен (*Alhagi pseudalhagi*) сұйық экстракт алу технологиясын жасау және сандық құрамын анықтау.

Зерттеу материалдары мен әдістері

Дәрілік өсімдік шикізат (ДӨШ) - *Alhagi pseudalhagi* - Түйе тікен (*Жантақ*) .

Қазақша атауы: Түйе тікен немесе кәдімгі жантақ

Өсімдік шикізатын кептіру кезіндегі масса шығынын анықтау әдісі

ҚР МФ I 1 т, 2.2.32. Шикізатты кептіру кезіндегі масса жоғалтуды анықтау фармакопея-лық әдісіне сәйкес (d әдісі) анықталды.

Жалпы күлді анықтау әдісі

ҚР МФ I, т. 1, 2.4. 16. Шикізат күлінің жалпы құрамы мақалаға сәйкес анықталды.

10% хлорлы сутегі қышқылында ерімейтін күлді анықтау әдісі

Шикізаттағы 10 % хлорлы сутегі қышқылында ерімейтін күлді анықтау ҚР МФ I, 2.8.1 мақаласына сәйкес анықталды.

Өсімдік шикізатын кептіру кезіндегі масса шығынын анықтау әдісі

Шикізатты кептіру кезіндегі масса жоғалтуды анықтау ҚР МФ I 1 т, 2.2.32 фармакопея-лық әдісіне сәйкес (d әдісі) анықталды.

Өсімдік шикізатындағы экстрактивті заттар шығымын анықтау әдісі

ҚР МФ I, т. көрсетілген дәрілік өсімдік шикізаты зерттеу әдістемесіне байланысты жүргізілді. Әдіс еріткіш ретінде әртүрлі концентрациядағы су мен этил спирті қолданылып жүргізілді. Абсолютті құрғақ шикізатқа есептегенде экстрагентті заттардың болуы пайызбен есептелінді.

Өсімдік шикізатындағы иілік заттарды жалпы сандық анықтау

Тері иілік заттарының мөлшерін перманганатометриялық әдіспен анықтау. ҚР МФ I, т. 1, 2.8.14. әдісіне сәйкес жүргізілді.

Түйе тікен (Alhagi pseudalhagi) өсімдік құрамын физико – химиялық зерттеу әдістері

Сұйық сығындылардағы жалпы флавоноидтардың құрамын анықтаудың жалпы әдісі

Стандартты үлгі рутин бойынша флавоноидтардың санын анықтау ҚР МФ I, т. 1, 2.2.25 спектрофотометриялық әдісіне сәйкес анықталды.

Талданатын экстракты 2 мл-ге тең аликвотын пипеткамен 25 мл өлшегіш колбаға құйып, қайтадан өлшейді. Пипетка арқылы колбаға 1 мл 1 % алюминий хлоридінің ерітіндісін құйылады. Эталондық ерітіндіні дайындау үшін талданатын сығындының аликвоты (1 мл) пипетка арқылы сыйымдылығы 25 мл екінші колбаға құйылады, содан кейін екі колбаның көлемі әртүрлі концентрациядағы спирт ерітіндісімен (70 %, 50 %, 30 %, 90 %) белгісіне дейін реттеледі. Екі ерітіндіні 30 мин қалдырыңыз.

Оптикалық тығыздық 408-616 нм диапазонында жұтылу қабатының қалыңдығы 1 см кюветалардағы максималды сіңіру толқын ұзындығында өлшенеді. Абсорбция максимумы 408–420 нм аймағында орналасқан, біз стандарт ретінде СО рутинін қолданамыз.

Флавоноидтар қосындысының рутин мен абсолютті шикізаттың пайызбен (X) мөлшері мына формуламен есептеледі:

$$X = \frac{D \times 25 \times 100 \times 100 \times 100}{753.5 \times m \times 2 \times (100 - W)}$$

Мұндағы:

D – зерттелетін ерітіндінің оптикалық тығыздығы;

753,5 – 409 нм алюминий хлориді бар рутин кешенінің меншікті сіңіруі;

m – граммдағы шикізаттың массасы;

W – пайызбен шикізатты кептіру кезіндегі салмақ жоғалту

Сұйық хроматографта талдау әдісі

Ультрадыбыстық әдіспен алынған сығындының 10 мкл жиналып, сұйық хроматографта (*Shimadzu LC-40*) жоғары өнімді сұйықтық хроматографиясы (*HPLC*) арқылы талданды.

Талдау шарттары: Үлгі көлемі 10 мкл, үлгіні енгізу температурасы 40°C. Бөлу ұзындығы 25 см, ішкі диаметрі 4,6 мм және қабықша қалыңдығы 5 мкм болатын C18 типті хроматографиялық колонканы пайдаланып, әртүрлі қатынаста тұрақты су-ацетонитрил ағынының жылдамдығы 1 мл/мин болған кезде жүргізілді. *Shimadzu LabSolutions* бағдарламалық құралы сұйық хроматография жүйесін басқару, алынған нәтижелер мен деректерді жазу және өңдеу үшін пайдаланылды. Деректерді өңдеуге сақтау уақыты мен ең жоғары аумақтарды анықтау кіреді.

Зерттеу нәтижелері және талқылау

Түйе тікен (*Alhagi pseudalhagi*) өсімдік шикізаты GACP және Еуразиялық экономикалық комиссия Кеңесінің 2018 жылғы 26 қаңтардағы №15 «Өсімдіктен алынатын бастапқы шикізатты өсірудің, жинаудың, өңдеудің және сақтаудың тиісті практикасының қағидаларын бекіту туралы» шешімінің талаптарына сай 2023 жылдың шілде айының соңы – тамыз айының ортасында жиналып, кептірілді.

Түйе тікен (*Alhagi pseudalhagi*) өсімдік шикізатын дайындап кептіру кезінде шикізатты ылғалдылығы ҚР МФ I 1 т, 2.2.32. фармакопоялық әдісіне сәйкес тексеріледі.

Кептіру кезінде жоғалған массаны есептеу үшін 1-2 г (нақты өлшеу) құрғақ шөпті өлшеп, кептіру кезіндегі алынған шөптің арасында айырмашылықты анықтайды, 0,0005 г мөлшерден аспауы керек:

$$X = \frac{(m - m_1)}{m} \times 100\% = \frac{(1 - 0,9016)}{1} \times 100\% = 9,84\%$$

Түйе тікен (*Alhagi pseudalhagi*) өсімдік шикізатының ылғалдылығы процентпен есептегенде 9,84 % құрады.

Түйе тікен (*Alhagi pseudalhagi*) өсімдік шикізатынан тиісті технологиямен экстракт алу үшін дәрілік өсімдік шикізатының технологиялық және фармакопоялық сапа параметрлері: ұсақталуы, меншікті салмағы, көлемдік және себілу салмақтары, бөлектілік, кеуетілігі,

қабаттың бос көлемі, экстрагентті жұту коэффициенті, кептіргендегі масса шығыны, жалпы күл, хлорсутек қышқылында ерімейтін күл ҚР МФ I, 1. т. сәйкес анықталды.

Түйе тікен (*Alhagi pseudalhagi*) өсімдік шикізатының вегетативті мүшелерінің технологиялық параметрлері 1 кестеде көрсетілген.

Кесте 1 – Түйе тікен (*Alhagi pseudalhagi*) өсімдік шикізатының вегетативті мүшелерінің технологиялық параметрлері

Вегетативті мүшелері	Меншікті салмағы, г/см ³	Себілу салмағы, г/см ³	Көлемдік салмағы, г/см ³	Өсімдік шикізатының бөлектілігі, г/см ³	Шикізаттың кеуектілігі, г/см ³	Қабаттың бос көлемі, г/см ³
Гүлдер	1.100	0.959	1.000	0.103	0.320	0.375
	1.100	0.959	1.000	0.103	0.320	0.375
	1.100	0.959	1.000	0.103	0.320	0.375
Σ	1.100	0.959	1.000	0.103	0.320	0.375
Жапырақтар	1.028	0.769	0.833	0.076	0.181	0.254
	1.028	0.769	0.833	0.076	0.181	0.254
	1.028	0.769	0.833	0.076	0.181	0.254
Σ	1.028	0.769	0.833	0.076	0.181	0.254
Сабақтар	1,648	0.833	0.909	0.083	0,498	0.649
	1,648	0.833	0.909	0.083	0,498	0.649
	1,648	0.833	0.909	0.083	0,498	0.649
Σ	1,648	0.833	0.909	0.083	0,498	0.649

1-кестедедегі көрсетілген мәндерге қарап, бірнеше тұжырым жасауға болады. Түйе тікен (*Alhagi pseudalhagi*) өсімдік шикізатының вегетативті мүшелерінің меншікті салмақтың мәні М.П. Королькова мәліметтері бойынша көрсетілген мәндерге сәйкес екендігін ескерсек алынған мәндерді дұрыс деп қарастыруға болады. Вегетативті мүшелерінің меншікті салмақтың мәні сабақтан гүлге қарай артады. Өсімдіктің вегетативті мүшелерінің ішінде сабақтарында меншікті салмақтың жоғары болуы қалыпты болып табылады. Себебі өсімдіктің түрі, құрамы мен сақтау, кептіру жағдайына байланысты. Көлемдік және себілу салмақтарының мәні дәрілік өсімдік шикізатының ұсақталу дәрежесіне және нығыздалуына сәйкес әртүрлі шаманы көрсетеді. В.Д. Пономарев жұмыстарында көлемдік және себілу салмақтарының мәні туралы жалпы мәліметтер айтылған. Кеуектілігі және бөлектілігіне тоқталатын болсақ, дәрілік өсімдік шикізатының ісіну үрдісі кезінде бөлектілігі төмендейді, сәйкесінше кеуектілік шикізаттың сіңіруіне сәйкес әртүрлі мәндерге ие болады.

Технологиялық процесте түйе тікен (*Alhagi pseudalhagi*) өсімдік шикізатының экстрактивті заттарды жұту коэффициентін анықтау маңызды болып табылады. Ол материалдық балансты есептеуде және экстракция процесінің технология шартын таңдауда маңызға ие.

Түйе тікен (*Alhagi pseudalhagi*) өсімдік шикізатының экстрагентті жұту коэффициентін анықтау үшін шикізатты 5,0 г-нан ұнтақтап алдық. Ұнтақталған шикізаттарды бес өлшеуіш

цилиндрлерге салып үстіне су, 30 %, 50 %, 70 %, 96 % экстрагенттерді (50 мл) құйып, оларды бірнеше сағатқа тұндырып қойдық. Содан соң шикізаттарды сүзгіш қағаз арқылы бөлек цилиндрлерге өткізіп, алынған экстрагенттің көлемін анықтадық. Экстрагентті сіңіру коэффициентін анықтауды 3 рет қайталап орындап, орташа мәнін шығардық (2-кесте).

Кесте 2 – Түйе тікен (*Alhagi pseudalhagi*) өсімдік шикізатының экстрагентті жұту коэффициентін анықтау

Еріткіштер	Концентрация	№1, X (мл/г)	№2, X (мл/г)	№3, X (мл/г)	Σ, X (мл/г)
Тазартылған су		2,8	3,0	2,9	2,9
Этил спирті	30 %	3,8	4,2	4,0	4,0
	50 %	4,0	4,0	4,0	4,0
	70 %	4,1	3,9	4,3	4,1
	96 %	3,9	3,9	3,9	3,9

2 - кестедегі алынған мәндер бойынша өсімдік шикізатының жұту коэффициенті шикізаттың ұсақталу дәрежесіне тікелей тәуелді болады. Неғұрлым ұсақталу дәрежесі үлкен болса жұту коэффициенті де соғұрлым жоғары болады. Біз ұсақтау дәрежесі $1 < x < 3$ аралығындағы түйе тікен (*Alhagi pseudalhagi*) өсімдік шикізатын қолдандық. Нәтижесінде түйе тікен (*Alhagi pseudalhagi*) өсімдік шикізатының 70 % этил спирті жұту коэффициенті жоғары екендігі анықталды.

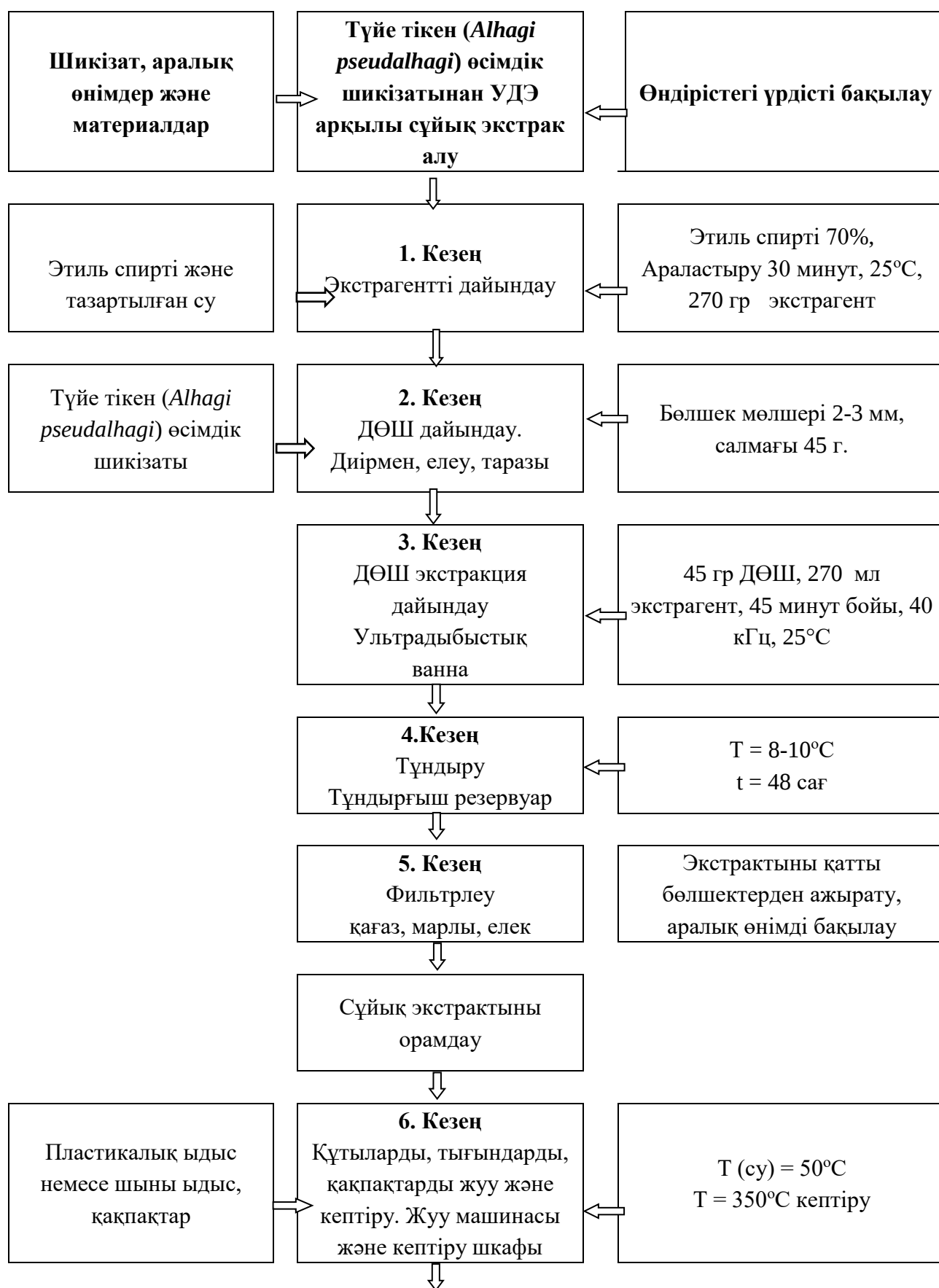
ҚР МФ талаптарына сәйкес ДӨШ сапасын анықтау үшін келесі сандық көрсеткіштер анықталды: ДӨШ ылғалдылығы, жалпы күл және хлорсутек қышқылының 10% ерітіндісінде ерімейтін күл, бөгде қоспалар: органикалық қоспалар, минералды қоспалар, илегіш заттарының сандық мөлшері. *Alhagi pseudalhagi* өсімдік шикізатының фармакопоялық сапа көрсеткіштері 3 кесте келтірілген.

