

МАЗМҰНЫ

Дәуленов М.М., Қазақстан Республикасының Білім және ғылым вице-министрі ҚҰТТЫҚТАУ СӨЗ	5
Закарья К.Д., журналдың бас редакторы, БҚПҒЗИ бас директоры АЛҒЫСӨЗ	6
Абдураимов Е.О., журналдың бас редакторының орынбасары, БҚПҒЗИ бас директорының ғылым және коммерцияландыру жөніндегі орынбасары ИНСТИТУТТЫҢ ДАМУ ТАРИХЫ	7

ШОЛУ МАҚАЛА

Бурабаев Б.К., Джекебеков К.К., Уланкызы А., Джалдыбаева А.Е., Умуралиев Б.К. БИОЛГИЯЛЫҚ ҚАУІПСІЗДІК ПРОБЛЕМАЛАРЫНЫҢ ҒЫЛЫМИ-ЗЕРТТЕУ ИНСТИТУТЫНДА БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАУІПТЕРДІ БАСҚАРУ	10
--	----

ВЕТЕРИНАРИЯ

Әбутәліп Ә., Мырзалиев А.Ж., Түсіпқанұлы О., Қыдырова Г. ЖАНУАРЛАР БРУЦЕЛЛЕЗІН КБР БАЛАУ ТИІМДІЛІГІ	12
Азанбекова М.А., Абсатова Ж.С., Кенжебаева М.К., Мамбеталиев М., Кутумбетов Л.Б., Жугунисов К.Д. ІРІ ҚАРА МАЛДЫҢ СҮЙЕЛДІ ДЕРМАТИТИНІҢ ВИРУСЫН ЗЕРТХАНА ЖАҒДАЙЫНДА САҚТАУ ҮШІН ҚОҒАНЫС ОРТАСЫНЫҢ КОМПОНЕНТТЕРІН ТАҢДАУ	16
Алиева А.Б., Кайсенов Д.Н., Далбаев Н.К., Әділ Т.С., Божбанбаева М.М., Баракбаев К.Б. PASTEURELLA MULTOCIDA ARO/A ЛОФИЛИЗАЦИЯЛАУ ЖӘНЕ САҚТАУ ҮШІН ТҰРАҚТАНДЫРУ ОРТАСЫН ТАҢДАУ	22
Аманова Ж.Т., Жугунисов К.Д., Кондибаева Ж.Б., Шаяхметов Е.А., Булатов Е.А. ҚОЙ КҮЛІНЕ ҚАРСЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛДЫ ВАКЦИНАСЫНЫҢ ҚАТЕРСІЗДІГІ МЕН ИММУНОГЕНДІЛІГІН БАҒАЛАУ	25
Ермағамбетова С.Е., Ибажанова А.С., Амангелді Қ. ҚОЗЫ САЛЬМОНЕЛЛЕЗІНІҢ ПАТОЛОГИЯЛЫҚ МОРФОЛОГИЯСЫ	29
Еспембетов Б.А., Зинина Н.Н., Сармыкова М.К., Сырым Н.С., Червякова О.В. ҚҰЛЫННЫҢ ПАТОЛОГИЯЛЫҚ МАТЕРИАЛЫНАН БӨЛІП АЛЫНҒАН STREPTOCOCCUS EQUI ЭПИЗООТИЯЛЫҚ ӨСІНДІСІНІҢ БИОЛОГИЯЛЫҚ ЖӘНЕ МОЛЕКУЛАЛЫҚ-ГЕНЕТИКАЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІН ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ	34
Жумагелдиев А.А., Мәтен Т., Қазтаева Б.К., Толымбекова А.А., Байбулатова Ж.Б. ҰЛАР ЕТІНІҢ ТАҒАМДЫҚ ҚҰНДЫЛЫҒЫ ЖӘНЕ САНИТАРИЯЛЫҚ КӨРСЕТКІШТЕРІ	37
Жумагелдиев А.А., Тоқтасын Г., Турабеков М.Р., Қазтаева Б., Толымбекова А. АНИЗАКИДОЗБЕНЗАҚЫМДАЛҒАН КӨКСЕРКЕНІҢ МАЙ ҚЫШҚЫЛДАРЫ МӨЛШЕРІ ЖӘНЕ ВЕТЕРИНАРИЯЛЫҚ САНИТАРИЯЛЫҚ БАҒАЛАУ	41
Инкарбеков Д.А., Асанжанова Н.Н., Кыдырбаев Ж.К., Нурпейсова А.С., Кожамкулов Е.М., Рыскельдинова Ш.Ж., Абитаев Р.Т. ҚҰС ТҰМАУЫНЫҢ H7N9 СУБТИПІНЕ ҚАРСЫ ВАКЦИНАЛАРДЫҢ ТҰРАҚТЫЛЫҒЫН БАҒАЛАУ	45
Кошембетов Ж.К., Нурабаев С.Ш., Наханова Г.Д., Матвеева В.М. А ТИПТІ ТҰМАУ ВИРУСЫНЫҢ NIBRG-121 XP (H1N1) ШТАММЫНЫҢ НЕГІЗІНДЕ ИФТ ҚОЮ ШАРТТАРЫН ОҢТАЙЛАНДЫРУ	47
Мырзахметова Б.Ш., Кутумбетов Л.Б., Наханов А.К. КҮРКЕТАУЫҚ ГЕРПЕС ВИРУСЫН ӨНДІРУГЕ АРНАЛҒАН ТАУЫҚ ЭМБРИОНДАРЫ ФИБРОБЛАСТТАРЫН ӨСІРУ	54
Мырзахметова Б.Ш., Наханов А.К., Жаппарова Г.А., Есимова Г.У., Жолдыбаева Б., Мараховская Л.Г. ҚОЗЫ ТЕСТИКУЛАСЫНЫҢ ДИПЛОИДТТЫ ЖАСУШАСЫН АЛУ, СУРЫПТАУ ЖӘНЕ КАРИОЛОГИЯЛЫҚ СИПАТТАМАСЫ	58
Орынбаев М.Б., Рыстаева Р.А., Омарова З.Д., Керимбаев А.А., Сарсенбаева Г.Ж., Копеев С.К., Наханов А.К., Строчков В.М., Сұлтанкулова К.Т. ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНДАҒЫ КЕНЕЛЕРДЕН SOXIELLA BURNETII БӨЛІП АЛУ	62
Сенгирбаева М.М., Алмежанова М.Д., Түменбаева Н.Т., Тлепов А.А. ЖАМБЫЛ ОБЛЫСЫНДАҒЫ БРУЦЕЛЛЕЗ АУРУЫНЫҢ ЭПИЗООТОЛОГИЯЛЫҚ ЖАҒДАЙЫ	68
Тоғанаев Ж.Қ., Қалаубаев А.М., Әбутәліп Ә., Адамбаева А., Айтқұлова А. ТҮРКІСТАН ОБЛЫСЫНДАҒЫ СОҒҒЫ ЖЫЛДАРДАҒЫ БРУЦЕЛЛЕЗ АУРУЫНАН ИНДЕТТІК ЖАҒДАЙ	71

БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАУІПСІЗДІК ПЕН БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚОРҒАУ

Кайсенов Д.Н., Алиева А.Б., Әділ Т.С., Божбанбаева М.М., Баракбаев К.Б. ҚҰС ТҰМАУЫ ИНФЕКЦИЯСЫН ЖҰҚТЫРУ ҚАУІПІ БАР, ЖЕКЕ ҚҰРАМДАРДА ЖӘНЕ АҢШЫЛЫҚ ЖҮРГІЗУДЕ ҚҰСТАРДЫ ҰСТАУ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІН ЗЕРТТЕУ	77
---	----

МОЛЕКУЛАЛЫҚ БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ГЕНДІК ИНЖЕНЕРИЯ

Алмежанова М.Д., Шораева К.А., Мухами Н.Н., Түменбаева Н.Т., Бурашев Е.Д., Султанкулова К.Т. МҮЙІЗДІ ІРІ ҚАРАНЫҢ ТҮЙІНДІ ДЕРМАТИТІН ПТРӘДІСІМЕН ЗЕРТХАНАЛЫҚ БАЛАУҒА АРНАЛҒАН СЫНАҚ ЖҮЙЕСІНІҢ ӨНДІРІСТІК ТЕХНОЛОГИЯСЫН СЫНАУ ЖӘНЕ ТӘЖІРИБЕЛІК-ӨНДІРІСТІК СЕРИЯСЫН ТЕКСЕРУ	79
--	----

Исабек А.У., Червякова О.В., Садикалиева С.О., Султанкулова К.Т. АУСЫЛ ВИРУСЫНЫҢ ЗА РЕКОМБИНАНТТЫ АҚУЫЗЫН E.COLI ЭКСПРЕССИЯСЫ	85
---	----

ФИТОСАНИТАРИЯ

Рсалиев А.С., Пахратдинова Ж.У., Ысқақова Г.Ш. МОЛЕКУЛАЛЫҚ-ГЕНЕТИКАЛЫҚ СКРИНИНГ КӨРСЕТКІШТЕРІНДЕ, АРПАНЫҢ ТЕҢБІЛДАҚ ЖӘНЕ АҚ ҰНТАҚҚА ТӨЗІМДІЛІГІН АНЫҚТАУ	89
--	----

Нурпейсова А.С. бас ғалым хатшы, ветеринария ғылымдарының магистрі ИНСТИТУТ ЖЕТІСТІКТЕРІ	94
Касенов М.М., БҚПҒЗИ бас директорының өндірістік қызмет жөніндегі орынбасарының м.а. САТУҒА ДАЙЫН БІЗДІҢ ӨНІМДЕРІМІЗ 97 ЖУРНАЛДА ЖАРИЯЛАУ ҮШІН ҒЫЛЫМИ МАҚАЛАЛАРҒА ҚОЙЫЛАТЫН ТАЛАПТАР	99

СОДЕРЖАНИЕ

Дауленов М.М., Вице-министр образования и науки Республики Казахстан ПОЗДРАВЛЕНИЕ	5
Закарья К.Д., главный редактор журнала, Генеральный директор НИИПББ ПРЕДИСЛОВИЕ	6
Абдураимов Е.О., заместитель главного редактора журнала, заместитель генерального директора НИИПББ по науке и коммерциализации ИСТОРИЯ РАЗВИТИЯ ИНСТИТУТА	7

ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

Бурабаев Б.К., Джекебеков К.К., Уланкызы А., Джалдыбаева А.Е., Умуралиев Б.К. УПРАВЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИМИ РИСКАМИ В НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОМ ИНСТИТУТЕ ПРОБЛЕМ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ	10
---	----

ВЕТЕРИНАРИЯ

Абуталип А., Мырзалиев А.Ж., Түсіпқанұлы О., Қыдырова Г. ЭФФЕКТИВНОСТЬ РСК ПРИ ДИАГНОСТИКЕ БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ	12
Азанбекова М.А., Абсатова Ж.С., Кенжебаева М.К., Мамбеталиев М., Кутумбетов Л.Б., Жугунисов К.Д. ПОДБОР СТАБИЛИЗИРУЮЩИХ КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ ВИРУСА НОДУЛЯРНОГО ДЕРМАТИТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В УСЛОВИЯХ ЛАБОРАТОРИИ	16
Алиева А.Б., Кайсенов Д.Н., Далбаев Н.К., Әділ Т.С., Божбанбаева М.М., Баракбаев К.Б. ВЫБОР СТАБИЛИЗИРУЮЩЕЙ СРЕДЫ ДЛЯ ЛИОФИЛИЗАЦИИ И ХРАНЕНИЯ PASTEURELLA MULTOCIDA ARO/A	22
Аманова Ж.Т., Жугунисов К.Д., Кондибаева Ж.Б., Шаяхметов Е.А., Булатов Е.А. ОЦЕНКА БЕЗВРЕДНОСТИ И ИММУНОГЕННОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ОСПЫ ОВЕЦ	25
Ермагамбетова С.Е., Ибажанова А.С., Амангельды К. ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ МОРФОЛОГИЯ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ЯГНЯТ	29
Еспембетов Б.А., Зинина Н.Н., Сармыкова М.К., Сырым Н.С., Червякова О.В. РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ STREPTOCOCCUS EQUI, ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ЖЕРЕБЕНКА	34
Жумагелдиев А.А., Мәтен Т., Қазтаева Б.К., Толымбекова А.А., Байбулатова Ж.Б. ПИЩЕВАЯ ЦЕННОСТЬ И САНИТАРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЯСА ГОРНОЙ ИНДЕЙКИ (УЛАР)	37
Жумагелдиев А.А., Тоқтасын Г., Турабеков М.Р., Қазтаева Б., Толымбекова А. ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНАЯ ОЦЕНКА И СОДЕРЖАНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ СУДАКА, ПОРАЖЕННОГО АНИЗАКИДОЗОМ	41
Инкарбеков Д.А., Асанжанова Н.Н., Кыдырбаев Ж.К., Нурпейсова А.С., Кожамкулов Е.М., Рыскельдинова Ш.Ж., Абитаев Р.Т. ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ ВАКЦИН ПРОТИВ ГРИППА ПТИЦ СУБТИПА H7N9	45
Кошембетов Ж.К., Нурабаев С.Ш., Наханова Г.Д., Матвеева В.М. ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ПОСТАНОВКИ ИФА НА ОСНОВЕ ШТАММА NIBRG-121 XP (H1N1) ВИРУСА ГРИППА ТИПА А	47
Мырзахметова Б.Ш., Кутумбетов Л.Б., Наханов А.К. КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ФИБРОБЛАСТОВ КУРИНЫХ ЭМБРИОНОВ ДЛЯ ПРОДУКЦИИ ВИРУСА ГЕРПЕСА ИНДЕЕК	54
Мырзахметова Б.Ш., Наханов А.К., Жаппарова Г.А., Есимова Г.У., Жолдыбаева Б., Мараховская Л.Г. ПОЛУЧЕНИЕ, СЕЛЕКЦИЯ И КАРИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИПЛОИДНОЙ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ТЕСТИКУЛ ЯГНЕНКА	58
Орынбаев М.Б., Рыстаева Р.А., Омарова З.Д., Керимбаев А.А., Сарсенбаева Г.Ж., Копеев С.К., Наханов А.К., Строчков В.М., Султанкулова К.Т. ВЫДЕЛЕНИЕ SOXIELLA BURNETII ИЗ КЛЕЩЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН	62
Сенгирбаева М.М., Алмежанова М.Д., Туменбаева Н.Т., Тлепов А.А. ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО БРУЦЕЛЛЕЗУ В ЖАМБЫЛСКОЙ ОБЛАСТИ	68

Тоганаев Ж.К., Калаубаев А.М., Абуталип А., Адамбаева А., Айткулова А. ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО БРУЦЕЛЛЕЗУ В ТУРКЕСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ ЗА ПОСЛЕДНИЕ ГОДЫ	71
--	----

БИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ И БИОЗАЩИТА

Кайсенов Д.Н., Алиева А.Б., Әділ Т.С., Божбанбаева М.М., Баракбаев К.Б. ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ СОДЕРЖАНИЯ ПТИЦ В ЛИЧНЫХ ПОДВОРЬЯХ И ПРОВЕДЕНИЯ ОХОТЫ, СОПРЯЖЕННЫХ С РИСКОМ ИНФИЦИРОВАНИЯ ГРИППОМ ПТИЦ	77
--	----

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

Алмежанова М.Д., Шораева К.А., Мухами Н.Н., Туменбаева Н.Т., Бурашев Е.Д., Султанкулова К.Т. ИСПЫТАНИЯ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА И ПРОВЕРКА ОПЫТНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СЕРИИ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ НОДУЛЯРНОГО ДЕРМАТИТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА МЕТОДОМ ПЦР	79
Исабек А.У., Червякова О.В., Садикалиева С.О., Султанкулова К.Т. ЭКСПРЕССИЯ ВЕ.COLI РЕКОМБИНАНТНОГО ЗА БЕЛКА ВИРУСА ЯЩУРА	85

ФИТОСАНИТАРИЯ

Рсалиев А.С., Пахратдинова Ж.У., Ыскакова Г.Ш. МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ СОРТООБРАЗЦОВ ЯЧМЕНЯ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДОНОРОВ УСТОЙЧИВОСТИ К СЕТЧАТОЙ ПЯТНИСТОСТИ И МУЧНИСТОЙ РОСЕ	89
Нурпейсова А.С. Главный ученый секретарь, магистр ветеринарных наук ДОСТИЖЕНИЯ ИНСТИТУТА	94
Касенов М.М., и. о. заместителя генерального директора НИИПББ по производственной деятельности НАШИ ПРОДУКЦИИ, ГОТОВЫЕ К РЕАЛИЗАЦИИ	97
ТРЕБОВАНИЯ К АВТОРАМ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В ЖУРНАЛЕ	99

CONTENTS

Daulenov M.M., Vice Minister of Education and Science Republic of Kazakhstan CONGRATULATION	5
Zakarya K.D., Editor in chief, RIBSP General Director PREFACE	6
Abduraimov Ye.O., Deputy editor-in-chief, Deputy Director General for Science and Commercialization THE HISTORY OF THE INSTITUTE	7

REVIEW ARTICLE

Burabayev B.K., Dzhekebekov K.K., Ulankyzy A., Dzhaldybayeva A.E., Umuraliyev B.K. BIOLOGICAL RISK MANAGEMENT AT THE RESEARCH INSTITUTE FOR BIOLOGICAL SAFETY PROBLEMS	10
--	----

VETERINARY MEDICINE

Azanbekova M., Absatova Zh., Kenzhebayeva M., Mambetaliyev M., Kutumbetov L., Zhygunissov K. SELECTION OF STABILIZING COMPONENTS FOR THE CONSERVATION OF THE LYMPY SKIN DISEASE VIRUS IN THE LABORATORY CONDITIONS	16
Aliyeva A.B., Kaisenov D.N., Dalbayev N.K., Adil T.S., Bozhbanbayeva M.M., Barakbayev K.B. SELECTION OF STABILIZING MEDIUM FOR LYOPHILIZATION AND STORAGE OF PASTEURELLA MULTOCIDA ARO/A	22
Amanova Zh.T., Zhugunisov K.D., Kondibayeva Zh.B., Shayakhmetov E.A., Bulatov E.A. ASSESSMENT OF SAFETY AND IMMUNOGENITY OF AN EXPERIMENTAL VACCINE AGAINST SHEEP POX	25
Ermagambetova S.E., Ibazhanova A.S., Amangeldy K. PATHOLOGICAL MORPHOLOGY OF SALMONELLOSIS IN LAMBS	29
Espembetov B.A., Zinina N.N., Sarmyikova M.K., Syrym N.S., Chervyakova O.V. RESULTS OF STUDY OF EPIZOOTIC CULTURE OF STREPTOCOCCUS EQUI ISOLATED FROM THE PATHOLOGICAL MATERIAL OF YOUNG HORSE	34
Zhumageldiev A.A., Maten T., Kasteeva B.K., Tolymbekova A.A., Baibulatova Zh.B. NUTRITIONAL VALUE AND HEALTH INDICATORS OF MOUNTAIN TURKEY MEAT (ULAR)	37
Zhumageldiyev A.A., Toktasyn G., Turabekov M.R., Kaztaeva B., Tolymbekova A. VETERINARY AND SANITARY ASSESSMENT AND CONTENT OF FATTY ACIDS OF WALLEYE AFFECTED BY ANISAKIDOSIS	41
Inkarbekov D.A., Assanzhanova N.N., Kydyrbayev Zh.K., Nurpeisova A.S., Kozhamkulov Y.M., Ryskeldinova S.Zh., Abitayev R.T. ASSESSMENT OF THE STABILITY OF VACCINES AGAINST AVIAN INFLUENZA SUBTYPE H7N9	45
Koshemetov Zh.K., Nurabayev S.Sh., Naganawa G.D., Matveyeva V.M. OPTIMIZATION OF CONDITIONS FOR SETTING ELISA BASED ON THE NIBRG-121 XP (H1N1) STRAIN OF THE INFLUENZA A VIRUS	47
Myrzakhmetova B.Sh., Kutumbetov L.B., Nakhanov A.K. CULTIVATION OF FIBROBLASTS OF CHICKEN EMBRYOS FOR PRODUCTION OF TURKEY VIRUS HERPES VIRUS	54

Myrzakhmetova B.Sh., Nakhanov A.K., Zhapparova G.A., Yessimova G.U., Zholdybaeva B., Marakhovskaya L.G. OBTAINING, SELECTION AND KARIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF DIPLOID CULTURE OF CELLS LAMB TESTICLES	58
Orynbaev M.B., Rystaeva R.A., Omarova Z.D., Kerimbaev A.A., Sarsenbayeva G.Zh., Kopeev S.K., Nakhanov A.K., Stochkov V.M., Sultankulova K.T. ISOLATION OF COXIELLA BURNETII FROM MITS IN THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN	62
Sengirbayev M.M., Almezhanova M.D., Tumenbayeva N.T., Tlepov A.A. EPIZOOTOLOGICAL SITUATION ON BRUCELLOSIS IN THE ZHAMBYL REGION	68
Toganaev Zh.K., Kalaubaev A.M., Abutalip A., Adambaeva A., Aitkulova A. EPIZOOTIC SITUATION OF BRUCELLOSIS IN THE TURKESTAN REGION IN RECENT YEARS	71

BIOLOGICAL SAFETY AND BIOSECURITY

Kaisenov D.N., Aliyeva A.B., Adil T.S., Bozhbanbayeva M.M., Barakbayev K.B. STUDY OF THE CHARACTERISTICS OF BIRD CONTENT IN PERSONAL PLANTS AND HUNTING ASSOCIATED WITH THE RISK INFECTION WITH AVIAN INFLUENZA	77
--	----

MOLECULAR BIOLOGY AND GENETIC ENGINEERING

Almezhanova M.D., Shorayeva R.A., Mukhami N.N., Tumenbayeva N.T., Burashev E.D., Sultankulova K.T. TESTS OF PRODUCTION TECHNOLOGY AND CONTROL OF THE EXPERIMENTAL AND PRODUCTION SERIES OF TEST-SYSTEMS FOR LABORATORY DIAGNOSTICS OF LUMPY SKIN DISEASE OF CATTLE BY PCR	79
Isabek A.U., Chervyakova O.V., Sadikaliyeva S.O., Sultankulova K.T. EXPRESSION IN E.COLI OF RECOMBINANT 3A PROTEIN OF FOOT AND MOUTH DISEASE VIRUS	85

PHYTOSANITARY

Rsaliev A.S., Pahratdinova Zh.U., Yskakova G.Sh. MOLECULAR GENETIC SCREENING OF BARLEY VARIETIES FOR THE DETECTION OF RESISTANCE DONORS TO NET BLITCH AND POWDERY MILDEW	89
---	----

Nurpeisova A.S., Chief Scientific Secretary, Master of Veterinary Sciences INSTITUTE'S ACHIEVEMENTS	94
Kassenov M.M., Acting Deputy Director General for Production Activity OUR PRODUCTION FOR REALIZATION	97
AUTHOR INSTRUCTIONS TO THE JOURNAL	99

ДОРОГИЕ ДРУЗЬЯ! УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!