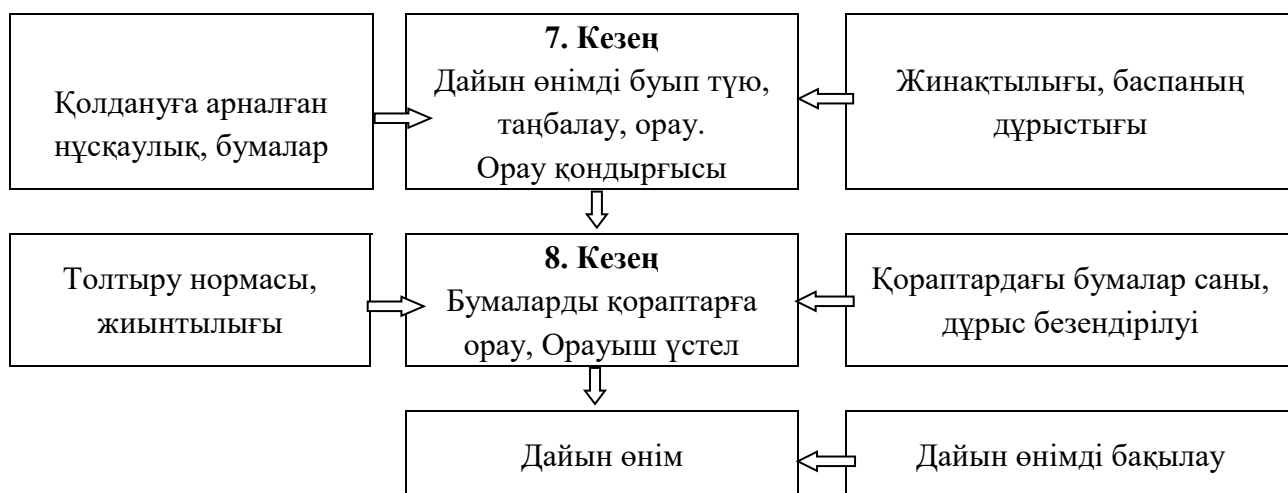
Кесте 3 – Түйе тікен (*Alhagi pseudalhagi*) өсімдік шикізатының фармакопоялық сапа көрсеткіштері

№	Көрсеткіштер		Белгіленген мәндер	Ұсынылатын нормалар
1	Ылғалдылық, %		9,84 %	10,0 % артық емес
2	Жалпы күл, %		7,24 %	12,0 % артық емес
3	Хлорсутек қышқылының 10% ерітіндісінде ерімейтін күл, %		6,27 %	10,0 % артық емес
4	Бөгде қоспалар:	органикалық қоспалар	0,48 %	1,0 % артық емес
		минералды қоспалар	0,62 %	1,0 % артық емес
5	Илегіш заттарының сандық мөлшері		5.117 %	Белгіленген нормалар жоқ

Түйе тікен (*Alhagi pseudalhagi*) өсімдік шикізатының сұйық экстракт Бахия Атшабаров атындағы іргелі және қолданбалы медицина ғылыми-зерттеу институтының (ІҚМҒЗИ) «Химия және фармакогнозия ғылыми-практикалық бақылау-аналитикалық зертханасында» PS-20 AD модельді ультрадыбыстық ваннада алынды. Түйе тікен (*Alhagi*

pseudalhari) өсімдігі шикізаты ультрадыбыстық экстракция (УДЭ) әдісі бойынша сұйық экстракт алу технологиясы 4 - кестеде көрсетілген.





Кесте 4 - Ультрадыбыстық экстракция әдісі арқылы сұйық экстракталу технологиясы

Экстракт алудан бұрын зерттелетін өсімдіктерді ультрадыбыстық бір реттік экстракциялаудың оңтайлы шарттары қолданылды:

Этил спиртінің концентрациясы	70 %
Шикізат: экстрагент қатынасы	1: 6
Температура, °C	25±5
Экстракциялау уақыты, мин	30-45 мин
Ультрадыбыс жиілігі	40 кГц
ДӨШ ұсақталу дәрежесі	1<x<3

Технологиялық процесті баяндау:

1 – кезең. Экстрагентті дайындау.

Экстракция процесін жүргізу үшін алдымен спирт пен су қоспасынан тұратын экстрагент дайындалады. Өлшегіш колбамен алынған спирттің тығыздығы АОН-1 ареометрмен тексерілді, содан кейін тығыздық айырмашылығының нәтижесінде өлшеуіш колбаға қажетті концентрацияға жеткізу үшін тазартылған суының есептелген мөлшері қосылды, еріткіштердің өздігінен араласуы жүрді. Ареометрмен экстрагенттің тығыздығы қайта тексерілді, егер де қажетті концентрацияға жетпеген жағыдайда қайта есептеу жүргізіп сұйылтылды ; Этил спирті 70% – 311,167 мл немесе 270 г, (спирттің тығыздығы 70%= 0,8677 г/см³).

2 – кезең. ДӨШ дайындау.

Зерттеу нысаны ретінде таңдалынған түйе тікен (*Alhagi pseudalhagi*) өсімдігі шикізатын ұсақталып, С - 200/50 типті, тесіктерінің өлшемі 2,0-3,0 мм болатын електен өткізілді. Қажетті, ұсақталған шикізат мөлшерін SP SPU - 402 таразысында өлшенді.

3 – кезең. Ультрадыбысты экстракция әдісі.

Ультрадыбыстық бір реттік экстракциялаудың оңтайлы шарттары бойынша ұсақталған (1<x<3мм) дәрілік өсімдік шикізатына 1/6 қатынасында қажетті мөлшерде 70% этил спирті араластыра отырылып құйылды. PS-20 AD модельді ультрадыбыстық ваннада 25 °C температурада 45 мин бойы жүргізіледі. Ультрадыбыстық ваннада температурасы 25 °C -тан асқан жағдайда ванна суы алмастырылып отырды.

4 – кезең. Тұндыру.

Экстракт 8 – 10 °C температурада 48 сағат бойы, қараңғы жерде тұндырылды.

5 – кезең. Дайындалған экстракт сүзу.

Қағаз фильтр көмегімен қатты заттардан бөліп алынып, колбаға сүзілген аралық өнімдер бақыланды.

6,7,8 – кезең. Дайын өнімді орау, қаптау, безендіру.

Нормативті құжаттарға (НҚ) сәйкес күн сәулесінен оқшаулайтын қызғылт - қоңыр түсті шыныдан жасалған құтыға алынған экстракт құйылып тығынды қақпақпен жабылды. Құтыға қосымша мәліметтер көрсетілетін этикетка жабыстырылады.

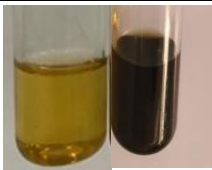
Кесте 5 – Қаптау, таңбалау және тасымалдау бойынша НҚ

Қаптама	Күн сәулесінен қорғайтын, тығыз тығыздалған шыны ыдыстарда.	ҚР МФ I том, 3.2.1
Таңбалау	Орамдаудың бекітілген макетін қараңыз.	ҚР ДСМ 2021 жылғы 27 қаңтардағы № ҚР ДСМ-11 б.
Тасымалдау	МЕМСТ 17768-90 сәйкес	МЕМСТ 17768-90

Өсімдік экстракттарындағы биологиялық белсенді заттарды (ББЗ) сапалық анықтау қажетті биологиялық әсерге ие болуы мүмкін белгілі бір химиялық қосылыстардың болуын немесе болмауын анықтаудан тұрады. Сапалық реакциялар белгілі бір функционалдық топтардың немесе қосылыстардың болуына арнайы түсті реакцияларды жүруімен анықталынады. Экстракт құрамындағы ББЗ тобын анықтау үшін сапалық реакциялар жүргізілді. Түйе тікен (*Alhagi pseudalhagi*) өсімдік шикізатынан алынған сұйық экстрактың сапалық құрамын анықтау бойынша жүргізілген реакция нәтижелері 6 кесте көрсетілген.

Кесте 6 – Түйе тікен (*Alhagi pseudalhagi*) өсімдік шикізатынан алынған сұйық экстрактың сапалық құрамы

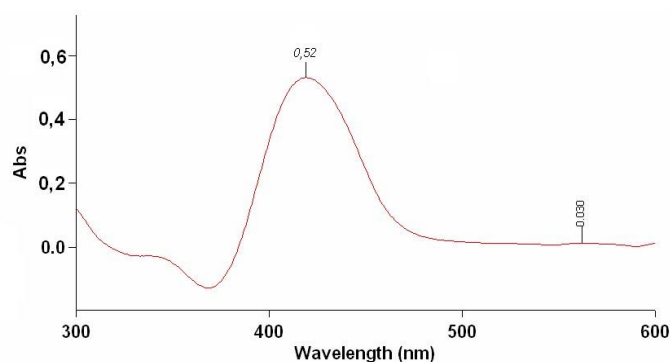
№	ББЗ тобы	Реактив	Нәтиже	Алынған нәтиже
1	Флавоноидтар	Алюминий (III) хлориді	Ашық сары жасыл	
		Темір (III) хлориді	Қанық жасыл	
2	Танниндер	Алюминий ферроаммоний ерітіндісі	Жасыл қара	

3	Тритерпеноидтар	Ванелин қышқылы	күкірт Қызыл	
4	Алкалоидтар	Люголь ерітіндісі	қоңыр-қызыл бояу	
5	Кумарин	10% калий гидроксиді ерітіндісімен	ақ бұлыңғыр тұнба	

Түйе тікен экстрактыдағы биологиялық белсенді заттарға сапалық реакцияларды жүргізу барысында алкалоидтарға, таниндерге және флавоноидтарға, тритерпеноидтар мен кумариндерге оң нәтиже алынды.

Экстрактың сапалық құрамын анықталғанан кейін флавоноидтарды сандық анықтау ҚР МФ І, т. 1, 2.2.25 спектрофотометриялық әдісіне сәйкес PD – 300 спектрофотометрде анықталды.

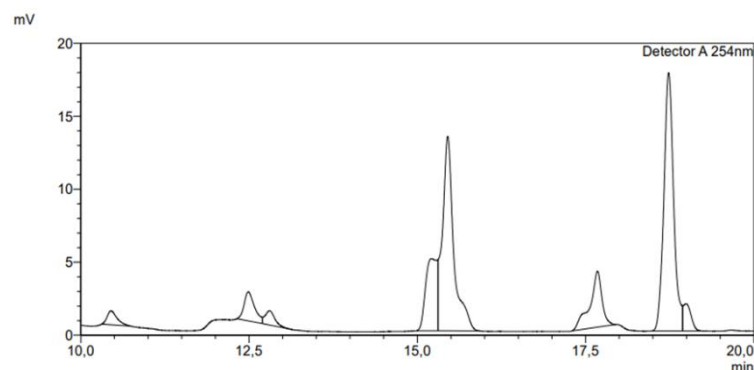
Түйе тікен (*Alhagi pseudalhagi*) өсімдік шикізатынан алынған сұйық экстрактың спектрофотометриялық әдіс арқылы флавоноидтарды сандық анықтау нәтижесінде флавоноидтарды сандық мөлшері 2.15% құрады. Түйе тікен сұйық экстрактысының алюминий хлоридімен кешенінің сіңіру спектрі 1 суретте көрсетілген.



Сурет 1 –Түйе тікен сұйық экстрактысының алюминий хлоридімен кешенінің сіңіру спектрі

Жоғары өнімді сұйықтық хроматографиясы арқылы өсімдік экстрактсын талдау

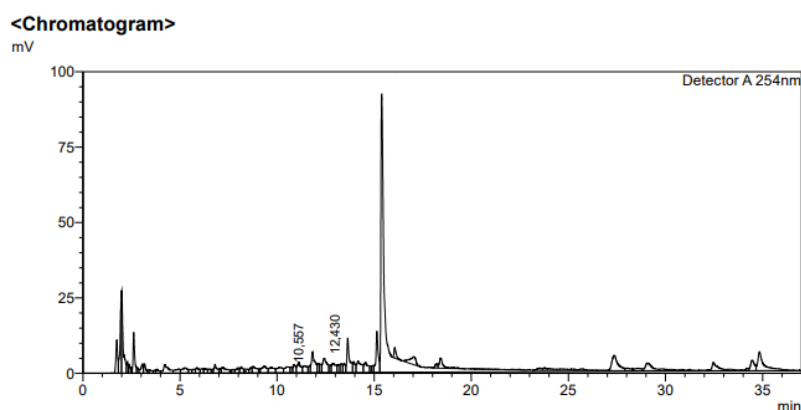
Түйе тікен өсімдігінің (*Alhagi*) экстрактысы сұйық тасымалдаушы ретінде су-ацетонитрилді және катехин, эпикатехин стандарттарын қолдану арқылы жоғары өнімді сұйық хроматография (*HPLC*) арқылы талданды.