Познание мира, раскрытие тайн природы во все времена будоражили людей, но лишь немногие смогли выбрать исследовательскую и научную деятельность – тернистый путь первооткрывателей законов материи и самой жизни.

С учётом опыта отечественной и мировой науки могу предположить, что во многом ярчайшие события в мировой истории определялись развитием технического прогресса, созданием научных школ, участием государства в научной деятельности страны. Как следствие, формировались новые социальные уклады, рождалась оригинальная научная мысль, задающая новаторские направления в науке и целом развитии страны. Именно учёные находили оптимальные решения во времена кризисов в сложнейших вопросах межгосударственных отношений, рассказывали о прошлом, меняли настоящее и заглядывали в будущее человечества.

Сегодня казахстанская наука имеет высокий потенциал роста. Уверен, главным конкурентным преимуществом национальной экономики должны стать высокообразованные специалисты, новые знания и благоприятная атмосфера научного творчества.

Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» Комитета науки Министерства науки и образования Республики Казахстан (далее – Институт), с первых дней создания и до настоящего времени, проводит успешные научно-изыскательные работы в разрешении государственных задач – обеспечение биологической безопасности республики. Институт является ведущим научным центром республики в области биологической безопасности, медицинской и ветеринарной вирусологии, иммунологии, молекулярной биологии, микологии и фитопатологии, имеющий базу, позволяющую проводить исследования и производить биопрепараты на современном уровне.

Уровень научных исследований и достижения Института известны как у нас в стране, так и за рубежом. Институт активно сотрудничает с международными организациями, среди которых Всемирная организация по охране здоровья животных, Всемирная организация здравоохранения, Агентство по уменьшению угрозы МО США, Международный научно-технический центр, Американское Агентство гражданских исследований и др., налажены научные связи с ведущими научными центрами России, Австрии, Германии и других стран. Институт осуществляет фундаментальные и прикладные научные исследования в области научного, технического и методологического обеспечения биологической безопасности страны и биотехнологии.

Всех, кто трудится в сфере науки, хочу поблагодарить за неугасающую преданность делу, без которой невозможно движение вперёд. Примите мои искренние пожелания успехов в вашей нелёгкой работе.

Поздравляю Институт с выпуском научного журнала «Биобезопасность и Биотехнология» и надеюсь журнал будет площадкой обсуждения интересных научных результатов и полем обмена современными научно-практическими информацией.

Итак, впереди новое плавание, новые замыслы, новые открытия и новые научные результаты.

Желаю редакции и творческому коллективу журнала вдохновения, оптимизма и новых вершин! А читателям – радости общения с научным журналом.

В добрый путь!!!

С искренними пожеланиями,
Вице-министр образования и науки
Республики Казахстан
ДАУЛЕНОВ М.М.

УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!

Перед Вами первый номер научного журнала «Биобезопасность и Биотехнология» Республиканского государственного предприятия «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан. В журнале будут освещены научно-практические вопросы по следующим направлениям науки – ветеринарии, медицины, биотехнологии, биологической безопасности и биозащиты, молекулярной биологии, генной инженерии и фитосанитарии.

В последние десятилетия сильное развитие и прогресс в биотехнологии требуют строго соблюдения требований биологической безопасности, которые тесно взаимосвязаны, изучение вопросов взаимодействия этих областей являются актуальными на сегодняшний день.

Биотехнологическая отрасль в мире показывает ежегодный подъем в ведущих странах до 20 %. С развитием биотехнологии соблюдение требований биологической безопасности является основным требованием не только для персонала, но и выпускаемых препаратов. В основе практики биобезопасности лежит оценка рисков каждого этапа научно-экспериментальных исследований. Также необходимо отметить, что проблемы биологической безопасности и сохранения биоразнообразия выходят за рамки науки на уровень государств и международных организаций.

Время летит стремительно, и человечество располагает колоссальной по объему и разнообразию информацией, по биотехнологии и биологической безопасности. В целом мы представляем свою задачу как необходимость структурировать современные научные данные и сделать их максимально доступными широкому кругу как зарубежных так и отечественных научно-практических работников. Научные дискуссии на страницах нашего журнала представляют возможность читателям вникать во все нюансы проблемы биобезопасности и биотехнологии, обсуждая совместно и принимать решения в данных областях науки. Привлечение к обсуждению широкого круга научных сотрудников и специалистов-практиков позволит добиться интеграции науки и производства в изучении вопросов биобезопасности и биотехнологии.

Одна из основных задач, которую ставит перед собой коллектив журнала – это профессиональные дискуссии для внесения вклада в динамичное развитие соответствующих направлений наук. Редакции журнала важно все – стиль, уровень публикации, актуальность затрагиваемой проблемы и цитирование.

Выражаю надежду, что к проблемам биобезопасности и биотехнологии проявят интерес и примут активное участие в работе журнала отечественные и зарубежные коллеги разных специальностей по направлениям науки, приведенным в журнале.

В добрый путь, друзья!

*С уважением, главный редактор,
доктор биологических наук, академик АЕН РК
ЗАКАРЬЯ К.Д.*

ИНСТИТУТ ТАРИХЫ

Институттың құрылу тарихы өткен ғасырдың 50-ші жылдарының аяғынан басталып, қалыптасуы мен дамуы тұрғысында екі кезеңнен тұрады. 1956 бастап 1991 жылдар аралығындағы «кеңестік» деп аталатын кезең және 1992 жылдан бастап қазіргі кезең.

КСРО АШМ Ауылшаруашылық ғылыми-зерттеу институты» (АШҒЗИ) КОКП ОК мен КСРО Министрлер Кеңесінің 1958 жылғы 7 тамыздағы Қаулысымен және КСРО Ауылшаруашылығы министрі В. Мацкевичтің 1958 жылғы 18 қыркүйектегі №253 бұйрығымен екі зертхананың негізінде, яғни Бүкілодақтық өсімдікті қорғау институтының ғылыми-сынау станциясы және КСРО АШМ Ветеринариялық ғылыми-зерттеу зертханасы негізінде құрылған.

АШҒЗИ-ын құрудағы негізгі алғышарт – КСРО оңтүстігіндегі шекараларды, оның ішінде Орта Азия аймақтары мен Қазақстанды шекаралас мемлекеттерден енуі мүмкін ауылшаруашылығы және жабайы жануарлардың аса қауіпті ауруларынан қорғау қажеттігі болды.

АШҒЗИ-ын ұйымдастыру тарихы, негізі, кейінгі жылы АШҒЗИ бірінші директоры болып тағайындалған, ветеринария ғылымдарының кандидаты **Мадатов Рубен Иванович** Ветеринариялық ғылыми-зерттеу институтының директорының міндетін атқарушы болып тағайындалуы туралы 1957 жылғы 6 қыркүйектегі № 1 бұйрықтан басталады.



Осы лауазымда Р.И. Мадатов азғана (1958-1960 жылдар) бірақ өте маңызды жылдары, институттың зертханалық корпусы мен тұрғын қалашықтың қалануы мен құрылысы кезеңінде жұмыс атқарды.

Кейінгі жылдары Ауылшаруашылық ғылыми-зерттеу институтының ұжымын полковник, ветеринария ғылымдарының докторы, профессор **Степан Трофимович Рягин** (1960-1964 жж), ветеринария ғылымдарының докторы, профессор **Александр Николаевич Бурдов** (1964-1972 жж), ветеринария ғылымдарының докторы, профессор **Александр Семёнович Гринин** (1972-1977 жж), биология ғылымдарының докторы, профессор **Фёдор Петрович**

Курченко (1977-1988 жж), ветеринария ғылымдарының докторы, профессор **Анатолий Алексеевич Гусев** (1988-1992 жж), ветеринария ғылымдарының докторы, профессор **Сейдиғанбар Мамадалиевич Мамадалиев** (1992-2010 жж), ветеринария ғылымдарының докторы, профессор, ҚР АШҒА академигі **Абылай Рысбайұлы Сансызбай** (2010-2018 жж) сияқты тәжірибелі ғалымдар басқарды.

2018 жылдың 12 желтоқсанынан бастап ҚР Білім және ғылым министрлігі Ғылым комитетінің №111-бұйрығымен биология ғылымдарының докторы, ЖҒА академигі **Күнсұлу Дальтонқызы Закарья** бас директор болып тағайындалды.

Ғылыми қызметінің алғашқы күндерінен бастап ұжым ветеринариялық вирусология және ауылшаруашылық фитопатология салаларындағы күрделі мәселелерді шешуге кірісіп кетті. Ғылыми-зерттеу жұмыстарының бағыттылығы мақсатты зертханалар мен ветеринария («В» секторы) және өсімдіктану («Р» секторы, орысша «растениеводство» сөзінен) секторларын түзуді талап етті.



*Институт аумағындағы
әкімшілік және
зертханалық
ғимараттардың
орналасуы, 1966 жыл*

АШҒЗИ ұжымы жұмысының бастапқы кезеңі инженерлік кадрларды тарту қиыншылықтарымен, жабдықтар мен реагенттермен жеткілікті түрде қамтамасыз етілмеумен және тұрғын үй жеткіліксіздігімен байланысты болды. Келесі жылдары тұрғын үй құрылысы қарқынды жүргізіліп, 1966 жылы аяқталды. Тұрғын үйлерден бөлек, қалашықта поликлиника, бала бақша, мектеп, мәдениет үйі, дүкендер, пошта мен қазандық (котельная) салынды. Нақты айтқанда, әлеуметтік-тұрмыстық инфрақұрылымы бар біртұтас ғылыми қалашық, сонымен қатар, сол уақыттағы биологиялық қауіпсіздікке қойылатын талаптардың барлығына сай келетін мекеме салынды. Институт аумағы тәулік бойы КСРО ІІМ-інің жеке взводымен күзетілді. Онан кейін, 1970 жылдардың басында, өзге республикалардан әскери бөлімдерді қалашыққа орналастыру басталып, кенттің бақылануы мен тіршілігінің қамтамасыз етілуі КСРО-ның, кейін Қазақстан Республикасының Қорғаныс министрілігіне берілді.

Құрылымы бойынша АШҒЗИ өзіне қойылған міндеттерді өз бетінше орындауға мүмкіндігі бар толықтай дербес ұйым болып табылды. Жоғары білікті ғылыми кадрлармен қамтамасыз ету мақсатында АШҒЗИ-ына

мақсатты және жоспарлы түрде КСРО жетекші ЖОО-ынан жас мамандар жіберілді. Көбінше олар Мәскеу ветеринариялық академиясының, Воронеж университетінің, С.М. Киров атындағы Қазақ мемлекеттік университетінің, Алматы зооветеринариялық институтының түлектері, сонымен қатар, КСРО-ның басқа да ғылыми-зерттеу институттарының мамандары болатын.

Алғашқылардың бірі болып институтқа (1958 ж.) кіші ғылыми қызметкер лауазымдарына Афанасьев П.Д., Лукьянова З.М., аға зертханашы лауазымдарына – Литвинова В.П., Карасёва Е.М., зертханашы-дәрігер Карасёв В.П. қабылданды. 1959 жылы АШҒЗИ-ында жұмыс атқаруға Кирюхин Р.А., Ануфриев А.И., Дегтяренко Н.Л., Кекух И.Г., Кекух В.Г., Павлов Н.И., Павлова Л.И. келді. 1960 жылы Хандуев Ц.Ц. АШҒЗИ-ына бағыттанып, зертханалардың бірін басқарды, кейін директордың ғылыми жұмыс жөніндегі орынбасары лауазымына тағайындалды. 1961 жылы Мәскеу ЖОО-дарынан, кейін келе институттың ғылыми жетістіктеріне елеулі үлесін қосқан Иванющенко В.Н., Иванющенко И.В., Фигура (Быкова) Л.А., Башаев В.В. сияқты мамандардың тобы келді. Қазақстандық жоғарғы оқу орындары арасынан 1964 жылы ҚазМУ-дан Зайцев В.Л. және 1965 жылы Титов И.Н. шақырылды.



*Институт ұжымымен бірге
Ф.П. Курченко АШҒЗИ-н жаңа
директор А.А. Гусевке тапсырғаннан
кейін. Ортада Ф.П. Курченко, Г.И.
Кобыльский, Г. Кобыльская, Б.Г.
Оксененко, Е.Н. Троицкий, Г.С. Туров,
А.Ф. Алехин, Е.Г. Башаева, Л.Н.
Пасечников, Г.Н. Куликова, сол жағында
Ш.К. Куляшбекова, Л.А. Копа, М.Н.
Васецкая, Л.И. Павлова, Н.И. Марченко,
В.А. Копа, В.И. Приходько, Ю.М.
Гононов, А.И. Благарь, А.В. Бочарников,
оң жағында: В.И. Кекух, Г.М. Семёнова,
В.Л. Зайцев, В.А. Борисов, М.Г.
Лохматов, В.В. Башаев, А.Ф. Савинков,
Н.И. Павлов және басқа қызметкерлер,
1989 жыл*

Совет Дәірінде Институт КСРО АШМ құрамында болды. Кеңес одағының күйреуі мен ғылыми кадрлардың кетуі АШҒЗИ-ының қызметіне өзгерістер енгізіп, институттың дамуының екінші кезеңіне жол берді. Жаңа тапсырмалар мен зерттеулердің бағыттары институт ғалымдары үшін жаңа мақсаттарға алып келді.

Осы қиын кезеңде институт директоры болып ветеринария ғылымдарының кандидаты С.М. Мамадалиев тағайындалды. Ол, институтты сақтап қалу үшін бар күшін салды. Институт басшысы ретінде С.М. Мамадалиев ерекше ұйымдастырушылық қабілетін көрсетті. Қаражатты қатаң үнемдеу және жаңа саяси-экономикалық жағдай шарттарында институттың тіршілік етуінің аса қиын кезеңінде ол қалған ғылыми қызметкерлерді сақтап қана қоймай, жас мамандармен толықтырып, оның жемісті жұмысын қамтамасыз етті. Институттың ғылыми бағыттары мен мақсаттары бұрынғы қалпында қалды. Осы кезеңде ветеринариялық тәжірибеге арналған биопрепараттар өндірісінің технологияларын жетілдіру бойынша жұмыстар аса маңызға ие болды.

Кеңес Одағының тарауынан кейін институт Қазақстан Республикасының АШМ Бас Ветеринария басқармасына қайта бағындырылды. 2006 жылдың 7 тамызынан бастап аталуы Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты (БҚПҒЗИ) болып ауыстырылып, ҚР БҒМ Ұлттық биотехнология орталығының (ҰБО) Еншілес мемлекеттік кәсіпорыны болып белгіленді. БҚПҒЗИ (бұрынғы АШҒЗИ) құрылуы мен қалыптасуының вирусологиялық ғылыми орталық ретіндегі тарихы ветеринариялық вирусология, ветеринария, биотехнология және биология салаларындағы көрнекті ғалымдардың аттарымен байланысты. Институттың құрылуына, қалыптасуына және дамуына көрнекті ғалым және ғылымды ұйымдастырушы В.И. Огарков, А.А. Воробьев, И.А. Бакулов, сондай-ақ, еңбек сіңірген ғылым қайраткерлері ветеринария ғылымдарының докторы, профессор В.Н. Сюрин; КСРО ҒЗЖТӨМ Бас Басқармасының бастығы М.А. Худяков; вет. ғылымдарының докторы, профессор С.Т. Рягин; вет. ғылымдарының докторы, профессор, Қырғыз ҰҒА корр-мүшесі Ц.Ц. Хандуев; вет. ғылымдарының докторы, профессор А.Н. Бурдов; вет. ғылымдарының докторы, профессор А.С. Гринин; биол. ғылымдарының докторы, профессор Ф.П. Курченко; вет. ғылымдарының докторы, профессор А.И. Ануфриев; вет. ғылымдарының докторы, профессор В.Н. Иванющенко; вет. ғылымдарының докторы, профессор А.А. Гусев; вет. ғылымдарының докторы, профессор С.М. Мамадалиев; ғылым кандидаттары А.И. Шурыгин, П.Д. Афанасьев, Р.А.

Кирюхин, В.В. Башаев, Ю.М. Гононов, К.Б. Битаев, Б.К. Сейткасымов, В.А. Копа, Л.Н. Пасечников, Зайцев В.Л., Мамбеталиев М.А., Кыдырбаев Ж. үлкен үлестерін қосты.

1992 жылға дейін, АШҒЗИ, КСРО АШМ-інің, аурулардың қоздырғышын зерделеу, аса қауіпті вирустық инфекцияларға балама жасау мен олардың спецификалық тұрғыда алдын алудың құралдары мен әдістерін әзірлеу бойынша бағдарламаларды орындаушы кеңестік ғылыми-зерттеу кешенінің құрамдас бөлігі болып келді.

Қазіргі уақытта институт, республикамыздың, ветеринариялық вирусология, иммунология, молекулалық биология, микология, фитопатология және биологиялық қауіпсіздік саласында, гендік инженерия және биотехнология әдістері арқылы биологиялық препараттардың жаңа буынын жасау бойынша зерттеулер жүргізуге мүмкіндік беретін тәжірибелік базасы бар ірі ғылыми орталықтарының бірі болып табылады. Жасушалық биотехнология әзірлеу бойынша медициналық мақсаттағы емдік-терапевтикалық препараттарды жасап шығаруға мүмкіндік беретін зерттеулер жүргізілуде.



Үкімет қаулысына сәйкес 2000 жылдан бастап институтқа Қазақстан Республикасының күзетілуші нысаны мәртебесі берілген. Институт құрылымына 12 ғылыми-зерттеу зертханалары, технологиялық, ғылыми-ақпараттық, инженерлік-техникалық және әкімшілік-шаруашылық бөлімдер кіреді. Институтта медициналық және ветеринариялық вирусология, биологиялық қауіпсіздік, эпизоотология, иммунология, молекулалық биология, биохимия, биотехнология, микробиология және фитопатология жөніндегі мамандар жұмыс атқарады.

1992 жылдан бастап институт 12 ғылыми-техникалық бағдарламаны, 200-ден астам ғылыми жобаны, оның ішінде 18 халықаралық жобаны,

«Технологияларды коммерцияландыру» бағдарламасы бойынша 3 жобаны жүзеге асырды. Институттың микроағзалар коллекциясы Дүниежүзілік өсімдер коллекциясы Федерациясының (WFCC – World Federation for Culture Collection) мүшесі болып табылады. Институт ғалымдары 70-тен астам вакцина, қан сарысуы, диагностикалық тест-жүйелерді әзірлеп, тәжірибеге енгізді. Вакциналар, қан сарысулары, диагностикумдар және т.б. биопрепараттарды дайындау технологиясына өнертабысқа 110-нан астам патент алынды.

***Бас директордың ғылым және
коммерцияландыру жөніндегі орынбасары,
ветеринария ғылымдарының докторы
ӘБДІРАИМОВ Е.О.***

УДК 613.6:616-9

Б.К. Бурабаев, К.К. Джекебеков, А. Уланкызы,
А.Е. Джалдыбаева, Б.К. Умуралиев

*РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической
безопасности» КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Казахстан
E-mail: unots@biosafety.kz*

УПРАВЛЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИМИ РИСКАМИ В НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОМ ИНСТИТУТЕ ПРОБЛЕМ БИОЛОГИЧЕСКОЙ БЕЗОПАСНОСТИ

Аннотация. В данной статье представлены внедрение работ по управлению биологическими рисками отдела биологической и санитарной безопасности, по биобезопасности и биозащиты сотрудников института, система медико-санитарного контроля персонала. Разработаны стандартные формы протокола оценки биологических рисков работ с патогенами в лабораториях, в условиях ABSL.

Ключевые слова: биориск, биобезопасность, биозащита, биологический материал.

Б.К. Бурабаев, К.К. Джекебеков, А. Уланкызы,
А.Е. Джалдыбаева, Б.К. Умуралиев

*ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының
ғылыми-зерттеу институты» РМК, Гвардейский қтп., Қазақстан*

БИОЛГИЯЛЫҚ ҚАУІПСІЗДІК ПРОБЛЕМАЛАРЫНЫҢ ҒЫЛЫМИ-ЗЕРТТЕУ ИНСТИТУТЫНДА БИОЛГИЯЛЫҚ ҚАУІПТЕРДІ БАСҚАРУ

Аннотация. Бұл мақалада биологиялық және санитарлық қауіпсіздік бөлімінің биологиялық қауіптерді басқару, институт қызметкерлерінің биологиялық қауіпсіздігі және биоқорғану, қызметкерлердің денсаулығын бақылау жүйесі туралы жұмыстары енгізілген. ABSL жағдайында зертханаларда патогендермен жұмыс жасаудың биологиялық қауіптерін бағалаудың типтік формалары жасалынған.

Түйін сөздер: биоқауіп, биоқауіпсіздік, биоқорғаныс, биологиялық материал.

B.K. Burabayev, K.K. Dzhekebekov, A. Ulankyzy,
A.E. Dzhaldybayeva, B.K. Umuraliyev

RGE "Research Institute for Biological Safety Problems" CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan

BIOLOGICAL RISK MANAGEMENT AT THE RESEARCH INSTITUTE FOR BIOLOGICAL SAFETY PROBLEMS

Abstract. This article presents the introduction of work on biological risk management of the department of biosecurity and sanitary safety, biosafety and biosecurity of employees of the institute, a system of health monitoring of personnel. Standard forms of a protocol for assessing the biological risks of working with pathogens in laboratories under the conditions of ABSL have been developed.

Keywords: biorisk, biosafety, biosecurity, biological material.

Отдел биологической и санитарной безопасности обеспечивает разработку и утверждает политику управления лабораторными биорисками (вопросами биобезопасности и биозащиты в условиях лаборатории). Для этой цели сформулировано общие задачи по управлению биорисками и выражает свою готовность к улучшению показателей управления биорисками. Управление биорисками призвано предотвратить или свести к минимуму возможность контакта работника с вредными и опасными организмами и биоматериалами и распространение биологических агентов во внешнюю среду путем внедрения правил и методик безопасной работы в лаборатории и надлежащего исполнения работниками, обучаемыми, посетителями средств биоизоляции и биоизолированных помещений [1-4].

Во всех лабораториях и объектах, на которых ведутся научные работы с опасными биоматериалами, внедрена система обеспечения биобезопасности, разработана «Руководства по биологической безопасности» приведя в нем конкретные сведения для работников о нормативных требованиях, порядке и правилах работы, предусмотренных для выполнения научных исследований, стандартных операционных процедур (СОП) сопряженных с работой с возбудителями заболеваний.

Цель системы управления биорисками призвана на защиту персонала, посетителей, населения и окружающей среды от биологических агентов и токсинов, которые используются в работе или хранятся в лаборатории, снижена

риск непреднамеренной утечки биологических агентов и токсинов их воздействия. Снижена до приемлемого уровня риска несанкционированной преднамеренной утечки опасных биологических материалов, проведением оценки риска с принятием соответствующих мер контроля.