Сурет 2 – Стандарттың жоғары өнімді сұйықтық хроматограммасы

Кесте 7 – Стандарттың жоғары өнімді сұйықтық хроматография талдауының нәтижелері

Ұстау уақыты	Ауданы	Биіктігі	Концентрациясы	Өлшем бірлігі	Атауы
10,449	9750	957	79,031	мг/л	Catechin
12,489	21760	1992	107,629	мг/л	Epicatechin



Сурет 3 – Экстрактың жоғары өнімді сұйықтық хроматография талдауының нәтижелері

Кесте 8 – Экстрактың жоғары өнімді сұйықтық хроматография талдауының нәтижелері

Ұстау уақыты	Ауданы	Биіктігі	Концентрациясы	Өлшем бірлігі	Атауы
10,557	35360	1930	225,373	мг/л	Catechin
12,430	73653	4724	336,226	мг/л	Epicatechin

Талдау нәтижелері түйе тікен (*Alhagi*) өсімдігінің экстрактысында катехин және эпикатехин бар екенін көрсетті. Сұйық экстрактағы катехин концентрациясы 225,373 мг/л, эпикатехин концентрациясы 336,226 мг/л құрады. Ультрадыбыстың көменгімен алынған экстрактың құрамындағы катехин және эпикатехин концентрациясы бұған дейін алынған экстракция әдістерімен салыстырғанда жоғары бір жарым есе артық. Түйе тікен (*Alhagi*) өсімдігінің экстрактысын алуда ультрадыбыс қолдану тиімді әдіс екендігін дәлелдейді.

Қорытынды

Отандық дәрі - дәрмектерді, медициналық-косметикалық заттарды жасуда жергілікті өсімдік шикізатынан дайындалған экстрактарды пайдалану экономикалық тұрғыда тиімді.

Фармацевтикалық технологиядағы қазіргі заманғы үрдістер дәрілік түрлердің, оның ішінде табиғи дәрілік өнімдер аясын кеңейтуге бағытталған. Осыған байланысты құрамында табиғи заттары бар, өсімдіктерге негізделген дәрілік заттарды алу өзекті болып табылады. Қорытындылай келе түйе тікен (*Alhagi pseudalhagi*) өсімдік шикізатының құрамындағы ББЗ зертелді. Нәтижесінде ультрадыбыстық өрісті пайдалану табиғи шикізатқа тән химиялық құрамын толықтай дерлік сақтай отырып және экстрактивті заттардың жоғары шығымдылығымен флавоноидтарды алуға мүмкіндік беретіндігі дәлелденді.

Әдебиеттер

1. Мирхаликова М.Н., Худойназаров И.А. Виды янтака –Янтак, верблюжья колючка *Alhagi Adans*, 2016.-с.330
2. Hui Q.Zh., Thai X. The chemical composition and folk application of *Alhagi* // *Jilin J. Trad.Chin. Med.* 2009. Vol. 29(8). Pp. 711–712.
3. Xiuwei Y., Yumei J., Junshan L. A New Flavonol Glucoside from Aerial Parts of Manaplant *Alhagi* (*Alhagi pseudoalhagi*) // *Chin. Trad. and Herb. Drugs.* 1996. Vol. 27 (12). Pp. 707–711
4. Guijie Zh., Ning L., Yuanjun X., Makhabel B., Jinhui W., Xian L., Xiaoguang J. Isolation and identification of Chemical Constituents of Aerial Parts of *Alhagi pseudalhagi* (M.B) // *Modern Chin. Med.* 2010. Vol. 12 (5). Pp. 16–19
5. Нишанбаев С.З., Бобакулов Х.М., Бешко Н.Ю., Шамьянов И.Д., Абдуллаев Н.Д. Флавоноиды надземной части *Alhagi canescens* флоры Узбекистана // *Химия растительного сырья.* 2017. №1. С. 77–83. DOI: 10.14258/jcprm.2017011386.
6. Atta-ur-Rahman, Iqbal Choudhary M., Saifullah Bullo. Monograph medicinal plants of Sindh indigenous knowledge and scientific facts. Pakistan, 2011. Pp. 49–50.
7. Лобанова А.А., Будаева В.В., Сакович Г.В. Исследование биологически активных флавоноидов в экстрактах из растительного сырья // *Химия растительного сырья.* 2004. №1. С. 47-52
8. Коноплева М. М. Фармакогнозия : природные биологически активные вещества. Витебск, 2007. 273 с.
9. Карцова Л. А., Алексеева А. В. Хроматографические и электрофоретические методы определения полифенольных соединений // *Журн. аналит. химии.* 2008. Т. 63, № 11. С. 1126–1136.
10. Дмитриенко В. А., Кудринская В.А., Апяри В. В. Методы выделения, конденсирования и определения кверцетина // *Журн. аналит. химии.* 2012. Т. 67, № 4. С. 340–353.
11. Зиятдинова Г. К., Будников Г. К. Определение флавонолов в фармпрепаратах методом вольтамперометрии // *Хим.-фарм. журн.* 2005. Т. 39, № 10. С. 54–56.
12. Бекетов Е. В., Абрамов А. А., Нестерова О. В. Идентификация и количественная оценка флавоноидов в плодах черемухи обыкновенной // *Вестн. Моск. ун-та. Химия.* 2005. Т. 46, 4 С. 259–262.
13. Бубенчиков Р. А., Дроздова И. Л. Флавоноиды фиалки трехцветной // *Фармацевтическая химия и фармакогнозия.* 2004. № 2. С. 11–12.

References

1. Mirxalikova M.N., Xudojnazarov I.A. Vidy` yantaka –Yantak, verblyuzh`ya kolyuchka Alhagi Adans, 2016.-s.330
2. Hui Q.Zh., Thai X. The chemical composition and folk application of Alhagi // Jilin J. Trad.Chin. Med. 2009. Vol. 29(8). Pp. 711–712.
3. Xiuwei Y., Yumei J., Junshan L. A New Flavonol Glucoside from Aerial Parts of Manaplant Alhagi (Alhagi pseudoalhagi) // Chin. Trad. and Herb. Drugs. 1996. Vol. 27 (12). Pp. 707–711
4. Guijie Zh., Ning L., Yuanjun X., Makhabel B., Jinhui W., Xian L., Xiaoguang J. Isolation and identification of Chemical Constituents of Aerial Parts of Alhagi pseudalhagi (M.B) // Modern Chin. Med. 2010. Vol. 12 (5). Pp. 16–19
5. Nishanbaev S.Z., Bobakulov X.M., Beshko N.Yu., Sham`yanov I.D., Abdullaev N.D. Flavonoidy` nadzemnoj chasti Alhagi canescens flory` Uzbekistana // Ximiya rastitel`nogo sy`r`ya. 2017. №1. S. 77–83. DOI: 10.14258/jcprm.2017011386.
6. Atta-ur-Rahman, Iqbal Choudhary M., Saifullah Bullo. Monograph medicinal plants of Sindh indigenous knowledge and scientific facts. Pakistan, 2011. Pp. 49–50.
7. Lobanova A.A., Budaeva V.V., Sakovich G.V. Issledovanie biologicheski aktivny`x flavonoidov v e`kstraktax iz rastitel`nogo sy`r`ya // Ximiya rastitel`nogo sy`r`ya. 2004. №1. S. 47–52
8. Konopleva M. M. Farmakognoziya : prirodny`e biologicheski aktivny`e veshhestva. Vitebsk, 2007. 273 s.
9. Karczova L. A., Alekseeva A. V. Xromatograficheskie i e`lektroforeticheskie metody` opredeleniya polifenol`ny`x soedinenij // Zhurn. analit. ximii. 2008. T. 63, № 11. S. 1126–1136.
10. Dmitrienko V. A., Kudrinskaya V.A., Apyari V. V. Metody` vy`deleniya, kondensirovaniya i opredeleniya kvercetina // Zhurn. analit. ximii. 2012. T. 67, № 4. S. 340–353.
11. Ziyatdinova G. K., Budnikov G. K. Opredelenie flavonolov v farmpreparatax metodom vol`tamperometrii // Xim.-farm. zhurn. 2005. T. 39, № 10. S. 54–56.
12. Beketov E. V., Abramov A. A., Nesterova O. V. Identifikaciya i kolichestvennaya ocenka flavonoidov v plodax cheremuxi oby`knovennoj // Vestn. Mosk. un-ta. Ximiya. 2005. T. 46, 4 S. 259–262.
13. Bubenchikov R. A., Drozdova I. L. Flavonoidy` fialki trexczvetnoj // Farmacevticheskaya ximiya i farmakognoziya. 2004. № 2. S. 11–12.

КАЧЕСТВЕННОЕ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЛАВОНОИДОВ В ЭКСТРАКТЕ ИЗ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ ВЕРБЛЮЖЬЕЙ КОЛЮЧКИ (ALHAGE PSEUDALHAGI)

Г.С. Ибадуллаева², А.А. Азембаев¹, С.Г. Назаров^{2*}.

¹АО «Научный центр противомикробных препаратов», Алматы, Казахстан

²Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова, Алматы,
Казахстан

*nazarovsg2@mail.ru

Аннотация. В данном обзоре проанализировано качественное и количественное содержание биологически активных веществ в сырье верблюжьей колючки (*Alhage pseudalhagi*). В ходе исследования экстракт из растительного материала *Alhage pseudalhagi* был получен с помощью ультразвука. Рассмотрен метод определения количества флавоноидов, антиоксидантов и других важных биологически активных соединений в растительном сырье, обладающем биологическими свойствами. Установлено, что метод ультразвуковой экстракции позволяет получить большое количество флавоноидов и экстрактивных веществ. Разработана технология ультразвуковой экстракции и полученный экстракт идентифицирован методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Полученные результаты дают информацию о высоких возможностях ультразвуковой обработки для увеличения выхода биологически активных соединений из сырья.

Ключевые слова: *Alhagi pseudalhagi*; биологически активные вещества; ультразвуковая экстракция; биологически активное соединение; дубильные вещества; спектрофотометрический метод.

QUALITATIVE AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF FLAVONOIDS IN EXTRACT FROM PLANT RAW MATERIALS OF CAMEL TONE (ALHAGE PSEUDALHAGI)

G.S. Ibadullayeva², A.A. Azembaev¹, S.G. Nazarov^{2*}

¹JSC “Scientific Center of Anti-Infective Drugs”, Almaty, Kazakhstan

²Kazakh National Medical University named after. S.D. Asfendiyarov, Almaty, Kazakhstan

*nazarovsg2@mail.ru

Abstract. This review analyzes the qualitative and quantitative content of biologically active substances in the raw material of camel thorn (*Alhage pseudalhagi*). During the study, the extract from the plant material *Alhage pseudalhagi* was obtained with the help of ultrasound. The method of determining the amount of flavonoids, antioxidants and other important biologically active compounds in plant raw materials with biological properties is considered. It has been established that the ultrasonic extraction method allows obtaining a large amount of flavonoids and extractive substances. The technology of ultrasonic extraction is developed and the obtained extract is identified by the method of high performance liquid chromatography. The obtained results give information about the high possibilities of ultrasonic processing to increase the output of biologically active compounds from raw materials.

Keywords: *Alhagi pseudalhagi*; biologically active substances; ultrasonic extraction; biologically active compound; tanning substances; spectrophotometric method.

ЦИФРОВИЗАЦИЯ МОНИТОРИНГА ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ СИТУАЦИИ И КОНТРОЛЯ ПИЩЕВОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

А.А. Баккожаев, Ш.Т. Сарбаканова*, К.Т. Нуркиянов, К.М. Баянаева

ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Алматы, Казахстан

*sholpan.sar@mail.ru

Аннотация. В последние годы цифровые инновации получают широкое распространение в АПК и в сельскохозяйственном бизнесе. Перевод ветеринарной документации, системы учета животных и контроля пищевой безопасности на цифровой формат является актуальной задачей для ветеринарии Казахстана. Внедрение цифровых технологий необходимо для обработки огромных массивов ценной информации, которые остаются неиспользованными при контроле эпизоотической ситуации и пищевой безопасности. Ветеринарная документация до сих пор ведется на бумажных носителях, что занимает большое количество времени. Ручной ввод первичной информации создает многочисленные ошибки и неточности и негативно сказывается на полноте сведений, не позволяя вести оперативную статистику при мониторинге эпизоотической ситуации.

Целью данной работы является разработка цифровой платформы с мобильным приложением, позволяющим автоматизировать процессы формирования и передачи информации о животных в базу данных ИСЖ (Идентификация сельскохозяйственных животных), освободить практических ветеринарных работников от вала бумажной работы, поднять на качественно новый уровень работу по контролю за эпизоотической ситуацией и безопасностью животноводческой продукции, оперативно отслеживать передвижение скота по территории страны, особенно с зоны вакцинации в чистые зоны.

Материалами исследования являются нормативно-правовая документация, статистические показатели животноводства Аккольского района Акмолинской области, оперативная ветеринарная отчетность. Методы исследования базировались на обобщении информации, полученной в результате сравнительного анализа времени, затрачиваемого при использовании разработанного мобильного приложения и действующей системы идентификации сельскохозяйственных животных при проведении ветеринарных мероприятий.

Разработана цифровая платформа – мобильное приложение «Mal Derek, обеспечивающее качество и достоверность первичного материала, вносимого в базу данных ветеринарии в автоматическом режиме и в цифровом формате. Получено авторское свидетельство на данную программу для ЭВМ. Проведена работа по тестированию функционала мобильного приложения «Mal Derek» в Аккольском районе Акмолинской области с участием ветеринарных специалистов. Автоматизация процесса передачи информации о животных от ветеринарных специалистов на местах в ветеринарные лаборатории, в лаборатории ветеринарно-санитарной экспертизы рынков и торговых организаций, в предприятия по переработке животноводческой продукции, а также в

центральную базу данных открывает новые возможности при разрешении проблемы обеспечения безопасности животноводческой продукции.

Ключевые слова: цифровая платформа; мобильное приложение; ветеринарная документация; система учета животных; контроль пищевой безопасности.

Введение

В последнее время в отраслях АПК отмечается взрывной рост объемов информации, освоение которых требует внедрения совершенно новых инструментов и более развитых технологий. Цифровые инновации получают широкое распространение в АПК и в сельскохозяйственном бизнесе. В ветеринарии Казахстана процесс генерации данных идет регулярно: от присвоения идентификационного номера животному до сбора сведений о болезнях. В результате этого возникают огромные массивы ценной информации, которые из-за отсутствия средств их обработки остаются бесполезными, как для участников рынка, так и для самого государства. Такие массивы информации невозможно обработать или проанализировать при помощи традиционных методов с использованием человеческого капитала и настольных компьютеров.

Целью данной работы является разработка цифровой платформы с мобильным приложением, позволяющим автоматизировать процессы формирования и передачи информации о животных в базу данных ИСЖ (Идентификация сельскохозяйственных животных), освободить практических ветеринарных работников от вала бумажной работы, поднять на качественно новый уровень работу по контролю за эпизоотической ситуацией и безопасностью животноводческой продукции.

Идентификация сельскохозяйственных животных имеет стратегическое значение в обеспечении эпизоотического благополучия и здоровья населения. Это важное звено в системе продовольственной безопасности страны, которое помогает защитить от болезней как животных, так и людей, а также обеспечить пищевую безопасность и стабильность экспорта отечественной животноводческой продукции. В Приказе Министра сельского хозяйства Республики Казахстан от 2 апреля 2003 года № 164 утверждены Правила проведения идентификации сельскохозяйственных животных, форма «Ветеринарный паспорт», а также коды областей, городов Астана и Алматы, закрепленные для проведения идентификации сельскохозяйственных животных [1]. Правила устанавливают единый порядок идентификации животных с целью проведения учета сельскохозяйственных животных в сельских (поселковых) округах (городах) и контроля за осуществлением ветеринарных обработок по профилактике и диагностике болезней животных. В соответствии с упомянутой статьей закона сельскохозяйственные животные подлежат обязательной идентификации, позволяющей вести наблюдение за каждым животным с целью контроля за осуществлением ветеринарных обработок по профилактике и диагностике болезней животных в порядке, установленном уполномоченным государственным органом в области ветеринарии. Рынки, организации по производству, заготовке (убою) животных, хранению, переработке и реализации продуктов и сырья животного происхождения, ветеринарных препаратов, кормов и кормовых добавок подлежат идентификации с целью контроля за соответствием подконтрольных государственному ветеринарному надзору грузов требованиям законодательства Республики Казахстан в области ветеринарии. Под идентификацией в Правилах понимается процедура проведения паспортизации

сельскохозяйственных животных, сопровождающаяся присвоением носителю индивидуального идентификационного номера (пластмассовые бирки, сережки, татуировочные номера) путем биркования, таврения и татуировки [2].

Переход на единую систему идентификации сельскохозяйственных животных Казахстан осуществил в 2006 году в связи с требованиями Всемирной Торговой Организации. Приказом Министра сельского хозяйства Республики Казахстан от 5 апреля 2006 года № 218 внесены дополнения и изменения в Приказ от 2 апреля 2003 года № 164 «Об идентификации сельскохозяйственных животных» [3]. В тот же год для обеспечения автоматизации процесса учета живого скота была разработана информационная система ИСЖ. Сведения в базу данных по идентификации сельскохозяйственных животных включаются в порядке, утвержденном Приказом Министра сельского хозяйства Республики Казахстан от 2 июня 2010 года № 367 "Об утверждении Правил формирования и ведения базы данных по идентификации сельскохозяйственных животных и выдачи выписки из нее" [4].

Анализ технических и технологических параметров объектов исследования показал наличие ряда существенных недостатков, которые будут препятствовать созданию устойчивой и эффективной системы учета животных и прослеживаемости животноводческой продукции. Основные из них: бесперспективность выбранных языков программирования в свете появления новых, более адаптивных к современным условиям цифровизации; риск срыва соединения протокола TLS с основными узлами сети из-за окончания срока использования корневого сертификата IdenTrust DST Root CA X3 некоммерческого удостоверяющего центра Let's Encrypt; отсутствие режима работы вне сети передачи данных, поскольку 61 % ветеринарных манипуляций проводится на периферии, где скорость передачи данных ниже требуемого уровня.

Материалы и методы

Материалами исследования являются нормативно-правовая документация, статистические показатели животноводства Аккольского района Акмолинской области, оперативная ветеринарная отчетность и разработанный программный продукт – мобильное приложение «Mal Derek». Методы исследования базировались на обобщении информации, полученной в результате сравнительного анализа. На разработанную программу ЭВМ – цифровую платформу «Mal Derek» (мобильное приложение) получено авторское свидетельство.

Результаты

Функционал мобильного приложения «Mal Derek» устроен так, что информация, вложенная в него ветеринарным врачом сельского округа, не может быть изменена другими пользователями системы на любом этапе. Это налагает дополнительную ответственность на ветеринарного врача сельского округа. Соответственно, возникает необходимость введения нормы, согласно которой в системе ветеринарной инспекции должен быть реестр или список ветеринарных врачей сельских округов, имеющих право пользоваться мобильным приложением с расширенным функционалом, т.е. функцией вносить всю необходимую информацию в базу данных и электронные ветеринарные паспорта животных.

На рисунках 1-6 показаны алгоритмы пользования мобильным приложением (Рисунки 1-6). Все процедурные моменты, связанные с созданием вышеуказанных описей и актов,

осуществляются мобильным приложением в автоматическом режиме в цифровом формате с автоматическим внесением этих информации в электронные паспорта каждого животного в базе данных ИСЖ. Таким образом, ветеринарный врач сельского округа полностью освобождается от бумажной волокиты, а вся информация без ошибок и неточностей переносится в автоматическом режиме в соответствующие электронные паспорта каждого животного.

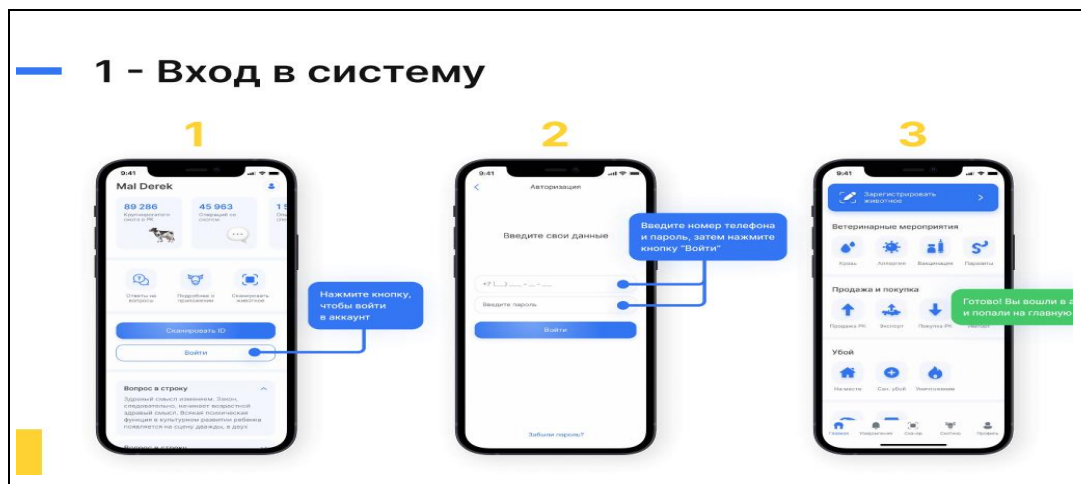


Рисунок 1 – Алгоритм входа в систему с помощью мобильного приложения

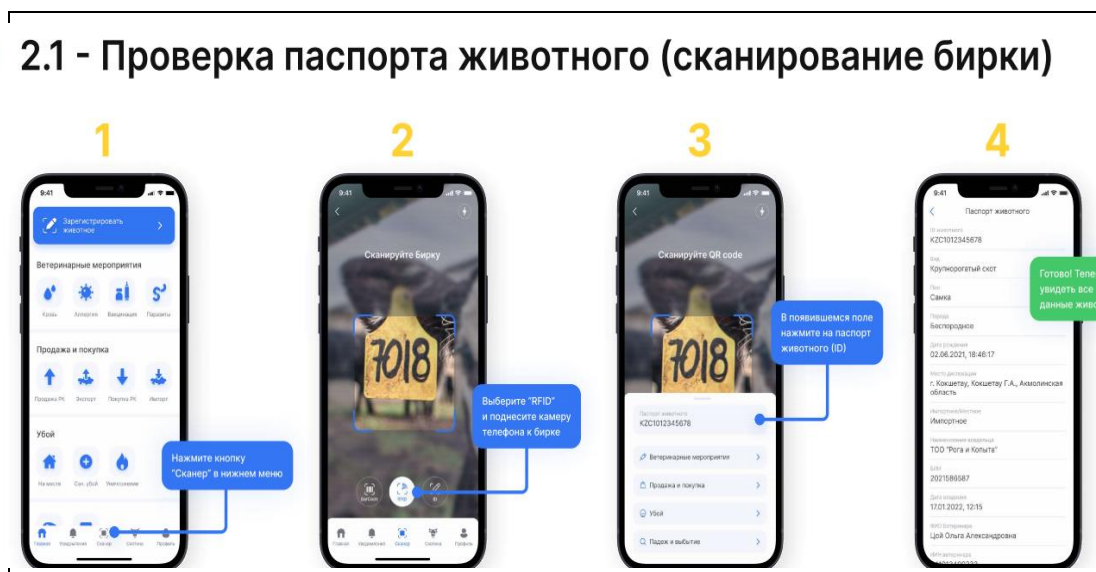


Рисунок 2 – Проверка паспорта животного путем сканирования бирки на устройстве

На все процедурные моменты, связанные с регистрацией животного требуется не более 3-х минут (Рисунок 3). Причем полностью исключены риски допущения ошибок и неточностей из-за влияния человеческого фактора, т.к. все первичные данные, которые должны быть внесены, заложены в интерфейс в виде справочников и выпадающих списков.

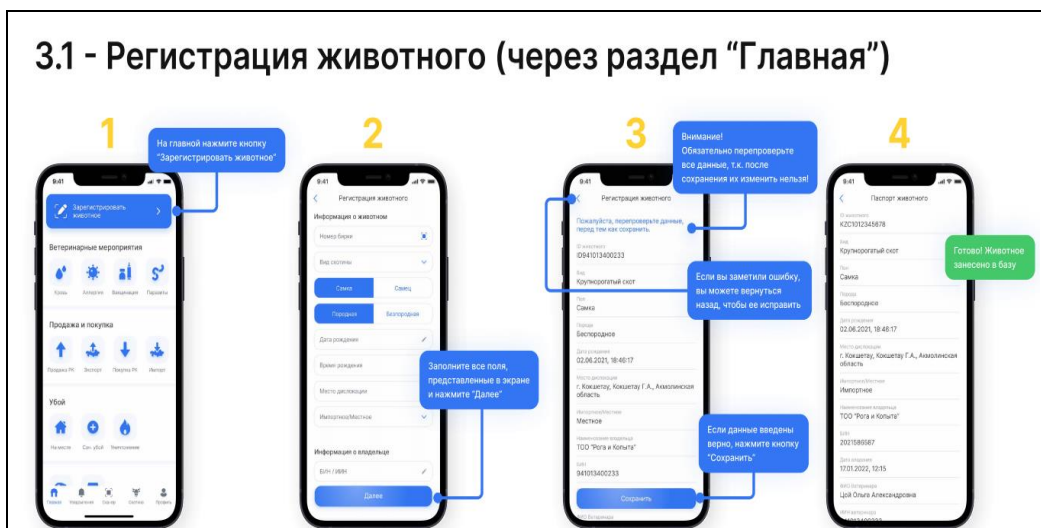


Рисунок 3 – Регистрация животного через раздел «Главная»

При проведении вакцинации и других ветеринарно-санитарных мероприятий аналогичным образом на бумажном носителе составляется акт об их проведении с указанием идентификационных номеров вакцинированных животных. В акте также указываются наименование вакцины или других препаратов, их серия, дата выпуска и срок годности. В последующем эти данные в ручном режиме заносятся в электронные паспорта каждого животного. При этом на составление описей и актов, а также на внесение информации в базу данных, т.е. в электронные паспорта животных ветеринарный врач в среднем тратить около половины рабочего времени, с учетом того, что внесение данных в электронные паспорта каждого животного осуществляется вне рабочего времени, в основном в вечернее время.

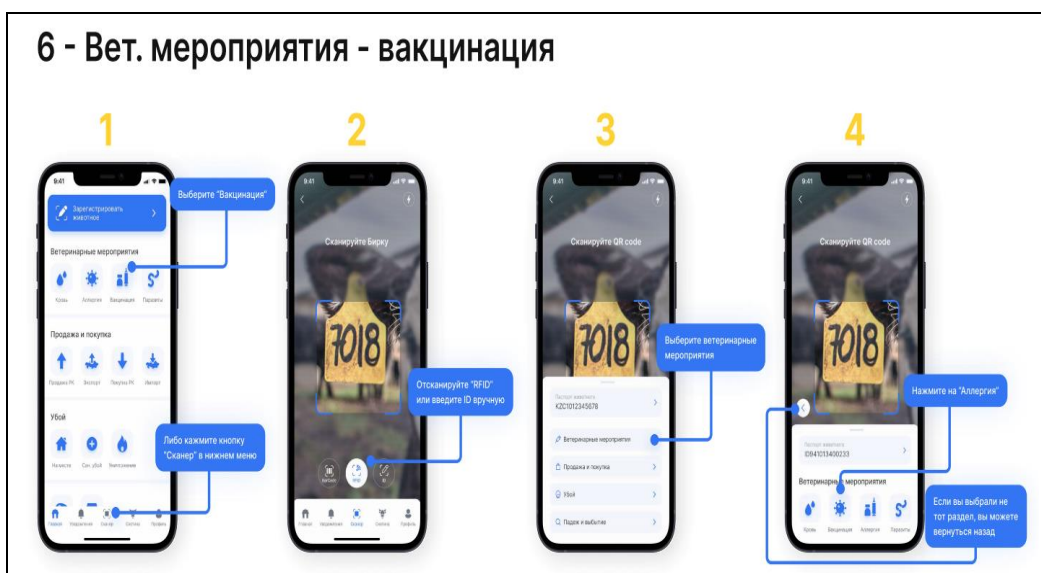


Рисунок 4 – Алгоритм проведения ветеринарного мероприятия – вакцинация (1-4 шаги)

При использовании мобильного приложения все процедурные моменты, связанные с созданием вышеуказанных описей и актов, осуществляются мобильным приложением в автоматическом режиме в цифровом формате с автоматическим внесением этих информации в электронные паспорта каждого животного в базе данных ИСЖ (Рисунок 4).