По опыту зарубежных коллег, нами разработана стандартная форма протокола оценки биологических рисков работ с патогенами в лабораториях, в условиях ABSL. Данная форма позволила оценить риски инфицирования персонала, связанные с оборудованием, инженерно-техническими характеристиками лаборатории, квалификацией персонала. Так же в протоколах учитываются характеристики патогена, и связанные с ними риски неконтролируемого распространения. Форма предназначена для выявления биологических рисков, определения мер по их снижению или устранению [5].

Соблюдаются законодательные требования, применяемых к тем биологическим агентам, которые используются в работе лабораториях. Эффективными просветительскими мероприятиями укрепляется отношение к нормам биобезопасности в среде научных работников, путем разъяснения о важности соблюдения этих норм для успешной научной и производственной работы так же выполнением требований СОП по биологической безопасности.

В институте сформулированы цели и намерения руководства организации. Определена иерархия должностных обязанностей в части передачи информации по вопросам биобезопасности это такие как: Требование по обучению персонала, функции и обязанности, порядок инспектирования, аттестация сотрудников, порядок расследования случаев, связанных нарушением правил биобезопасности. Особое внимание уделяется на протоколы оценки риска научных исследований, требования к порядку регистрации и учета возбудителей, выявляются и оцениваются факторы биологической опасности, которая держится под контролем, выполняется требования международные и Республиканские нормативно – правовые акты, регламентирующие вопросы биологической и лабораторной безопасности [6].

Руководствуясь документами по биобезопасности и биозащите в отделе Биологической и санитарной безопасности внедрена система, куда входят; система инженерно-технических средств биозащиты, система утилизации отходов, система химической безопасности, система инспекции и внутреннего аудита и план действий в чрезвычайных непредвиденных ситуациях.

Разработана и внедрена система медико-санитарного контроля персонала [7]. Данная система включает в себя следующие компоненты:

- Список диспансерного учета (данные о хронических соматических заболеваниях персонала, которые могут быть причиной медицинского отвода от участия в тех или иных научно-производственных работах). Список редактируется с учетом результатов регулярных профессиональных медицинских осмотров персонала Института;
- База данных вакцинации (данные о вакцинации, ревакцинации сотрудников, серологический мониторинг сотрудников).

Система медико-санитарного контроля позволила адекватно оценивать риски для персонала по каждому виду научно-производственной деятельности, подбирать наиболее приемлемые для того или иного вида работ средства индивидуальной защиты, планировать приобретение иммунопрофилактических препаратов.

Руководство института обеспечивает соблюдение положений нормативно-правовых документов (республиканских и международных) биологической безопасности. Направляет работу системы биобезопасности, обеспечивает её материально-технической и кадровой базой. Активизирует работу по созданию, внедрению и поддержанию деятельности надежной системы биобезопасности. Оценивает результативность и эффективность работы системы биобезопасности.

Важным моментом является совместная работа работниками службой охраны такие, как давать технические консультации для оценки риска по линии физической защиты и разработки режимных мер, совместно специалистами по биобезопасности разрабатываются режимные меры, создающие минимальные помехи ведению научных работ, консультативная помощь при разработке и периодической корректировке плана по физической защите, совместное проведение инструктажи и учения персонала (учебные тревоги и т.д.).

Отделом биологической и санитарной безопасности отслеживается появления новых международных стандартов биологической безопасности, внесения изменений в действующее законодательство и вступления в силу новых отечественных нормативных актов, регламентирующих требования и стандарты биологической безопасности, доведение данной информации до всех заинтересованных лиц.

ЛИТЕРАТУРА

1. Международный Стандарт по управлению лабораторными биорисками CWA15793:2008.
2. Biorisk management. Laboratory biosecurity guidance WHO/CDS/EPR/2006.6.
3. Практическое руководство по биологической безопасности в лабораторных условиях WHO/CDS/CSR/LYO/2004.11.
4. СанПиН № 684 «Санитарно-эпидемиологические требования к лабораториям, использующим потенциально опасные химические и биологические вещества» утвержденным приказом Министра здравоохранения Республики Казахстан от 8 сентября 2017 года.
5. Биобезопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях (BMBL 5-е издание, декабрь 2009), Центр контроля и профилактики заболеваний, США.
6. Руководство для практических работников 2012, «Внедрение системы управления рисками на опасных биологических объектах Казахстана».
7. Практическое руководство по биологической безопасности в лабораторных условиях (третье издание) Всемирной организации здравоохранения.

Ә. Әбутәліп¹, А.Ж. Мырзалиев¹, О. Түсіпқанұлы¹, Г. Қыдырова²¹Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты ЖШС, Алматы Қазақстан,²Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Алматы Қазақстан
aspen_vet@mail.ru, ahan75@mail.ru, oralkan85@mail.ru, gulzira_220184@mail.ru

ЖАНУАРЛАР БРУЦЕЛЛЕЗІН ҚБР БАЛАУ ТИІМДІЛІГІ

Аннотация. Жүргізілген жұмыстардың мақсаты микроөлшерде өткізілген комплементті байланыстыру реакциясының, оның классикалық нұсқасы және Розбенгал сыналасымен салыстырғандағы диагностикалық тиімділігін анықтау болып табылады. Зерттеулер көрсеткендей, микроөлшерде жүргізілген реакция телімділігі және сезімталдығы бойынша салыстырылған әдістерден кем түспейді. Реакция қою үшін үлкен штативтер мен пробиркалардың орнына микроплашкаларды пайдалану, зертханадағы жұмыс кеңістігін және реакцияға пайдаланылатын компоненттердің мөлшерін бірнеше рет азайтуға мүмкіндік береді. Сонымен қатар, жұмыста көлемі ауыстырылатын, бір және көп арналы автоматты пипеткаларды пайдалану зертхана қызметкерлердің еңбек өнімділігін және зерттеу көлемін арттыруға мүмкіндік береді. Бұл әдіс жануарларды бруцеллезге жаппай зерттеу үшін жарамды болып табылады.

Түйін сөздер: бруцеллез, диагностика, қан сарысуы, комплементті байланыстыру реакциясы.

А. Абуталип¹, А.Ж. Мырзалиев¹, О. Түсіпқанұлы¹, Г. Қыдырова²¹ТОО «Казахский научно исследовательский ветеринарный институт», Алматы, Казахстан²Казахский национальный аграрный университет, Алматы, Казахстан

ЭФФЕКТИВНОСТЬ РСК ПРИ ДИАГНОСТИКЕ БРУЦЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

Аннотация. Целью проведенных работ является определение сравнительной диагностической эффективности реакции связывания комплемента выполняемая в микрообъеме по сравнению с классическим вариантом этой реакции и Розбенгал пробы при бруцеллезе животных. Исследованиями установлено, что реакция проведенная в микрообъеме специфична и по чувствительности не уступает сравниваемым методам. Использование для постановки реакции микроплашек вместо больших штативов и пробирок позволяет в несколько раз уменьшить рабочее пространство, а также экономить количество компонентов используемых для реакции. Кроме того, использования в работе автоматических одно и многоканальных пипеток с переменным объемом дает возможность увеличить производительность труда лабораторных работников и объемы исследований. Этот метод приемлем для массового исследования животных на бруцеллез.

Ключевые слова: бруцеллез, диагностика, сыворотка крови, реакция связывания комплемента.

А. Abutalip¹, T.D. Murzaliev¹, T. Tysipkanuly¹, G. Kydyrova²¹Kazakh Research Veterinary Institute Ltd, Almaty Kazakhstan,²Kazakh National Agrarian University, Almaty Kazakhstan

EFFECTIVENESS OF CBR IN THE DIAGNOSIS OF ANIMAL BRUCELLOSIS

Abstract. The purpose of this work is to determine the comparative diagnostic effectiveness of the complement binding reaction performed in micro volume compared to the classical version of this reaction and Rosebengal samples in brucellosis of animals. Studies have shown that the reaction carried out in the micro volume is specific and the sensitivity is not inferior to the compared methods. Using micro-plates instead of large tripods and test tubes for setting the reaction allows you to reduce the working space several times, and also saves the number of components used for the reaction. In addition, the use of automatic single-and multi-channel pipettes with variable volume makes it possible to increase the productivity of laboratory workers and the volume of research. This method is acceptable for mass animal testing for brucellosis.

Keywords: brucellosis, diagnostics, blood serum, complement binding reaction.

Кіріспе. Зооантропонозды жұқпалы ауру – бруцеллез ҚР мал өсіретін шаруашылықтарында әлі күнге дейін жиі кездесіп, оларға зор экономикалық шығын келтіруде. Бруцеллезбен ауырған адам саны жөнінен республикамыз ТМД елдерінің ішінде алғашқы орындардың бірінде болғандықтан, бұл індетпен күрес үлкен әлеуметтік мәселе болып отыр [1]. Жануарлар бруцеллезімен күрестің негізгі бағыттарының бірі індет қоздырушысының бастауы болып табылатын ауруға шалдыққан немесе қоздырушы тасымалдаушы жануарларды тез арада, түгелдей анықтап, оқшаулап, жою болып табылады. Осы мақсатта жануарларды бруцеллезге жаппай тексеруге серологиялық реакциялар: Роз бенгал сыналасы (РБС) және комплементті байланыстыру реакциясы

(КБР) пайдаланылады [2]. Бруцеллезді балаудағы КБР диагностикалық құндылығы отандық ғалымдардың зерттеулермен дәлелденген [3]. Кәзіргі кезде республикамыздың ветеринариялық зертханаларында, КБР классикалық тәсіл бойынша серологиялық пробиркаларда қойылады. Бұл реакция арқылы республикадағы мал басын бруцеллезге тексеру үшін жыл сайын мемлекеттік бюджеттен антиген, комплемент және гемолизин сатып алуға қомақты қаржы жұмсалынып келеді. Диагностикалық шығындарды азайту мақсатында ХЭБ бруцеллезге диагноз қою үшін КБР микромөлшерде өткізуді жөн санайды [4].

Осыларды ескере отырып, бруцеллезді балаудың ХЭБ ұсынған заманауи әдісін зерттеп, оның тиімділігін анықтау қазіргі таңдағы отандық ветеринария ғылымы мен практикасының өзекті мәселелерінің бірі болып табылады.

Зерттеу материалдары мен әдістемесі. Зерттеу жұмыстарына бруцеллезден таза және таза емес шаруашылықтардан әкелінген ірі қара және ұсақ мүйізді малдың 620 қан сарысуларымен қатар, зертханадағы бруцеллезге оң және теріс қан сарысулары, 0,85 % физиологиялық ерітінді, қошқар эритроциттері, гемолизин, комплемент пайдаланылды. КБР микромөлшерде (КБР ММ) қоюға 96 ұяшығы бар микроплашкалар (түбі тегіс немесе ойыс), мөлшері реттелінетін (10-1000 мкл) автоматты және көп каналды пипеткалар (10-50 мкл) және оның ұштамалары, пластмасса немесе шыны пробиркалар, су моншасы, термостат, тоназытқыш, мұздатқыш, центрифуга және микрошейкер қолданылды. КБР классикалық нұсқасын бруцеллезді зертханалық балау жөніндегі нұсқаулыққа сәйкес орындадық [5].