4.1 - Вет. мероприятия - взятие крови (через сканер)

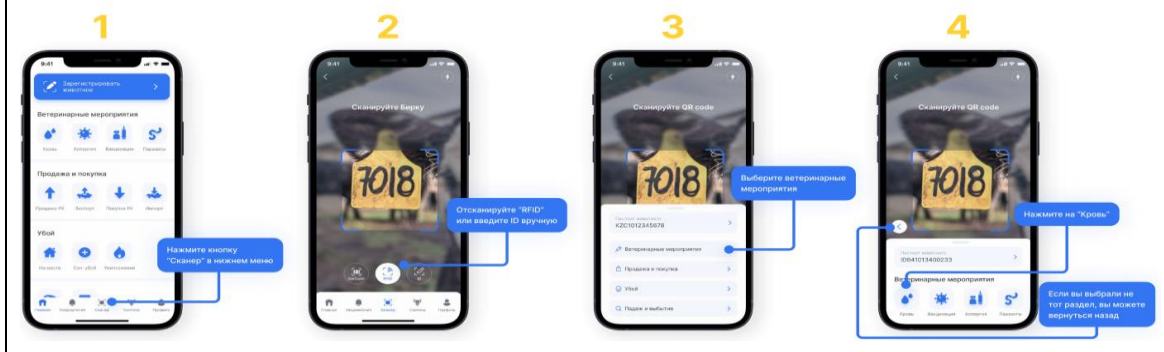


Рисунок 5 – Алгоритм проведения взятия крови на анализ (1-4 шага)

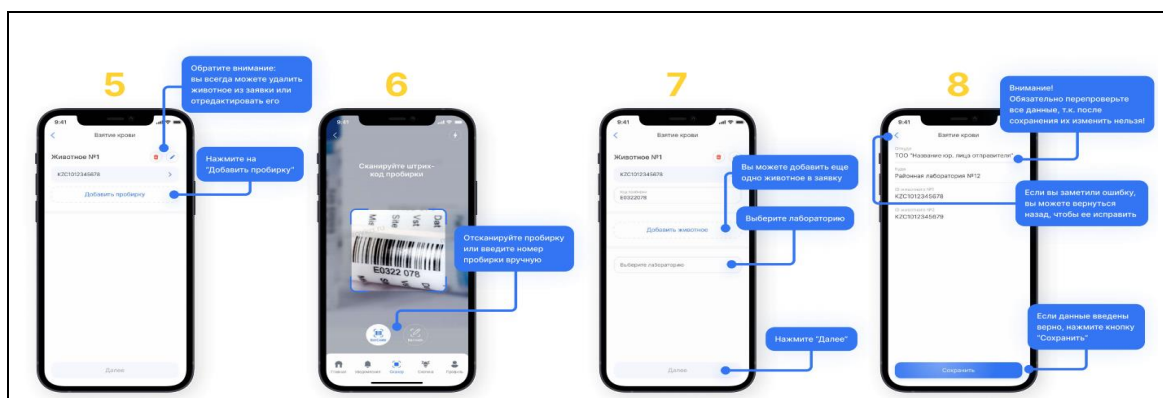


Рисунок 6 – Алгоритм проведения ветеринарного мероприятия – взятие крови на анализ (5-8 шага)

При проведении ветеринарного мероприятия по взятию крови на анализ (Рисунки 5, 6, 7) уведомление специалиста ветеринарной лаборатории о направлении проб крови для проведения серологического исследования осуществляется в автоматическом режиме ветеринарным врачом сельского округа через мобильное приложение. Полностью исключается работа по составлению описей и актов. Автоматическое внесение данных в электронные паспорта животных осуществляется параллельно в процессе проведения самой ветеринарно-санитарной процедуры, и самое главное, без каких-либо ошибок и неточностей.

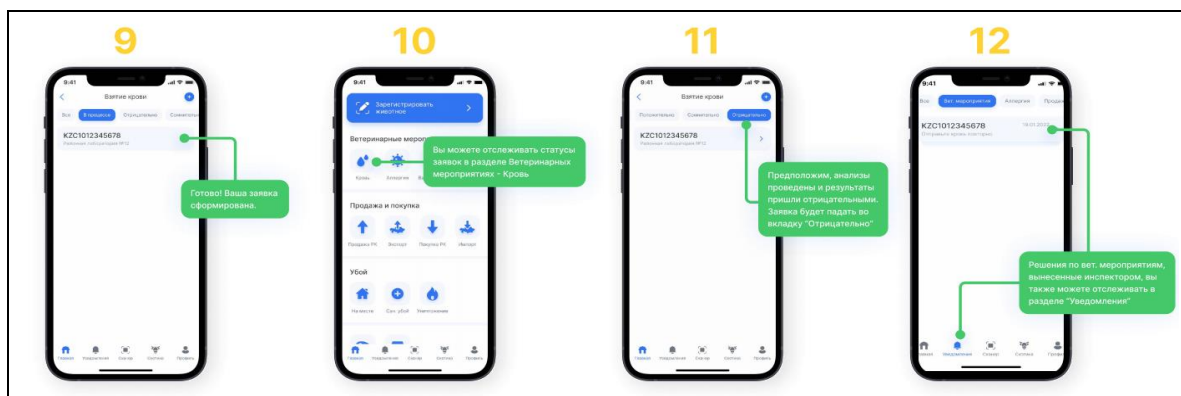


Рисунок 7 – Алгоритм проведения ветеринарного мероприятия – взятие крови на анализ (9-12 шага)

Контроль пищевой безопасности животноводческой продукции предусматривает полную прослеживаемость прохождения животным всех производственных этапов от рождения, получения профилактических и диагностических процедур, перемещения, процесса убоя и до момента реализации. Здесь одной из главных проблем является недопущение на реализацию мяса подворного убоя. Несмотря на то, что такая законодательная норма существует, на практике же из-за отсутствия действенных механизмов контроля, практически повсеместно, на реализацию поступает мясо подворного убоя. К тому же потребители лишены возможности лично убедиться в безопасности продукции, не имея доступ к информации о жизни и передвижении животного: возраст, когда и против каких болезней с ними проводились ветеринарные мероприятия и т.д. Аналогичным образом, многие торговые структуры, заинтересованные поставлять потребителям качественную и безопасную продукцию, нуждаются в получении открытых данных о животном, которые помогут потребителям быть уверенными в пищевой безопасности продукции животноводства. Однако, из-за отсутствия в ветеринарии современных цифровых технологий такая услуга все еще остается недоступной.

При участии ветеринарных специалистов Аккольского района Акмолинской области проведена работа по тестированию функционала мобильного приложения «Mal Derek». Процесс охватил все этапы – от проверки корректности установки программы до оценки точности считывания номеров и идентификации животных. Формирование тестовых задач было выполнено с учетом охвата всех пользователей – ветеринарных врачей, инспекторов, работников ветеринарно-санитарной экспертизы, специалистов рынков, убойных пунктов и мясокомбинатов. Отдельные задачи были поставлены для анонимных пользователей. Тестирование охватило 63 манипуляции, выполняемые ветеринарными специалистами при работе с сельскохозяйственными животными. Объектом исследования были выбраны: крупный рогатый и мелкий рогатый скот. При выполнении данной подзадачи проведен хронометраж всех операций с фиксацией времени, израсходованного в ходе проведения идентификации сельскохозяйственных животных, диагностических исследований и мониторинга+эпизоотической ситуации. В ходе анализа экономических параметров были учтены реальные данные по ставкам заработной платы ветеринарных специалистов Аккольского района Акмолинской области, а также тарифы на электричество, используемое персональным компьютером для работы в системе идентификации сельскохозяйственных животных (по имеющимся тарифам). Для получения сравнительных данных хронометраж был составлен при использовании действующей системы идентификации сельскохозяйственных животных (база ИСЖ) и разработанного мобильного приложения.

Дана оценка соответствию между реальным поведением программы и её ожидаемым поведением на конечном наборе тестов, выбранных определённым образом. Так, при использовании мобильного приложения экономия расходов на обработку данных по 1 голове скота составила 7 809,8 тенге. Учитывая наличие в Казахстане около 25 млн голов всех видов скота, общая экономия бюджетных средств на обработку данных составляет 195 млрд. тенге в год.

Обсуждение

Государственная информационная система ИСЖ это система учета животных с включением сведений о поле, породе, масти, возрасте, владельце и т.д. Она представляет

собой специальную базу данных сельскохозяйственных животных, с присвоением идентификационного (учетного) номера и выдачей ветеринарного паспорта. В системе реализованы следующие функции: автоматизация идентификации сельскохозяйственных животных; учет сельскохозяйственных животных; учет болезней, профилактических и исследовательских работ; создание электронного архива документов для быстрого поиска и анализа информации и уменьшение бумажного документооборота; формирование отчетности. В течение своей эволюции система ИСЖ претерпела множество изменений – от обмена данными на съемных носителях, до перехода из инсталляционного программного обеспечения на веб-платформу. Однако, несмотря на это данный программный продукт не обеспечил 100 %-ную достоверность первичных данных и полный переход субъектов ветеринарии на безбумажный формат работы, не смог исключить риск влияния человеческого фактора в практике. В связи с привязкой требований программ государственной поддержки к фактическому наличию сельскохозяйственных животных система ИСЖ потеряла первостепенную задачу и превратилась в инструмент получения субсидий. Такое положение привело к проявлению частных инициатив по разработке новых ПО, более современных, оперативных и эргономичных для работы. Так, появились мобильные приложения «Мал Малимет» и «ЕКЦ», которые дошли до уровня тестирования прототипов.

Мобильное приложение «Мал Малимет» – программа по учету сельскохозяйственных животных и контролю эпизоотической ситуации, функционирующая как отдельное мобильное приложение на платформе Android и iOS, а также имеющая фронт и бэк платформы для хранения данных. В приложении реализованы следующие функции: регистрация животных и ветеринарных мероприятий; поиск животных по идентификационным номерам; функции по обработке данных лабораторных исследований по болезням; опции государственного контроля и надзора; автоматизация процесса ВСЭ; управление пользователями.

Программное обеспечение «АСУ ИСЖ» представляет собой IT-систему по учету сельскохозяйственных животных, является собственной разработкой отечественной Компании ТОО Единый Консолидирующий Центр. Мобильное приложение «ЕКЦ» представляет собой автономную информационную программу для фиксации ветеринарных манипуляций и идентификации скота, привязанную к устройствам считывания, частично охватывает функции регистрации зоотехнических событий. Программа разработана производителями бирок для удобства работы своих клиентов (покупателей). В приложении реализованы следующие функции: создание нового животного со сканированием RFID бирки; формирование реестра животных; регистрация диагностических исследований; управление пользователями; фиксация зоотехнических событий.

Вместе с тем, несмотря на появление новых ПО и мобильных приложений, ветеринария до сих пор остается одной из самых отсталых сфер сельского хозяйства, среди охваченных современными цифровыми технологиями [5, 6, 7]. Практически вся ветеринарная документация все еще ведется на бумажных носителях в ручном режиме, ветеринарные специалисты на местах перегружены бумажной работой, что в свою очередь негативно сказывается на качестве выполнения ими прямых профессиональных обязанностей. Отсутствие современных цифровых технологий делает сферу ветеринарии непривлекательной для молодежи. И это, наряду с низким уровнем заработной платы,

является одной из главных причин острой нехватки ветеринарных специалистов на местах. К тому же сбор и формирование информации о животных, об эпизоотической ситуации, о качестве животноводческой продукции на бумажных носителях в ручном режиме из-за влияния человеческого фактора приводит к многочисленным ошибкам и неточностям. В результате информационный материал зачастую страдает низкой достоверностью и актуальностью, что в свою очередь приводит к неверной оценке ситуации.

Информационные системы, предназначенные для учета скота и обеспечения пищевой безопасности животноводческой продукции, используются во многих развитых странах. По структуре и функционалу они имеют между собой определенные отличия [8, 9, 10, 11]. В Европейской системе идентификация живого скота осуществляется без централизации данных и в большей степени привязана к зоотехнической культуре учета и внутрихозяйственному менеджменту. В Североамериканской практике законодательство устанавливает жесткие требования к ответственности владельцев сельскохозяйственных и домашних животных, из-за чего государственные органы не пытаются оцифровать процесс надзора и контроля. В этих странах либеральность подходов к ветеринарии основывается на высокой доле породного скота, отсутствии личных подсобных хозяйств и высокой степени организованности сельскохозяйственного производства. Кроме того, за рубежом ветеринарная документация имеет четкую привязку к регламентам работы (протоколам), установленным внутри хозяйственной деятельности. В связи с этим, используемые там информационные системы и мобильные приложения разрабатывались в большей степени как межсекторальные интеграторы и функционируют разрозненно.

В Казахстане ветеринарная система имеет свою уникальную структуру, сильно зависимую от рычагов государственного регулирования, контроля и надзора. Кроме того, почти 65 % живого скота находятся у физических лиц, где весьма сложно организовать самостоятельную работу владельцев по ветеринарному и зоотехническому учету животных.

Заключение

Итоги тестирования показали полное соответствие мобильного приложения «Mal Derek» начальному техническому заданию и его бесперебойное функционирование, включая режим отсутствия подключения к сети Интернет. Проведены исследования процесса идентификации скота и диагностики болезней сельскохозяйственных животных с применением разработанного программного обеспечения «Mal Derek» (мобильного приложения), экономической эффективности его использования в ветеринарной практике, этапов прохождения сырья животного происхождения от места производства до пункта потребления. Изучены преимущества и недостатки применения цифровых решений при различных манипуляциях, проводимых с сельскохозяйственными животными. Осуществлен сравнительный анализ временных и ресурсных затрат при использовании существующей системы идентификации скота (база ИСЖ) и новой цифровой платформы. Как показали итоги проведенного хронометража основная часть времени ветеринаров уходит на составление различного рода документаций и отчетности. При переходе на использование мобильного приложения 16 операций, связанных с заполнением бумажных носителей, будут исключены вовсе.

Финансирование: Работа выполнена в рамках реализации проекта «Разработка научно-обоснованных рекомендаций по переводу ветеринарной документации, системы учета животных и контроля пищевой безопасности на цифровой формат с тестированием патентованных и используемых в Казахстане ИТ-продуктов в области ветеринарии» в рамках НТП О.0941 по программно-целевому финансированию на 2021-2022 гг. «Изучить эпизоотологическую характеристику территории страны по особо опасным болезням и разработать ветеринарно-санитарные мероприятия по повышению их эффективности» (BR10764899), финансируемого Министерством сельского хозяйства Республики Казахстан.