Зерттеудің негізгі нәтижелері. Жұмысты КБР ММ қоюға қолданылатын құралдар мен компоненттер және олардың оңтайлы мөлшерлерін анықтаудан бастадық. Алғашқы тәжірибеде, қан сарысуын әртүрлі дәрежеде сұйылту, комплемент пен гемолизинді титрлеу, реакция нәтижелерін есепке алу үшін микроплашкаларды центрифугадан өткізу сияқты жұмыстарды атқарғанда, микроплашканың түбі ойыс келген түрінің ыңғайлы екені анықталды және бұдан кейінгі жұмыстарда реакция қоюға плашканың осы түрі пайдаланылды. Өйткені, микроплашканың түбі ойыс болғандықтан, оған құйылған сұйықтық түбі тегіс плашкалардағыдай түгел жайылып кетпей, ойыс түбіне жиналатындықтан, ол пипеткамен оңай алынады, әрі реакция нәтижелерін есепке алу үшін плашканы центрифугалағанда пайда болатын тұнба осы ойысқа жиналып анық көрінеді.

Бруцеллезді балау үшін КБР микромөлшердегі нұсқасын, классикалық КБР қою әдістемесіне сәйкес, тек пайдаланылатын компоненттер мөлшерін 10 есе азайтып (1,0 мл орнына 0,1 мл, яғни 100 мкл) микроплашкаларда қойдық. Реакцияға пайдаланылатын әрбір компонент 20 мкл, ал тек гемолитикалық жүйе (ГЖ), КБР классикалық нұсқасындағыдай 0,4 мл орнына, 40 мкл мөлшерінде алынды. Тәжірибеде 5 бруцеллезге оң және 5 теріс қан сарысуларын КБР классикалық және микромөлшердегі нұсқасын қатар қою арқылы салыстырдық. КБР ММ қойғанда, классикалық нұсқада пайдаланылатын компоненттер, яғни 0,85 % физиологиялық ерітінді, жұмыс титріндегі бруцеллез антигені, титрі 2 еселенген комплемент және гемолизин және 2,5 % қошқар эритроцитінің қоймалжыңы пайдаланылды. Комплемент және гемолизиннің реакцияға пайдаланылатын мөлшері, КБР классикалық нұсқасында көрсетілген әдістеме бойынша титрлеу арқылы анықталынды. Зерттелінетін (5 бруцеллезге оң және 5 теріс қан сарысулары) алдын ала жеке пробиркаларда 0,85 % физиологиялық ерітіндісімен 1:5 қатынасында сұйылтылып, су моншасында 30 минут бойы 60-62 °С инактивтелінді. Әрі қарай реакция қоюдың екі кезеңі және оның нәтижесін есепке алу КБР классикалық нұсқасындағыдай тәртіппен өткізілді. Осылайша өткізілген КБР екі нұсқасын қою нәтижелері төменде көрсетілді (1-кесте).

1-ші кестеден көрінгендей, КБР екі нұсқасының нәтижелері толықтай сәйкес келмеді. Бруцеллездің оң қан сарысуын КБР ММ тексергенде, 1:5 дәрежеде сұйытылған қан сарысуының антигенсіз қатарындағы 3 сынамада және бруцеллезге теріс 1 қан сынамасында гемолиздің тежелуі байқалды. ГЖ байқау сынамаларында барлық жағдайларда да гемолиздің тежелуі тіркелді.

Реакцияда, бруцеллез антигені жоқ ұяшықтарда гемолиздің тежелуі себептерін анықтау үшін, реакция нәтижелеріне әсер ететін факторларды іздестірдік. Арнайы әдебиеттерде бұндай жағдай, реакцияға қажет барлық компоненттердің езіндісін дайындауға (соның ішінде, комплемент пен гемолизинді титрлеу үшін де) пайдаланатын ерітінді құрамына да байланысты болуы мүмкін екендігін ескеріп [6], осы сынамаларды қайталап тексергенде КБР ММ нұсқасын қою үшін барлық компоненттердің езіндісін дайындауға 0,85 % физиологиялық ерітіндісінің орнына тұзды веронал буфері ерітіндісін пайдаландық.

Оны натрий хлориді (42,5 г), барбитур қышқылы (2,875 г), натрийдің диэтилбарбитураты (1,875 г), магний сульфаты (1,018 г) және кальций хлоридтің (0,147 г) негізгі ерітіндісін 1 литр дистилденген суда еріту арқылы дайындадық.

1-кесте – Қан сарысуларын КБР екі нұсқасымен салыстырмалы зерттеу нәтижелері

Бруцеллездік қан сарысуы (оң немесе теріс)	Классикалық КБР				КБР ММ			
	Қан сарысуының сұйылту дәрежесі			ГЖ бақылауы	Қан сарысуының сұйылту дәрежесі			ГЖ бақылауы
	1:5 антигенсіз	1:5 антигенмен	1:10 антигенмен		1:5 антигенсіз	1:5 антигенмен	1:10 антигенмен	
Оң	-	+	+	+	+	+	+	+
Оң	-	+	+	+	-	+	+	+
Оң	-	+	+	+	+	+	+	+
Оң	-	+	+	+	+	+	+	+

Оң	-	+	+	+	-	+	+	+
Теріс	-	-	-	+	-	-	-	+
Теріс	-	-	-	+	-	-	-	+
Теріс	-	-	-	+	+	+	-	+
Теріс	-	-	-	+	-	-	-	+
Теріс	-	-	-	+	-	-	-	+
Белгілеулер - гемолиз + гемолиздің тежелуі								

Екінші фактор ретінде, КБР ММ нұсқасында екінші кезеңінде ұяшықтарға құйылатын ГЖ мөлшерін (40 мкл), басқа компоненттерге қарағанда екі есе көп болғанын ескеріп, оның мөлшерін де басқа компоненттердегідей 20 мкл етіп алдық және 2,5 % қошқар эритроцитінің қоймалжыңын 2,0 % азайтып қолдануды ұйғардық. Осылайша, жоғарыда баяндалған тәжірибеде көрсетілген бруцеллезге оң және теріс қан сарысуларын қайта тексеру нәтижесінде КБР ММ нұсқасында орын алған антигенсіз қатардағы гемолизді тежеу жағдайы жойылып, барлық сынамаларда да толық гемолиз тіркелді. Яғни, айтылған жағдайды түзеуде, еріткіш ретінде тұзды веронал буферін пайдалану, қошқар эритроциті қоймалжыңдылығын 2,0 % және ГЖ мөлшерін 20 мкл азайту себеп болды деп санауға болады.

Соңғы уақыттағы шетелдік арнайы әдебиетте КБР ММ қоюдың бір нұсқасы ұсынылды [7]. Онда микропланшетте өткізілетін реакция компоненттерінің жалпы мөлшері 100 мкл, яғни әрбір компонент 25 мкл болуы және реакция қою барысында комплемент пен гемолизинді титрлеу, реакция компоненттеріне бақылау қою тәсілдері айтылады.

Айтылғандарды ескере отырып, бұдан кейінгі зерттеуімізде реакцияға пайдаланатын компоненттер мөлшерін оңтайландырып, осы әдіске сәйкестендіріп, жоғарыда көрсетілген бруцеллезге оң 5 және 5 теріс қан сарысуларын қайта тексердік. Атап айтқанда, бұл жұмыста барлық реакция компоненттерінің еріткіші ретінде тұзды веронал буфері ІХ қолданылды.

Зерттелінетін қан сарысулары жеке пробиркаларда 1:5 қатынасында сұйылтылып, 60-62 °С орнына, 58 °С инактивтелінді, зерттелінетін қан сарысулары 1:4, 1:4, 1:8 дәрежеде сұйылтылды, әрбір реакция компоненті 25 мкл мөлшерінде, ал қошқар эритроцитінің қоймалжыңдылығы 2,0 % тең етіп алынды. Реакция нәтижесін есепке алу үшін микроплашкаларды 1500-2000 айналым/минутпен 4-5 минут бойы центрифугадан өткіздік. Жаңа әдістеме бойынша сынамаларды қайта тексергенде, нәтижелері бұның алдында қойылған реакция нәтижелерімен толық сәйкес келді. Айырмашылығы, реакция нәтижелерін микроплашкаларды центрифугадан кейін есепке алу, гемолиз немесе гемолиздің тежелу көріністерін тез уақытта және айқын көруге мүмкіндік берді.

Бұдан кейінгі зерттеулерімізде, КБР ММ нұсқасының диагностикалық тиімділігін анықтау мақсатында Алматы облысының бруцеллезден індеттік жағдайы әр түрлі шаруашылықтарынан әкелінген ірі қара мал (ІҚМ) және ұсақ мүйізді мал (ҰММ) қан сарысуларын бруцеллезге салыстырмалы түрде КБР классикалық әдісі және РБС арқылы зерттедік.

Қан сарысуларын зерттеу төмендегі әдістеме бойынша орындалды:

Реакцияның барлық компоненттерінен езінді дайындау үшін тұзды веронал буфері ІХ қолданылды;

Бруцеллезге скринг-тест – өткізгенде микроплашка ұяшығына 1:4 дәрежеде сұйытылып 58 °С инактивтелінген, ал реакцияны қайта қою кезінде 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64, 1:128 дәрежеде сұйытылған қан сарысулары 25 мкл мөлшерінде құйылады;

Әр ұяшыққа жұмыс титріндегі антиген (25 мкл) және комплементтің 2 бірлігі (25 мкл) қосылады;

Микроплашканы жабысқақ таспамен жауып, микрошейкерде мұқият шайқап араластырады;

Микроплашкадағы қоспаны термостатта 37 °С 30 минут инкубациялайды;

Қоймалжыңдылығы 2,0 % қошқар эритроциті және гемолизиннің 2 бірлігінен тұратын ГЖ дайындап оны алдын ала термостатта 37 °С 15 минут инкубациялап алады да, әрбір ұяшыққа 25 мкл мөлшерінде құяды;

Микроплашканы жабысқақ таспамен жауып, микрошейкерде мұқият шайқап араластырады да, қайтадан термостатта 37 °С 30 минут инкубациялайды;

Микроплашканы термостаттан алып, 1500-2000 айн/минутпен 5 минут бойы центрифугада айналдырады;

Микроплашканы термостаттан алып, реакция нәтижесін есепке алады.

Реакцияның дұрыс өтуін қадағалау үшін бақылау реакцияларын өткізеді. Егер бақылау реакцияларында күтілетін нәтижелер алынбаса, онда бұл тестілерді қайтадан қою қажет.

Бақылау реакциялары:

Бруцеллезге оң қан сарысуының бақылауы. 1:4 қатынаста сұйылтылып, инактивтелген бруцеллезге оң қан сарысуы тексерілетін қан сарысуын зерттегендігідей тәртіппен зерттелінеді. Күтілетін нәтиже – бруцеллезге оң қан сарысуы 1:64 сұйылту дәрежесінде 50 % гемолиз береді.

Бруцеллезге теріс қан сарысуының бақылауы. 1:4 қатынаста сұйылтылып, инактивтелген бруцеллезге теріс қан сарысуы тексерілетін қан сарысуын зерттегендігідей тәртіппен зерттелінеді. Күтілетін нәтиже – бруцеллезге теріс қан сарысуы барлық ұяшықтарда да 100 % гемолиз береді.

Бруцеллезге оң, теріс немесе зерттелінетін қан сарысуының антикомплемментарлығына бақылау. Ұяшықтарға жеке-жеке бруцеллезге оң, теріс немесе зерттелінетін қан сарысуын 25 мкл мөлшерінде құйып, оған 25 мкл веронал буферін, 25 мкл комплемент, 25 мкл ГЖ қосады. Күтілетін нәтиже – 100 % гемолиз.

Антигеннің антикомплементарлығына бақылау. Ұяшыққа 25 мкл веронал буферін, 25 мкл антиген, 25 мкл комплемент, 25 мкл ГЖ қосады. Күтілетін нәтиже – 100 % гемолиз.

ГЖ комплементпен бақылауы. Ұяшыққа 50 мкл веронал буферін, 25 мкл комплемент, 25 мкл ГЖ қосады. Күтілетін нәтиже – 100 % гемолиз.