Литература

1. Приказ Министра сельского хозяйства Республики Казахстан от 2 апреля 2003 года № 164 «Об идентификации сельскохозяйственных животных». URL: <https://adilet.zan.kz/rus/docs/V030002247>. (дата обращения 20 октября 2023 г).
2. URL: https://online.zakon.kz/Document/?doc_id=30058127&pos=4;-70#pos=4;-70 (дата обращения 20 октября 2023 г).
3. Приказ Министра сельского хозяйства Республики Казахстан от 5 апреля 2006 года N 218. О внесении дополнений и изменений в приказ Министра сельского хозяйства Республики Казахстан от 2 апреля 2003 года N 164 "Об идентификации сельскохозяйственных животных". URL: https://zakon.uchet.kz/rus/history/V060004193_/05.04.2006. (дата обращения 20 октября 2023 г).
4. Приказом Министра сельского хозяйства Республики Казахстан от 2 июня 2010 года № 367 "Об утверждении Правил формирования и ведения базы данных по идентификации сельскохозяйственных животных и выдачи выписки из нее". URL: https://adilet.zan.kz/rus/docs/V100006321_/history. (дата обращения 18 октября 2023 г).
5. Цифровизация ветеринарии в Костанайской области. URL: <https://foodindustry.kz/tsifrovizatsiya-veterinariii-v-kostanajskoj-oblasti/>. (дата обращения 17 октября 2023 г).
6. Басыкараева Ж. Современные проблемы и цифровизация в ветеринарии. // Материалы международной научно – теоретической конференции «Сейфуллинские чтения – 17: «Современная аграрная наука: цифровая трансформация», посвященной 30 – летию Независимости Республики Казахстан. - 2021. - Т. 1, Ч. 1 - С. 189 - 191.
7. О цифровизации сельского хозяйства и пищевой промышленности. URL: [file:///C:/Users/ADM/Downloads/original-vso%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/ADM/Downloads/original-vso%20(1).pdf). (дата обращения 20 октября 2023 г).
8. Инновационные технологии цифровизации ветеринарной отрасли России. URL: <https://xn--80ahddjcpvfqpm8o.xn--p1ai/upload/iblock/57f/2c980aceefa384080a7470be1ea82291.pdf>. (дата обращения 20 октября 2023 г).
9. Пругло В.В. Precision Health Program: Цифровизация ветеринарии в современном свиноводстве. URL: <https://www.ceva-russia.ru/Novosti-i-publikacii/Publikacii/Precision-Health-Program-cifrovizaciya-veterinariii-v-sovremennom-svinovodstve>. (дата обращения 6 октября 2023 г).
10. Смоленцев С.Ю. Цифровизация в ветеринарной медицине. Информационно-вычислительные технологии и их приложения. // Сборник статей XXVI Международной научно-технической конференции. Под научной редакцией В.В. Кузиной. - Пенза, 2022. - С. 200 - 203.

11. Якушев В.П., Якушев В.В. Перспективы «умного сельского хозяйства» в России // Вестник Российской Академии наук. – 2018. – Т. 88, № 9. – С. 773 – 784.

References

1. Prikaz Ministra sel'skogo hozyajstva Respubliki Kazahstan ot 2 aprelya 2003 goda № 164 «Ob identifikacii sel'skohozyajstvennyh zhivotnyh». URL:https://adilet.zan.kz/rus/docs/V030002247_ (data obrashcheniya 20 oktyabrya 2023 g).
2. URL: https://online.zakon.kz/Document/?doc_id=30058127&pos=4;-70#pos=4;-70 (data obrashcheniya 20 oktyabrya 2023 g).
3. Prikaz Ministra sel'skogo hozyajstva Respubliki Kazahstan ot 5 aprelya 2006 goda N 218. O vnesenii dopolnenij i izmenenij v prikaz Ministra sel'skogo hozyajstva Respubliki Kazahstan ot 2 aprelya 2003 goda N 164 "Ob identifikacii sel'skohozyajstvennyh zhivotnyh". URL: https://zakon.uchet.kz/rus/history/V060004193_/05.04.2006. (data obrashcheniya 20 oktyabrya 2023 g).
4. Prikazom Ministra sel'skogo hozyajstva Respubliki Kazahstan ot 2 iyunya 2010 goda № 367 "Ob utverzhdenii Pravil formirovaniya i vedeniya bazy dannyh po identifikacii sel'skohozyajstvennyh zhivotnyh i vydachi vypiski iz nee". URL: https://adilet.zan.kz/rus/docs/V100006321_/history. (data obrashcheniya 18 oktyabrya 2023 g).
5. Cifrovizaciya veterinarii v Kostanajskoj oblasti. URL: <https://foodindustry.kz/tsifrovizatsiya-veterinarii-v-kostanajskoj-oblasti/>. (data obrashcheniya 17 oktyabrya 2023 g).
6. Basykaraeva Z.H. (2021) Sovremennye problemy i cifrovizaciya v veterinarii [Modern problems and digitalization in veterinary medicine]. Materialy mezhdunarodnoj nauchno – teoreticheskoy konferencii «Sejfullinskie chteniya – 17: «Sovremennaya agrarnaya nauka: cifrovaya transformaciya», posvyashchennoj 30 – letiyu Nezavisimosti Respubliki Kazahstan, vol.1, p.1 - pp.189-191.
7. O cifrovizacii sel'skogo hozyajstva i pishchevoj promyshlennosti. URL: [file:///C:/Users/ADM/Downloads/original-vso%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/ADM/Downloads/original-vso%20(1).pdf). (data obrashcheniya 20 oktyabrya 2023 g).
8. Innovacionnye tekhnologii cifrovizacii veterinarnoj otrasli Rossii. URL: <https://www.ceva-russia.ru/Novosti-i-publikacii/Publikacii/Precision-Health-Program-cifrovizaciya-veterinarii-v-sovremennom-svinovodstve>. (data obrashcheniya 20 oktyabrya 2023 g).
9. Pruglo V.V. Precision Health Program: Cifrovizaciya veterinarii v sovremennom svinovodstve. URL: <https://www.ceva-russia.ru/Novosti-i-publikacii/Publikacii/Precision-Health-Program-cifrovizaciya-veterinarii-v-sovremennom-svinovodstve>. (data obrashcheniya 6 oktyabrya 2023 g).
10. Smolencev S.YU. (2022) Cifrovizaciya v vetrinarnoj medicine. Informacionno-vychislitel'nye tekhnologii i ih prilozheniya [Digitalization in veterinary medicine. Information and computing technologies and their applications]. Sbornik statej XXVI Mezhdunarodnoj nauchno-tekhnicheskoy konferencii. Pod nauchnoj redakciej V.V. Kuzinoy, Penza, pp. 200-203.
11. YAkushev V.P., YAkushev V.V. (2018) Perspektivy «umnogo sel'skogo hozyajstva» v Rossii [Prospects for “smart agriculture” in Russia]. Vestnik Rossijskoj Akademii nauk, vol. 88, no 9. – pp. 773–784.

ЭПИЗООТИЯЛЫҚ ЖАҒДАЙ ЖӘНЕ АЗЫҚ-ТҮЛІК ҚАУІПСІЗДІГІН БАҚЫЛАУДЫ ЦИФРАЛАНДЫРУ

А.А. Баккожаев, Ш.Т. Сарбаканова*, К.Т. Нуркиянов, К.М. Баянаева

«Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС, Алматы, Қазақстан

*sholpan.sar@mail.ru

Аннотация. Соңғы жылдары агроөнеркәсіптік кешен мен ауыл шаруашылығы бизнесінде цифрлық инновациялар кең өріс алды. Ветеринариялық құжаттаманы, жануарларды тіркеу және азық-түлік қауіпсіздігін бақылау жүйесін цифрлық форматқа көшіру Қазақстанның ветеринариясының кезек күттірмейтін міндеті болып табылады. Цифрлық технологияларды енгізу эпизоотиялық жағдайды бақылауда және азық-түлік қауіпсіздігін қамтамасыз етуде пайдаланылмаған құнды ақпараттың үлкен көлемін өңдеу үшін қажет. Ветеринариялық құжаттама әлі күнге дейін қағаз жүзінде сақталады, бұл көп уақытты алады. Алғашқы ақпаратты қолмен енгізу көптеген қателер мен дәлсіздіктерді тудырады және ақпараттың толықтығына теріс әсер етеді, эпизоотиялық жағдайды бақылау кезінде жедел статистиканы жүргізу мүмкін емес.

Бұл жұмыстың мақсаты – жануарлар туралы ақпаратты генерациялау және АШЖБ деректер базасына (Ауыл шаруашылығы жануарларын бірдейлендіру) беру процестерін автоматтандыруға мүмкіндік беретін мобильді қосымшасы бар цифрлық платформаны әзірлеу, ветеринария қызметкерлерін іс қағаздарын жүргізуден тегін практикалық, және эпизоотиялық жағдайды бақылау бойынша жұмысты сапалы жаңа деңгейге көтеру және мал шаруашылығы өнімдерінің қауіпсіздігін қамтамасыз ету, республика бойынша мал басының, әсіресе, вакцинация аймағынан таза аймақтарға көшуін жедел қадағалау.

Зерттеудің материалдары – құқықтық құжаттама, Ақмола облысы Ақкөл ауданындағы мал шаруашылығының статистикалық көрсеткіштері, жедел ветеринариялық есеп. Зерттеу әдістері әзірленген мобильді қосымшаны және ветеринариялық іс-шараларды жүргізу кезінде ауылшаруашылық жануарларын бірдейлендірудің қолданыстағы жүйесін пайдалану уақытын салыстырмалы талдау нәтижесінде алынған ақпаратты жалпылауға негізделген.

Ветеринариялық деректер базасына автоматты түрде және цифрлық форматта енгізілген бастапқы материалдың сапасы мен сенімділігін қамтамасыз ететін цифрлық платформа – «Мал Дерек» мобильді қосымшасы әзірленді. Осы компьютерлік бағдарламаға авторлық куәлік алынды. Ветеринария мамандарының қатысуымен Ақмола облысы Ақкөл ауданында «Мал Дерек» мобильді қосымшасының функционалдығын тексеру жұмыстары жүргізілді. Жануарлар туралы ақпаратты жергілікті ветеринария мамандарынан ветеринариялық зертханаларға, базарлар мен сауда ұйымдарының ветеринариялық-санитариялық сараптау зертханасына, мал өнімдерін қайта өңдеу кәсіпорындарына, сондай-ақ орталық дерекқорға беру процесін автоматтандырудың жаңа мүмкіндіктері ашылып, жануарлардан алынатын өнімдердің қауіпсіздігін қамтамасыз ету мәселесін шешу мүмкіндіктері туды.

Түйін сөздер: цифрлық платформа; мобилді қосымша; ветеринариялық құжаттама; жануарларды тіркеу жүйесі.

DIGITALIZATION OF EPIZOOTIC SITUATION MONITORING AND FOOD SAFETY CONTROL

A.A. Bakkozhaev, Sh.T. Sarbakanova*, K.T. Nurkiyanov, K.M. Bayanaeva

LLP "Kazakh Research Veterinary Institute", Almaty, Kazakhstan

*sholpan.sar@mail.ru

Abstract. In recent years, digital innovations have become widespread in the agro-industrial complex and in the agricultural business. The conversion of veterinary documentation, the system of animal registration and food safety control into digital format is an urgent task for the veterinary medicine of Kazakhstan. The introduction of digital technologies is necessary to process huge amounts of valuable information that remain unused in the control of the epizootic situation and food safety. Veterinary documentation is still kept on paper, which takes a lot of time. Manual entry of primary information creates numerous errors and inaccuracies and negatively affects the completeness of the information, making it impossible to keep operational statistics when monitoring the epizootic situation.

The purpose of this work is to develop a digital platform with a mobile application that allows you to automate the processes of generating and transferring information about animals to the ILI database (Identification of Farm Animals), free practical veterinary workers from the shaft of paperwork, and raise work to control the epizootic situation to a qualitatively new level. and safety of livestock products, promptly monitor the movement of livestock across the country, especially from the vaccination zone to clean zones.

The materials of the study are legal documentation, statistical indicators of animal husbandry in the Akkol district of the Akmola region, operational veterinary reporting. The research methods were based on the generalization of information obtained as a result of a comparative analysis of the time spent using the developed mobile application and the current system for identifying farm animals during veterinary activities.

A digital platform has been developed - a mobile application "Mal Derek", which ensures the quality and reliability of primary material entered into the veterinary database automatically and in digital format. The author's certificate for this computer program has been received. Work was carried out to test the functionality of the mobile application "Mal Derek" in the Akkol district of the Akmola region with the participation of veterinary specialists. Automating the process of transferring information about animals from local veterinary specialists to veterinary laboratories, to the laboratory of veterinary and sanitary examination of markets and trade organizations, to enterprises for the processing of animal products, as well as to the central database, opens up new possibilities for solving the problem of ensuring the safety of animal products.

Keywords: digital platform; mobile app; veterinary documentation; animal registration system.

ДАННЫЕ ОБ АВТОРАХ

1. Байсеит Темірлан Исағалиұлы, старший лаборант лаборатории «Контроля технологии и биопрепаратов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0009-0000-2816-6377, temirlan12tema@gmail.com

Калимолда Элина Жақытқызы, Младший научный сотрудник лаборатории «Контроля технологии и биопрепаратов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0003-4376-7992, elina.kalimolda@mail.ru

Абсатова Жарқынай Серикбаевна, старший научный сотрудник лаборатории «Контроля технологии и биопрепаратов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0003-0510-5496, zharkinay_a_s@mail.ru

Джекебеков Куаныш Кайратович, старший научный сотрудник лаборатории «Контроля технологии и биопрепаратов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0002-7801-6198, zhekebekov_87@mail.ru

Молдагулова Сабина Улановна, младший научный сотрудник лаборатории «Контроля технологии и биопрепаратов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0002-8353-1629, sabina_moldagulova@mail.ru

2. Жунушов Асанкадыр Темирбекович, Институт биотехнологии Национальной академии наук КР, г. Бишкек, Кыргызская Республика, д.в.н. профессор, член-корр. НАН КР, Директор института биотехнологии Национальной академии наук КР, ORCID 0000-0003-2044-7849, zhunushov.asankadyr@gmail.com

Бердибаева Аида Бердибаевна, Институт биотехнологии Национальной академии наук КР, г. Бишкек, Кыргызская Республика, к.б.н., ученый секретарь института биотехнологии Национальной академии наук КР

3. Валиева Айсулу Дулатбековна, младший научный сотрудник лаборатории «Коллекция микроорганизмов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан ORCID 0009-0008-9853-142X, a.dulatbekovna@biosafety.kz

Туысқанова Мөлдір Сержанқызы, младший научный сотрудник лаборатории «Коллекция микроорганизмов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан ORCID 0000-0001-6565-082X, monica_94@list.ru

Кенжебаева Маржан Кулкубековна, младший научный сотрудник лаборатории «Коллекция микроорганизмов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0001-6666-6532, kenzhebaeva80k@mail.ru

Сәрсенқұлова Нұрайым Айбекқызы, младший научный сотрудник лаборатории «Коллекция микроорганизмов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0001-9930-0297, nuraiym.sarsenkulova@mail.ru

Табыс Шалкар Төлегенұлы, старший лаборант лаборатории «Коллекция микроорганизмов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0002-4909-6598, shalkar.tabys@bk.ru

Килибаев Санат Серикович, старший научный сотрудник лаборатории «Коллекция микроорганизмов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан ORCID 0000-0001-9203-2189, sanat.kilibaev@mail.ru

Музарап Диас Ибрагимұлы старший лаборант лаборатории «Коллекция микроорганизмов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0002-5363-3501, m.dias00@mail.ru

Мамбеталиев Муратбай, главный научный сотрудник лаборатории «Коллекция микроорганизмов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0001-6034-6642, m.mambetaliyev@mail.ru

Жугунисов Куандык Даулетбаевич, PhD, заведующий лабораторией «Коллекция микроорганизмов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0003-4238-5116, kuandyk_83@mail.ru