ГЖ комплементсіз бақылауы. Ұяшыққа 75 мкл веронал буферін, 25 мкл ГЖ қосады. Күтілетін нәтиже – гемолиз 0 %.

Алматы облысының әртүрлі індеттік жағдайдағы шаруашылықтардан әкелінген қан сарысуларын бруцеллезге салыстырмалы түрде зерттеу нәтижелері төменде көрсетілді (2-кесте).

2-кесте – Қан сарысуларын бруцеллезге зерттеу нәтижелері

Шаруашылық аты	Жануар түрі және саны	Бруцеллезден індеттік жағдайы	Зерттеу нәтижелері		
			РБС	Классикалық КБР	КБР ММ
Қарасай ауд., Іргелі а/о «Медеу коммерц» ЖШС	ІҚМ, 120 бас	таза	-	-	-
Іле ауд., Жетіген а/о «Батыров» ЖШС	ҰММ, 180 бас	таза	-	-	-
Қарасай ауд., Жаңашамалған а/о «Абраймов» ШҚ	ІҚМ, 80 бас	таза емес	8	8	8
Қарасай ауд., Жамбыл а/о «Батан» ШҚ	ІҚМ, 100 бас	таза емес	5	5	5
Қарасай ауд., Райымбек а/о «Айғараев» ШҚ	ҰММ, 140 бас	таза емес	3	3	3
Барлығы	620		16	16	16

2-ші кестеден көрінгендей, бруцеллезден таза шаруашылықтардан әкелінген 300 бас сынамалар барлық реакциялар бойынша да теріс нәтижелер көрсетті, бұны бруцеллезді балау үшін қолданылған реакциялардың телімділігінің дәлелі деп есептеуге болады. Ал, бруцеллезден таза емес әр түрлі шаруашылықтардан ІҚМ және ҰММ әкелінген 320 сынамаларын бруцеллезге зерттегенде, оның 16-сы барлық реакциялар бойынша оң нәтиже көрсетті. Сынактан өткізілген КБР ММ қою нұсқасы КБР классикалық нұсқасы мен РБС қалыспай бірдей оң нәтижелер көрсетуі оның диагностикалық сезімталдылығының қанағаттандырылғық дәрежеде екендігін дәлелдейді.

Алынған мәліметтерді талқылау және қорытынды. КБР классикалық нұсқасы және оны микроөлшерде қою әдістерін салыстырмалы бағалау, екі тәсілдің де бірдей оң нәтижелер көрсеткенін және КБР ММ қою барысында реакцияға жұмсалынатын компоненттер мөлшерін 10 есе азайтуға болатындығын көрсетті. Әрі, микроөлшердегі реакция қою үшін, КБР классикалық нұсқасында пайдаланылатын штативтер мен пробиркалар орнына көлемі одан 15-20 есе кіші микропланшеттер қолданылатындықтан (бір микропланшетте 96 қан сынамасын зерттеуге болады), олар су моншасында, термостат немесе тоңазытқышта, жалпы зертхана кеңістігінде аз орын алады. Бұдан басқа, реакция қою процессінде қан сарысуының қажетті мөлшерін алу, оны әр түрлі дәрежеде сұйылту, комплемент пен гемолизиннің реакцияға қажет мөлшерін анықтау үшін титрлеу, реакция компоненттерін құю үшін автоматты бір немесе көп каналды арнайы пипеткаларды пайдалану зертхана мамандарының еңбек өнімділігін анағұрлым арттырып, жұмыстарын жеңілдету арқылы зерттеулер көлемін ұлғайтуға мүмкіндік береді.

Сонымен, КБР микроөлшерде қою нұсқасы телімді, сезімталдылығы классикалық тәсілдерден қалыспайтын әдіс болып табылады. Бұл реакцияны қою үшін пайдаланылатын компоненттер мөлшері классикалық КБР мен салыстырғанда 10 есе аз жұмсалынатындықтан, ол экономикалық тұрғыдан өте тиімді. Яғни, КБР ММ қою нұсқасын жануарларды бруцеллезге жаппай тексеру әдісі ретінде практикаға ұсынуға болады.

ӘДЕБИЕТ

1. Иванов Н.П. Бруцеллез животных и меры борьбы с ним. – Алматы, 2007. – 617 с.
2. Об утверждении Ветеринарных (ветеринарно-санитарных) правил. Приказ Министра сельского хозяйства Республики Казахстан от 29 июня 2015 года № 7-1/587.
3. Султанов А.А., Абуталип А., Барамова Ш.А., Адамбаева А., Тусипканулы О., Шманова Б., Матихан Н. Сравнительный анализ диагностических исследований и эпизоотической ситуации по бруцеллезу животных в РК за 2014-2016 годы // Сб. науч. трудов КазНИВИ. – Алматы, 2017. – Том LXIII. – С.29-32.
4. Руководство по заболеваниям наземных животных // МЭБ: Глава 2.4.3. Бруцеллез крупного рогатого скота. – 2012. – 517 с.
5. Методические указания по лабораторной диагностике бруцеллеза. Ветеринарное законодательство Республики Казахстан. – Астана, 2005. – 23 с.
6. Белобаб В.И. Пути совершенствования диагностики и профилактики бруцеллеза животных: дисс. на соиск. уч. степени докт. вет. наук: 16.00.03. – Алма-Ата, 1998. – С.60-64.
7. Complement fixation test for serological diagnosis of brucellosis. Centronazionale di referenza per le brucellosi. Istituto Zooprofittio Sperimentale dell'Abruzzo e del Molise G.Caporale Via Campo // Boario-64100 Teramo. IZS TE B2.1.6 SOP004. Rev 5 24/10/2017.

М.А. Азанбекова, Ж.С. Абсатова, М.К. Кенжебаева,
М. Мамбеталиев, Л.Б. Кутумбетов, К.Д. Жугунисов

РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, г.гт.
Гвардейский, Казахстан, E-mail: unots@biosafety.kz

ПОДБОР СТАБИЛИЗИРУЮЩИХ КОМПОНЕНТОВ ДЛЯ СОХРАНЕНИЯ ВИРУСА НОДУЛЯРНОГО ДЕРМАТИТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА В УСЛОВИЯХ ЛАБОРАТОРИИ

Аннотация. В статье приведены результаты исследований по подбору стабилизирующих компонентов для хранения эпизоотического штамма «*Dermatitis nodulares/2016/Atyrau/KZ*» вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота. В качестве стабилизирующей среды использованы два раствора, содержащие различные компоненты в разных количественных соотношениях (пептон/лактоза – 12/8 %, пептон/сахароза/желатин – 8/6/1 %) и обезжиренное молоко, добавляемые в суспензию вируса в равных объемных соотношениях. Установлено, что из числа испытанных защитных сред наилучшим стабилизирующим эффектом обладала рецептура, состоящая из пептона (8 %), желатина (1 %), сахарозы (6 %), добавляемая к вирусной суспензии в равных объемных соотношениях.

Ключевые слова: подбор, стабилизирующий, сохранение, вирус нодулярного дерматита, крупный рогатый скот.

М.А. Азанбекова, Ж.С. Абсатова, М.К. Кенжебаева,
М. Мамбеталиев, Л.Б. Кутумбетов, К.Д. Жугунисов

ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМҚ,
Гвардейский қтп., Қазақстан

ІРІ ҚАРА МАЛДЫҢ СҮЙЕЛДІ ДЕРМАТИТІНІҢ ВИРУСЫН ЗЕРТХАНА ЖАҒДАЙЫНДА САҚТАУ ҮШІН ҚОҒАНЫС ОРТАСЫНЫҢ КОМПОНЕНТТЕРІН ТАҢДАУ

Аннотация. Мақалада ірі қара малдың сүйелді дерматит вирусының «*Dermatitis nodulares/2016/Atyrau/KZ*» эпизоотиялық штамын сақтау үшін тұрақтандырғыш компоненттерін таңдау нәтижелері көрсетілген. Жүргізілген зерттеулердің нәтижесінде 3 түрлі тұрақтандырғыш ортаның (пептон/лактоза – 12/8 %, пептон/сахароза/желатин – 8/6/1 % және майсыздандырылған сүт 50 %) арасынан пептон (8 %), желатин (1 %), сахароза (6 %) үш компонентті кешенді ортасының 1:1 қатынасы ең жақсы тұрақтандырғыш қасиетке ие болды.

Түйін сөздер: іріктеу, тұрақтандыру, сақтау, сүйелді дерматиттің вирусы, ірі қара мал.

М. Azanbekova, Zh. Absatova, M. Kenzhebayeva,
M. Mambetaliev, L. Kutumbetov, K. Zhygunissov

RGE “Research Institute for Biological Safety Problems” CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan

SELECTION OF STABILIZING COMPONENTS FOR THE CONSERVATION OF THE LUMPY SKIN DISEASE VIRUS IN THE LABORATORY CONDITIONS

Abstract. This article presents the results of the selection of stabilizing components for storing the epizootic strain “*Dermatitis nodulares/2016/Atyrau/KZ*” of the Lumpy skin disease virus in cattle. As a result of the studies, it was found that of the 3 tested protective media (peptone/lactose – 12/8 %, peptone/sucrose/gelatin – 8/6/1 % and skim milk 50 %). The complex stabilizing property of peptone has the best stabilizing property (8 %), gelatin (1 %), sucrose (6 %) in a 1:1 ratio.

Keywords: selection, stabilizing, conservation, lumpy skin disease virus, cattle.

Введение. Нодулярный дерматит крупного рогатого скота (НД КРС) – это трансграничная болезнь крупного рогатого скота вирусной этиологии, характеризующаяся лихорадкой, поражением лимфатической системы, отеками подкожной клетчатки, образованием множественных кожных узлов, поражением глаз и слизистых оболочек органов дыхания и пищеварения [1-3].

Возбудителем НД КРС является ДНК-содержащий оболочечный вирус, относящийся к группе Neethling, рода *Capripoxvirus*, семейства *Poxviridae*. Вирус *Neethling* является прототипным возбудителем НД КРС. Этот патоген имеет очень близкое антигенное родство с вирусом оспы коз, а также вирусом оспы овец [1-4]. В связи с этим, для профилактики или ликвидации болезни в ветеринарной практике, кроме гомологичной вакцины из *Neethling* штамма, индуцирующего напряженный иммунитет в течение трех лет, успешно используются вакцины из гетерологичных вирусов – возбудителей оспы овец и оспы коз [5, 6]. Использование живых аттенуированных вакцин против НД КРС является эффективным способом защиты восприимчивого поголовья животных от эпизоотии данного заболевания [7-10]. Однако поддержание биологической активности вирусных частиц в

составе живых вакцин является основной проблемой при предоставлении надлежащих услуг иммунизации. Так как сохранение биологической активности вируса в составе живых вакцин играет важную роль при иммунизации для формирования напряженного иммунитета в организмах вакцинированных животных. В связи с чем, поддержание биологической активности вирусных частиц в составе живых вакцин или длительном хранении вируса в качестве основы производства и источника исследовательских работ является одним из ключевых задач биотехнологии биологических ветеринарных препаратов и коллекций микроорганизмов. Как правило, для решения данной задачи используются стабилизирующие среды, которые оказывают защитный эффект по отношению к вирусу при сублимации, хранении, транспортировке и других, когда создаются условия, непроницаемые для сохранности возбудителя [11-17]. Однако, защитные среды, применяемые для стабилизации вирусов, не универсальны, и, в зависимости от вида защищаемого вируса и критических условий, для каждого из них необходимо экспериментально подбирать соответствующую рецептуру, дающей наилучший защитный эффект [12, 13].