4. Кондибаева Жанат Буркитбаевна, ведущий научный сотрудник лаборатории «Технология культивирования микроорганизмов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0002-8224-8047, zhanat.kondybaeva@mail.ru

Аманова Жанат Темирбаевна, ведущий научный сотрудник лаборатории «Технология культивирования микроорганизмов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0002-3987-6814, amanova-janka@mail.ru

Саметова Жанна Жумабековна, ведущий научный сотрудник лаборатории «Технология культивирования микроорганизмов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0002-2332-2841, sametova_zh.zh@mail.ru

Абитаев Руслан Тореханович, старший научный сотрудник лаборатории «Технология культивирования микроорганизмов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0001-5609-2491, rusabitaev@mail.ru

Тұрыскелді Шолпан Сманқызы, научный сотрудник лаборатории «Технология культивирования микроорганизмов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0002-9515-0655, smankizi@mail.ru

Усембай Абдурахман Қайратұлы, младший научный сотрудник лаборатории «Технология культивирования микроорганизмов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0003-3639-3793, abdu_01_98@mail.ru

Булатов Ербол Аkenович, заведующий лабораторией «Технология культивирования микроорганизмов», Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Казахстан, ORCID 0000-0001-8543-4219, erbol_km@mail.ru

5. Ибадуллаева Ғалия Саруаровна, НАО «Казахский Национальный медицинский университет имени С.Д. Асфендиярова», Қазақстан, ibadullaeva.72@mail.ru

Азембаев Амир Аканович, АО «Научный центр противомикробных препаратов», Қазақстан

Назаров Суюндик Галымжанұлы, Магистран Казнму, НАО «Казахский Национальный медицинский университет имени С.Д. Асфендиярова», Қазақстан, nazarovsg2@mail.ru

6. Баккожаев Анас Ахатович, ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Казахстан, infokms@mail.ru

Сарбаканова Шолпан Таупиковна, ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Казахстан, sholpan.sar@mail.ru

Нуркиянов Куаныш Толеуханович, ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Казахстан, nkt_79@mail.ru

Баянаева Кульжан Мураткановна, ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Казахстан, shepa59@mail.ru

ТРЕБОВАНИЯ К НАУЧНЫМ СТАТЬЯМ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В ЖУРНАЛЕ

Правила для авторов

Научный журнал «Биобезопасность и Биотехнология» принимает к публикации оригинальные исследовательские статьи, краткие сообщения и обзоры по следующим направлениям науки:

- Биологическая безопасность и биозащита
- Микробиология
- Медицинская и ветеринарная биотехнология
- Фитопатология и биотехнология растений

КАК ПОДГОТОВИТЬ СТАТЬЮ В ЖУРНАЛ

1. Требования к рукописям, направляемым в журнал

Текст должен быть набран в редакторе Microsoft Word, шрифт Times New Roman, размер 12, интервал одинарный, все поля 2 см, абзацный отступ 1 см. Все страницы и строки должны быть пронумерованы и иметь сквозную нумерацию. Выравнивание – по ширине (с автоматической расстановкой переносов).

Объем статей должен составлять 10-15 печатных страниц для оригинальных статей, 15-25 печатных страниц для обзоров, до 5 печатных страниц для кратких сообщений.

Авторы также должны представить каждое изображение в отдельном файле в оригинальном размере (не менее 300 dpi).

2. Язык статьи

К публикации в журнале принимаются рукописи из любых стран на казахском, русском и/или английском языках. Метаданные статьи (название статьи, Ф.И.О. авторов, официальное название учреждений авторов, адреса, резюме статьи, ключевые слова, информация для контакта с ответственным автором) должны быть представлены на трех языках.

Метаданные статьи на другом языке (если статья написана на казахском, то на русском языке или же наоборот) и на английском языке приводят в конце статьи после списка использованной литературы.

Для статей на казахском и русском языках пристатейный список литературы (References) должен быть дополнительно представлен в транслитерированном виде – см. пункт 4).

В случае, если авторы не предоставили метаданные статьи на языках, отличающихся от языка написания статьи или перевод некачественный, то редакция прибегает к услугам переводчика самостоятельно (право выбора переводчика остается за редакцией).

3. Титульный лист (метаданные статьи).

Титульный лист должен включать следующую информацию:

1) код МРНТИ (Международный рубрикатор научно-технической информации; определяется по ссылке <http://grnti.ru/>)

2) название статьи (лаконично и информативно. Заголовки часто используются в информационно-поисковых системах. По возможности избегайте сокращений и формул)

3) инициалы и фамилии авторов (пожалуйста, четко фамилии (имена) каждого автора и проверьте правильность написания всех имен)

4) организация и ее местонахождение для каждого автора (все аффилиации нумеруются надстрочной арабскими цифрами сразу после имени автора и перед соответствующим адресом; укажите адрес каждой организации, включая название населенного пункта и страны), и, если возможно, адрес электронной почты каждого автора. Если все авторы статьи работают в одном учреждении, указывать место работы каждого автора отдельно не нужно, достаточно указать учреждение один раз. Если у автора несколько мест работы, каждое обозначается отдельным цифровым индексом.

5) контактная информация (адрес электронной почты) автора для корреспонденции: (поставьте знак «*» сразу после индекса аффилиации автора для корреспонденции и перед контактной информацией). Если авторов для корреспонденции несколько, укажите инициалы рядом с каждым адресом.

6) при наличии указать для авторов ID номера ORCID с использованием гиперссылки в значке 

7) аннотация (один абзац не более 300 слов, при этом не менее 150 слов). В аннотации должны быть кратко изложены цель исследования, основные результаты и основные выводы. Аннотация часто представляется отдельно от статьи. В связи с этим следует избегать ссылок, нестандартных или необычных сокращений, но, если они необходимы, они должны быть определены при их первом упоминании в самом реферате. Аннотация должна быть объективным изложением статьи, не должна содержать результатов, не представленных и не обоснованных в основном тексте, и не должна преувеличивать основные выводы.

8) ключевые слова (5-10 слов или словосочетаний, должны отражать основное содержание статьи; определить предметную область исследования. Каждое ключевое слово отделяется точкой с запятой).

4. План построения оригинальных статей

Структура оригинальных статей должна соответствовать формату IMRAD (Introduction, Methods, Results, Discussion, Conclusion) и содержать разделы ВВЕДЕНИЕ, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ, РЕЗУЛЬТАТЫ, ОБСУЖДЕНИЕ, ЗАКЛЮЧЕНИЕ. В конце статьи размещают информацию о финансовой поддержке работы, гранты, благодарности; указание на конфликт интересов; список цитированной литературы. Оригинальная статья оформляется в соответствии ШАБЛОНА, предложенного редколлегией журнала journal.biosafety.kz.

Во введении следует изложить текущее состояние области исследований и процитировать основные публикации, обосновать актуальность и значимость проводимых исследований. Необходимо кратко указать цель работы. Насколько это возможно, сделайте введение понятным для ученых, не занимающихся вашей конкретной областью исследований. Ссылки должны быть пронумерованы в порядке их появления и обозначены цифрой или цифрами в квадратных скобках, например, [1] или [2,3], или [4–6]. Дополнительные сведения о ссылках см. в конце документа.

Материалы и методы должны быть описаны достаточно подробно, чтобы другие могли воспроизвести и использовать опубликованные результаты. Новые методы и протоколы должны быть описаны подробно, в то время как хорошо зарекомендовавшие себя методы могут быть кратко описаны и надлежащим образом процитированы.

Исследования с участием животных или людей, а также другие исследования, требующие этического одобрения, должны указывать орган, предоставивший одобрение, и соответствующий кодекс этического одобрения.

Раздел «**Результаты**» должен содержать точное описание экспериментальных результатов, их интерпретацию, а также экспериментальные выводы, которые можно сделать. При необходимости этот раздел может быть разделен на подразделы.

В разделе «**Обсуждение**» авторы должны обсудить полученные результаты и то, как их можно интерпретировать с точки зрения предыдущих исследований и рабочих гипотез. В обсуждении можно привести возможные объяснения сходства и противоречий с другими аналогичными исследованиями. В максимально широком контексте следует обсудить выводы и их значение. Также в данном разделе могут быть выделены будущие направления исследований.

Раздел «**Заключение**» включает обобщение и подведение итогов работы на текущем этапе. Выводы должны быть точными и использоваться для обобщения результатов исследований в конкретных научных областях с описанием предложений или возможностей дальнейшей работы.

Финансирование: Укажите источник финансирования исследований (название финансирующей организации, номер гранта). Внимательно проверьте правильность приведенных данных и используйте стандартное написание названий финансирующих организаций.

Благодарности: В этом разделе вы можете отметить любую оказанную поддержку. Это может включать административную и техническую поддержку или предоставление материалов для экспериментов.

Конфликт интересов: Все авторы должны раскрывать информацию о любых финансовых и личных отношениях с другими людьми или организациями, которые могут ненадлежащим образом повлиять (предвзято) на их работу. Примеры потенциальных конфликтов интересов включают занятость, консультации, владение акциями, гонорары, платные экспертные заключения, патентные заявки/регистрации, а также гранты или другое финансирование. Если нет никаких конфликтов к опубликованию материалов в статье, указать, что авторы не имеют конфликта интересов.

В разделе «**Литература**» следует привести список цитированной литературы, оформленный согласно ГОСТ 7.1-2003 «Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления» (требование к изданиям, входящих в перечень КОКСОН). Список литературы должен быть пронумерован в порядке упоминания в тексте (включая цитаты в таблицах и легендах). Включите цифровой идентификатор объекта (DOI) для всех ссылок, где они доступны. В тексте ссылки должны быть заключены в квадратные скобки [...] и поставлены перед знаками препинания; например [1], [1–3] или [1,3].

Примеры оформления ссылок:

Статья в периодическом издании (журнале)

Aspden K., Passmore J.A., Tiedt F., Williamson A.L. Evaluation of lumpy skin disease virus, a capripoxvirus, as a replication-deficient vaccine vector // J. Gen. Virol. – 2003. – Vol. 84 (Pt 8). – P. 1985-1996. doi: ... (при наличии)

Гуненков В.В., Черняк В.П., Кузнецов Г.Д. Сухая живая вакцина против оспы овец из штамма C113/86 // Ветеринария. – 1993. – № 11/12. – С. 23-24.

Книги

Зайцев В.Л. Морфогенез вируса оспы овец в культуре клеток /В.Л.Зайцев, Н.Т.Сандыбаев, К.Т.Султанкулова, В.Ю.Белоусов, О.В.Червякова, В.М.Строчков // Вирус оспы овец: молекулярно-биологические свойства и структура генома. – Алматы, 2011. – С.73-84. ISBN 978-601-278-599-9

Материалы конференций

Султанкулова К.Т. Токсико-биологическая оценка гриба *Histoplasma farciminosum* – возбудителя эпизоотического лимфангоита лошадей // Ветеринарные и зоотехнические вопросы коневодства: первая науч.-практ. конф. - Алматы, 2003. – С. 26-29

Сансызбай А.Р. Эпизоотическая ситуация лимфангита лошадей, вызванного *Histoplasma farciminosum*, в коневодческих хозяйствах Республики Казахстан //Современное состояние и актуальные проблемы развития ветеринарной науки и практики: науч.-практ. конф. – Алматы, 2005. – С. 234-237.

Интернет-источники

Вспышка оспы овец на территории Российской Федерации в Ярославской области [Электрон.ресурс]. - URL: <http://www.fsvps.ru/fsvps/news/18142.html> (дата обращения 3 сентября 2016 г).

Далее приводится транслитерированный список использованных источников в разделе REFERENCES. При этом англоязычные источники дублируются из раздела ЛИТЕРАТУРА, казахскоязычные и русскоязычные ссылки должны быть приведены к латинскому алфавиту (латинице) и английскому переводу. Ссылка должна дополнительно содержать DOI (идентификатор цифрового объекта), если таковой имеется. Транслитерация осуществляется с использованием онлайн-платформы <http://translit-online.ru/>. Эта онлайн-платформа не транслитерирует отдельные буквы казахского алфавита. Авторы должны самостоятельно вносить исправления после транслитерации казахского текста.

Транслитерированный список литературы должен выглядеть в следующем виде для источников на кириллице: автор(-ы) (транслитерация) → (год в круглых скобках)→название статьи в транслитерированном варианте [перевод названия статьи на английский язык в квадратных скобках], название русскоязычного источника (транслитерация, либо английское название – если есть), выходные данные с обозначениями на английском языке.

Например: Gokhberg L., Kuznetsova T. (2011) Strategiya-2020: novye kontury rossiiskoi innovatsionnoi politiki [Strategy 2020: New Outlines of Innovation Policy]. *Foresight-Russia*, vol. 5, no 4, pp. 8–30.

5. Оформление обзоров и кратких сообщений

Обзорные статьи должны включать в себя введение, разделы обзора литературы и заключение. Файл шаблона также можно использовать для подготовки первой и заключительной частей обзорной рукописи. Основная часть может содержать разделы и подразделы. Обзоры публикуются по заказу редакции или по инициативе автора.

Краткое сообщение представляет краткий формат информации логически завершеного научного исследования в объёме до 5 страниц, включающее не более 2 рисунков/таблиц/графиков и до 10 ссылок.

6. Особенности оформления таблиц, рисунков

Таблицы должны быть созданы в формате таблицы Microsoft Word. Таблицы должны быть пронумерованы и в тексте должны быть ссылки на каждую таблицу. Заголовок таблицы расположен по центру над таблицей, пояснительные сноски (обозначенные строчными надстрочными буквами) расположены под таблицей. Таблицы не должны дублировать информацию, представленную в тексте.

Все рисунки (фотографии, диаграммы, графики и схемы) должны быть пронумерованы арабскими цифрами (1, 2, ...). Надписи и символы должны быть четко определены либо в подписи, либо в легенде, являющейся частью рисунка.

КАК ПОДАТЬ СТАТЬЮ НА РАССМОТРЕНИЕ

Рукопись статьи направляется в редакцию через форму на сайте журнала journal.biosafety.kz

Загружаемый в систему файл со статьей должен быть представлен в формате Microsoft Word (иметь расширение *.doc или *.docx). Сопроводительное письмо с оригинальными подписями должно быть представлено в формате PDF. Сопроводительное письмо должно быть кратким с указанием соответствия рукописи тематике журнала. Сопроводительное письмо должно содержать утверждения, что ни рукопись, ни какие-либо части ее содержания в настоящее время не находятся на рассмотрении или опубликованы в другом журнале. Все авторы должны одобрить рукопись и согласиться с ее подачей в журнал.

Перед отправкой рукописи убедитесь, что:

- Рукопись проверена на орфографию и грамматику
- Все ссылки, упомянутые в списке литературы, цитируются в тексте, и наоборот
- Получено разрешение на использование материалов, защищенных авторским правом, из других источников (включая Интернет)
- Правила журнала, подробно описанные в этом руководстве, были изучены
- Убедитесь, что все ссылки на рисунки и таблицы в тексте соответствуют предоставленным файлам

7. К сведению авторов

К статье прилагаются:

- сопроводительное письмо (для сторонних организаций).
- сведения об авторах: фамилия, имя и отчество (полностью), ученая степень, должность, место работы, контактные телефоны, адрес для переписки (e-mail).

Решение о публикации принимается редакционной коллегией журнала после рецензирования, учитывая научную значимость и актуальность представленных материалов.

Вид рецензирования – двойное «слепое» рецензирование, то есть и автор, и рецензент остаются анонимными. Рукопись направляется на отзыв члену редколлегии и рецензенту; в спорных случаях по усмотрению редколлегии привлекаются дополнительные рецензенты; на основании экспертных заключений редколлегия определяет дальнейшую судьбу рукописи: принятие к публикации в представленном виде, необходимость доработки или отклонение. В случае необходимости рукопись направляется авторам на доработку по замечаниям рецензентов и редакторов, после чего она повторно рецензируется, и редколлегия вновь

решает вопрос о приемлемости рукописи для публикации. Переработанная рукопись должна быть возвращена в редакцию в течение месяца после получения авторами отзывов; в противном случае рукопись рассматривается как вновь поступившая. Рукопись, получившая недостаточно высокие оценки при рецензировании, отклоняется как не соответствующая уровню или профилю публикаций журнала.

Авторы несут ответственность за достоверность и значимость научных результатов, а также актуальность научного содержания работ.

Направление статьи в редакцию означает, что авторы не передали аналогичный материал (в оригинале или в переводе на другие языки или с других языков) в другой журнал (ы), что этот материал не был ранее опубликован и не будет направлен в печать в другое издание или не принят в печать в другом журнале. Если в ходе работы над рукописью выяснится, что аналогичный материал (возможно, под другим названием и с другим порядком авторов) направлен в другой журнал, статья немедленно возвращается авторам, о происшедшем сообщается в журнал, принявший к рассмотрению этот материал, с рекомендацией отклонить статью за нарушение авторских прав редакции и издательства.

Наш адрес:

080409, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, ул. Момышулы 15
РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» МЗ

РК

Учебный научно-образовательный центр (УНОЦ), тел. (726-36) 7-22-28.

E-mail: unots@biosafety.kz

Публикация в журнале для авторов **бесплатна**.

НАЗВАНИЕ

Имя Фамилия¹, Имя Фамилия², Имя Фамилия²,*¹ Место работы² Место работы

*e-mail (если авторов-корреспондентов несколько, добавьте инициалы авторов)

Аннотация. Один абзац не более 300 слов, при этом не менее 150 слов. В аннотации должны быть кратко изложены цель исследования, основные результаты и основные выводы. Аннотация часто представляется отдельно от статьи. В связи с этим следует избегать ссылок, нестандартных или необычных сокращений, но, если они необходимы, они должны быть определены при их первом упоминании в самом реферате. Аннотация должна быть объективным изложением статьи, не должна содержать результатов, не представленных и не обоснованных в основном тексте, и не должна преувеличивать основные выводы.

Ключевые слова: ключевое слово 1; ключевое слово 2; ключевое слово 3 (5-10 слов или словосочетаний, должны отражать основное содержание статьи; определить предметную область исследования. Каждое ключевое слово отделяется точкой с запятой)

Как использовать данный шаблон

В шаблоне подробно описаны разделы, которые должны быть использованы рукописи. Обратите внимание, что у каждого раздела есть соответствующий стиль, который можно найти в меню «Стили» Word. Разделы, которые не являются обязательными, перечислены как таковые. Названия разделов даны для оригинальных статей. Обзорные статьи и другие типы статей имеют более гибкую структуру.

Удалите этот абзац и начните с раздела «Введение». По всем вопросам обращайтесь в редакцию журнала по адресу unots@biosafety.kz.

Введение

Во введении следует изложить текущее состояние области исследований и процитировать основные публикации, обосновать актуальность и значимость проводимых исследований. Необходимо кратко указать цель работы. Насколько это возможно, сделайте введение понятным для ученых, не занимающихся вашей конкретной областью исследований. Ссылки должны быть пронумерованы в порядке их появления и обозначены цифрой или цифрами в квадратных скобках, например, [1] или [2,3], или [4–6].

Материалы и методы

Данный раздел должен быть описан достаточно подробно, чтобы другие могли воспроизвести и использовать опубликованные результаты. Новые методы и протоколы должны быть описаны подробно, в то время как хорошо зарекомендовавшие себя методы могут быть кратко описаны и надлежащим образом процитированы, например, [1] или [2,3], или [4–6].

Исследования с участием животных или людей, а также другие исследования, требующие этического одобрения, должны указывать орган, предоставивший одобрение, и соответствующий кодекс этического одобрения.

При необходимости этот раздел может быть разделен на подразделы.

Подраздел

Результаты

Данный раздел должен содержать краткое и точное описание экспериментальных результатов, их интерпретацию, а также экспериментальные выводы, которые можно сделать. При необходимости этот раздел может быть разделен на подразделы.

Подраздел

Таблицы и рисунки

Таблицы и рисунки должны быть пронумерованы и в тексте на них должны быть ссылки. Например, Таблица 1, Рисунок 1 и т.п.

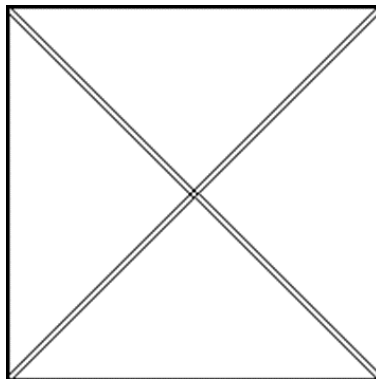


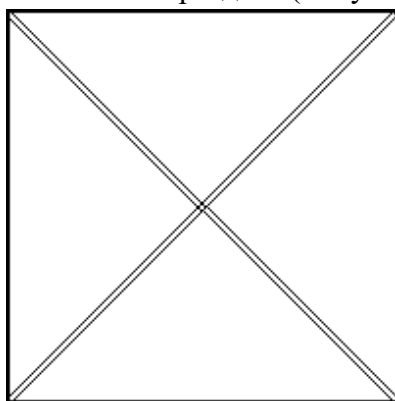
Рисунок 1 – Это рисунок. Схемы имеют такое же форматирование

Таблица 1 – Это таблица. Таблицы следует размещать в основном тексте рядом с местом первого упоминания

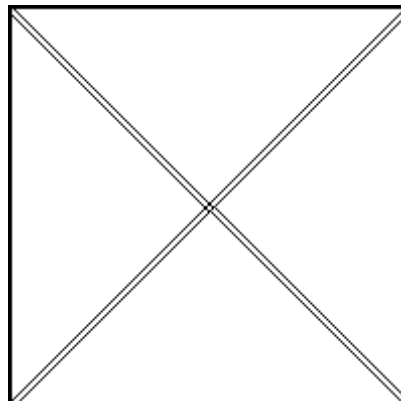
Заголовок 1	Заголовок 2	Заголовок 3
вводные 1	данные	данные
вводные 2	данные	данные ¹

¹ Примечания к данным таблицы разместить под таблицей.

Продолжить текст раздела (Рисунок 2).



(а)



(б)

Если имеется несколько панелей, они должны быть перечислены следующим образом: (а) описание того, что содержится в первой панели; (б) Описание того, что содержится во второй панели

Рисунок 2 – Это рисунок. Рисунки следует размещать в основном тексте рядом с местом первого упоминания

Обсуждение

Авторы должны обсудить полученные результаты и то, как их можно интерпретировать с точки зрения предыдущих исследований и рабочих гипотез. В обсуждении можно привести возможные объяснения сходства и противоречий с другими аналогичными исследованиями. В максимально широком контексте следует обсудить выводы и их значение. Также в данном разделе могут быть выделены будущие направления исследований.

Заключение

Данный раздел включает обобщение и подведение итогов работы на текущем этапе. Выводы должны быть точными и использоваться для обобщения результатов исследований в конкретных научных областях с описанием предложений или возможностей дальнейшей работы.

Финансирование: Укажите источник финансирования исследований (название финансирующей организации, номер гранта). Внимательно проверьте правильность приведенных данных и используйте стандартное написание названий финансирующих организаций.

Благодарности: В этом разделе вы можете отметить любую оказанную поддержку. Это может включать административную и техническую поддержку или предоставление материалов для экспериментов.

Конфликт интересов: Все авторы должны раскрывать информацию о любых финансовых и личных отношениях с другими людьми или организациями, которые могут ненадлежащим образом повлиять (предвзято) на их работу. Примеры потенциальных конфликтов интересов включают занятость, консультации, владение акциями, гонорары, платные экспертные заключения, патентные заявки/регистрации, а также гранты или другое финансирование. Если нет никаких конфликтов к опубликованию материалов в статье, указать, что авторы не имеют конфликта интересов.

Литература

В данном разделе следует привести список цитированной литературы оформленный согласно ГОСТ 7.1-2003 «Библиографическая запись. Библиографическое описание. Общие требования и правила составления» (требование к изданиям, входящих в перечень КОКСОН). Список литературы должен быть пронумерован в порядке упоминания в тексте (включая цитаты в таблицах и легендах). Включите цифровой идентификатор объекта (DOI) для всех ссылок, где они доступны. В тексте ссылки должны быть заключены в квадратные скобки [...] и поставлены перед знаками препинания; например [1], [1–3] или [1,3].

1 Aspden K., Passmore J.A., Tiedt F., Williamson A.L. Evaluation of lumpy skin disease virus, a capripoxvirus, as a replication-deficient vaccine vector // J. Gen. Virol. – 2003. – Vol. 84 (Pt 8). – P. 1985-1996. doi: ... (при наличии)

2 Гуненков В.В., Черняк В.П., Кузнецов Г.Д. Сухая живая вакцина против оспы овец из штамма С113/86 // Ветеринария. – 1993. – № 11/12. – С. 23-24.

3 Зайцев В.Л. Морфогенез вируса оспы овец в культуре клеток /В.Л.Зайцев, Н.Т.Сандыбаев, К.Т.Султанкулова, В.Ю.Белоусов, О.В.Червякова, В.М.Строчков // Вирус оспы овец: молекулярно-биологические свойства и структура генома. – Алматы, 2011. – С.73-84. ISBN 978-601-278-599-9

4 Султанкулова К.Т. Токсико-биологическая оценка гриба *Histoplasma farciminosum* – возбудителя эпизоотического лимфангита лошадей // Ветеринарные и зоотехнические вопросы коневодства: первая науч.-практ. конф. - Алматы, 2003. – С. 26-29

5 Сансызбай А.Р. Эпизоотическая ситуация лимфангита лошадей, вызванного *Histoplasma farciminosum*, в коневодческих хозяйствах Республики Казахстан //Современное

состояние и актуальные проблемы развития ветеринарной науки и практики: науч.-практ. конф. – Алматы, 2005. – С. 234-237.

6 Вспышка оспы овец на территории Российской Федерации в Ярославской области [Электрон.ресурс]. - URL: <http://www.fsvps.ru/fsvps/news/18142.html> (дата обращения 3 сентября 2016 г).

References

Далее приводится транслитерированный список использованных источников в разделе REFERENCES. При этом англоязычные источники дублируются из раздела ЛИТЕРАТУРА, казахскоязычные и русскоязычные ссылки должны быть приведены к латинскому алфавиту (латинице) и английскому переводу. Ссылка должна дополнительно содержать DOI (идентификатор цифрового объекта), если таковой имеется. Транслитерация осуществляется с использованием онлайн-платформы <http://translit-online.ru/>. Эта онлайн-платформа не транслитерирует отдельные буквы казахского алфавита. Авторы должны самостоятельно вносить исправления после транслитерации казахского текста.

Транслитерированный список литературы должен выглядеть в следующем виде для источников на кириллице: автор(-ы) (транслитерация) → (год в круглых скобках) → название статьи в транслитерированном варианте [перевод названия статьи на английский язык в квадратных скобках], название русскоязычного источника (транслитерация, либо английское название – если есть), выходные данные с обозначениями на английском языке.

Например:

1 Gokhberg L., Kuznetsova T. (2011) Strategiya-2020: novye kontury rossiiskoi innovatsionnoi politiki [Strategy 2020: New Outlines of Innovation Policy]. Foresight-Russia, vol. 5, no 4, pp. 8–30.

МАҚАЛА ТАҚЫРЫБЫ

Аты Тегі¹ , Аты Тегі² , Аты Тегі² .*

¹ Жұмыс орны

² Жұмыс орны

*e-mail (егер бірнеше автор-корреспондент болса, авторлардың инициалдарын қосыңыз)

Аннотация. Бір абзац 300 сөзден аспайды, 150 сөзден кем емес. Аннотацияда зерттеу мақсаты, негізгі нәтижелер мен негізгі қорытындылар қысқаша көрсетілуі керек. Аннотация көбінесе мақаладан бөлек беріледі. Осыған байланысты сілтемелерден, стандартты емес немесе әдеттен тыс аббревиатуралардан аулақ болу керек, бірақ қажет болған жағдайда олар рефераттың өзінде бірінші рет айтылған кезде анықталуы керек. Аннотация мақаланың объективті баяндалуы болуы керек, негізгі мәтінде көрсетілмеген немесе дәлелденбеген нәтижелерді қамтымауы керек және негізгі қорытындыларды асыра көрсетпеуі керек.

Түйін сөздер: түйінсөз 1; түйінсөз 2; түйінсөз 3 (5-10 сөз немесе сөз тіркестері мақаланың негізгі мазмұнын көрсетуі керек; зерттеудің пәндік саласын анықтау. Әрбір түйінді сөз нүктелі үтірмен бөлінеді)

TITLE

Firstname Lastname¹ , Firstname Lastname² , Firstname Lastname² ,*

¹ Affiliation

² Affiliation

* e-mail (if there are more than one correspondent authors, add the initials of the authors)

Abstract. One paragraph no more than 300 words, with no less than 150 words. The abstract should briefly describe the purpose of the study, the main results and main conclusions. The abstract is often presented separately from the article. In this regard, references, non-standard or unusual abbreviations should be avoided, but, if necessary, they should be identified at their first mention in the abstract itself. The abstract should be an objective presentation of the article, should not contain results that are not presented or substantiated in the main text, and should not exaggerate the main conclusions.

Keywords: keyword 1; keyword 2; keyword 3 (5-10 words or phrases should reflect the main content of the article; define the subject area of the study. Each keyword is separated by a semicolon)