В практике производства биопрепаратов чаще всего применяют защитные среды, состоящие из таких компонентов, как пептон, гидролизат лактальбумина, лактоза, сахароза, глюкоза, желатин, сыворотка крови, обезжиренное молоко и другие. Целью данной работы являлся подбор наиболее эффективной стабилизирующей среды для сохранения биологической активности вируса нодулярного дерматита для использования при изготовлении сухой формы возбудителя.

Материалы и методы. *Вирус и культура клеток.* В данной работе нами был использован эпизоотический штамм «*Dermatitis nodulares/2016/Atyrau/KZ*» вируса НД КРС, который был получен в лиофилизированном виде из лаборатории Коллекции микроорганизмов Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности. Данный штамм был выделен из проб органов (печень, легкие, селезенка, лимфатические узлы и пораженная подкожная клетчатка) от вынужденно убитых КРС (хозяйства Атырауской области, 2016 год) с характерными проявлениями клинических признаков НД. Специфичность заболевания животных подтверждена ПЦР-исследованиями биоматериала и методом вирус выделения. На третьем пассаже титр вируса, полученного в культуре клеток почки ягненка (ПЯ), составлял $6,25 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$. При заражении естественно восприимчивых животных вирусосодержащим материалом воспроизведена генерализованная форма болезни [18].

Животные. Для определения инфекционной активности эпизоотического штамма вируса НД использовали КРС местной породы в возрасте 6-12 мес с живой массой 70-110 кг, доставленный из хозяйств, благополучных по острым инфекционным заболеваниям и серонегативных к вирусу НД.

Животные до проведения экспериментов выдерживали на карантине в течение 2-х недель с проведением термометрии, клинического осмотра и исследованием сыворотки крови на наличие вируснейтрализующих антител к каприпосксвирусам в реакции нейтрализации (РН) согласно методике [19]. В опыте использовали животных, у которых не выявлены специфические антитела на вирус НД.

Защитные среды. При подборе защитных сред для вируса НД КРС нами использованы компоненты в следующих конечных концентрациях: 12 % пептона + 8 % лактозы (группа I); 8 % пептона + 1 % желатина + 6 % сахарозы (группа II) и обезжиренное коровье молоко (группа III). Защитные среды смешивали со стерильной вирусосодержащей суспензией вируса в соотношении 1:1. В исследованиях в качестве контроля использовали суспензию вируса без защитной среды (группа IV). Для лиофильного высушивания суспензию вируса объединили в равных объемах со стабилизирующей средой, с добавлением антибиотиков из расчета 200000 ЕД пенициллина, 200 мг стрептомицина, 5000 ЕД нистатина на 1,0 л и поместили в бытовой холодильник при температуре 4°C на 10-12 час. По истечению указанного времени произвели розлив технической жидкости в ампулы по 1,0 мл, и лиофилизировали на сублимационной установке.

Ллиофилизация вируса. Процесс лиофилизации вирусосодержащего материала проводили по следующей схеме:

- 1 Глубокая заморозка в течение 12 часов при температуре минус 56°C .
 - 2 Ллиофилизация при режиме 15 %/15 $^{\circ}\text{C}$, под вакуумом 0,8-1,0 бар.
 - 3 Досушивание препарата при температуре 24°C в материале в течение 8-10 ч.
- Общее время лиофилизации при этом составило 48 ч.

Для изучения сохраняемости высушенный вакцинный вирус в ампулах были заложены на хранение при температуре минус $(40,0 \pm 1,0)^{\circ}\text{C}$ на 12 месяцев.

Определение сохраняемости вируса in vitro. По истечению определенного срока хранения сухие образцы штамма «*Dermatitis nodulares/2016/Atyrau/KZ*» вируса НД КРС, приготовленные с разными защитными средами, подвергали исследованию на сохраняемость путем титрования в культуре клеток ПЯ согласно методике [19].

Определение сохраняемости вируса in vivo. Сохраняемость биологической активности сухих образцов вируса НД, приготовленных с различными защитными средами, определяли путем внутрикожного заражения методом титрования в разведениях с 10^{-1} по 10^{-7} на животных и объемом заражения 0,25 мл согласно методике [20]. Результаты при данном методе заражения учитывали не только по температурной и общей реакции животных, но и по количеству «отреагировавших» точек по сравнению с данными в группе контрольных КРС.

Статистический анализ данных осуществляли с помощью стандартных пакетов компьютерных программ Excel (Microsoft, США) и GraphPad Prism 6 (США) и методом дисперсионного анализа (One-way ANOVA): определяли значимость различий между средними значениями и оценивали значимость влияния каждого из факторов на изменчивость признака. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты исследований. После лиофилизации образцы препаратов были использованы для определения биологической активности и повторно стерильности (таблица 1). Результаты определения стерильности

показали, что на средах мясопептонный агар (МПА), мясопептонный бульон (МПБ), Сабуро и Китт-Тароции, на протяжении 14 суток рост посторонней микрофлоры не обнаружено, указывающее на отсутствие посторонних контаминантов в составе сухого вируса.

Таблица 1 – Результаты определения биологической активности лиофилизированных материалов в культуре клеток ПЯ

Содержание компонентов в вакцинной жидкости		Титр вируса до сушки, lg ТЦД ₅₀ /мл (*)	Титр вируса после сушки, lg ТЦД ₅₀ /мл (**)
Пептон 12 %/ Лактоза 8 %	культуральный	5,50±0,25	5,08±0,14
	органо-тканевой	3,88±0,14	3,62±0,18
Пептон 8 % Желатин 1 % Сахароза 6 %	культуральный	5,50±0,25	5,17±0,14
	органо-тканевой	3,88±0,14	3,75±0,35
Обезжиренное молоко 50 %	культуральный	5,50±0,25	5,08±0,29
	органо-тканевой	3,88±0,14	3,75±0,00
Примечания 1 (*) – нет существенной разницы биологической активности вируса между до и после сушки ($p \geq 0.0001$) 2 (**) – нет существенной разницы биологической активности вируса между образцами вируса после сушки ($p \geq 0.05$)			

Результаты проведенных исследований показали (таблица 1), что вирус с испытуемыми стабилизирующими растворами, состоящих из комплекса пептона/лактозы, пептон/желатин/сахароза и обезжиренное молоко сохранял свою биологическую активность после лиофильного высушивания. При этом существенная разница между биологической активностью вируса до и после сушки, а также между образцами вируса различными стабилизаторами не установлена ($p > 0.5$).

После лиофильного высушивания необходимо было определить инфекционную активность образцов вируса на целевых животных, так как данный метод является «золотым стандартом» для контрольного штамма, который используется при оценке иммуногенной активности поксвирусных вакцин. В связи с этим, инфекционную активность образцов высушенного штамма вируса НД определяли на телятах в 6-8 мес возраста (таблица 2).

Таблица 2 – Результаты определения инфекционной активности лиофилизированных материалов на телятах

Содержание компонентов в вакцинной жидкости		Титр вируса до сушки (#), lg ТЦД ₅₀ /мл	Титр вируса после сушки, lg ИД ₅₀ /мл
Пептон 12 %/ Лактоза 8 %	культуральный (*)	5,50±0,25	4,00±0,35
	органо-тканевой	3,88±0,14	3,62±0,18
Пептон 8 % Желатин 1 % Сахароза 6 %	культуральный (*)	5,50±0,25	4,25±0,00
	органо-тканевой	3,88±0,14	3,87±0,18
Обезжиренное молоко 50 %	культуральный (*)	5,50±0,25	4,12±0,18
	органо-тканевой	3,88±0,14	3,87±0,18
Примечания 1 (*) – имеется существенная разница инфекционной активности культурального варианта вируса между до и после сушки ($p < 0.05$) 2 (#) – Титр вируса до сушки определен в культуре клеток ПЯ, а не на восприимчивых животных. При этом следует отметить, что изучена патогенность образцов вируса до сушки в организме восприимчивых животных			

Результаты исследований показали, что инфекционные титры культуральных образцов вируса во всех защитных средах существенно снизились ($p < 0.05$). При этом следует отметить, что инфекционные титры вируса до сушки не определены в условиях *in vivo*, а установлены только в культуре клеток ПЯ. Однако, титры органо-тканевых материалов после лиофильного высушивания максимально сохранялись при сравнении с титрами вируса до сушки. При этом следует отметить, что изучена их патогенность на восприимчивых животных. При изучении патогенности вируса (до сушки) на телятах установлено, что все культуральные и органо-тканевые материалы вызывали у животных клинические признаки НД, которые характеризуются проявлением нодулы на месте заражения кожи, повышением температуры тела, снижением аппетита и развитием в генерализованной формы болезни.

Далее нами были изучены образцы вируса различными стабилизаторами после 8 мес. хранения при температуре минус ($40 \pm 0,5$) °С, в которых была определена сохраняемость их биологической активности в культуре клеток ПЯ. Результаты исследований представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Сохраняемость штамма «Dermatitis nodulares/2016/Atyrau/KZ» вируса НД с разными защитными средами при температуре хранения минус ($40 \pm 0,5$) °C после 8-месячного хранения методом титрования в культуре клеток

Номер образца	Вид материалов	Биологическая активность, lg ТЦД ₅₀		Потеря активности, lg ТЦД ₅₀	Существенность различий, Р
		до хранения	после хранения		
I	культуральный	5,17±0,14	4,58 ± 0,14	- 0,59	<0,004
	органо-тканевой	3,67±0,14	3,58 ± 0,14	- 0,09	ns
II	культуральный	5,08±0,14	4,75 ± 0,25	- 0,33	ns
	органо-тканевой	3,91±0,14	3,83 ± 0,14	- 0,08	ns
III	культуральный	5,08±0,29	4,83 ± 0,14	- 0,25	ns
	органо-тканевой	3,68±0,14	3,58 ± 0,29	- 0,1	ns
Примечание - (ns) – нет существенной разницы					

Из данных таблицы 3 видно, что все испытанные стабилизирующие среды в существенной степени обладают протективным действием по отношению к штамму «Dermatitis nodulares/2016/Atyrau/KZ» вируса НД КРС. После длительного хранения культурального вируса пептон (12 %) с лактозой (8 %) оказали наименьший защитный эффект ($p < 0,004$), так как потеря биологической активности вируса с данной защитной средой после хранения составила 0,59 lg ТЦД₅₀/мл. Наибольшей протективной возможностью обладали трехкомпонентная защитная среда (пептон 8 %, желатин 1 %, сахароза 6 %) и обезжиренное коровье молоко, так как потеря вируса составила от 0,08 до 0,33 lg ТЦД₅₀/мл.

Далее сохраняемость инфекционного титра вируса НД определяли на телятах после 8-месячного хранения при температуре минус ($40 \pm 0,5$) °C. Результаты исследования представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты сохраняемости штамма «Dermatitis nodulares/2016/Atyrau/KZ» вируса НД с различными защитными средами при температуре хранения минус ($40 \pm 0,5$) °C после 8-месячного хранения методом титрования на животных

Номер образца	Вид материалов	Инфекционный титр вируса, log ИД ₅₀ /0.25 мл		Потеря активности, lg ИД ₅₀	Существенность различий, Р
		До хранения	после хранения		
I	культуральный	4,00±0,35	0,38 ± 0,18	-3,62	<0,0001
	органо-тканевой	3,62±0,18	1,12 ± 0,53	-2,5	<0,0001
II	культуральный	4,25±0,00	4,12 ± 0,18	-0,13	ns
	органо-тканевой	3,87±0,18	3,87±0,17	0	ns
III	культуральный	4,12±0,18	2,37 ± 0,53	-1,75	<0,0007
	органо-тканевой	3,87±0,18	3,37±0,53	-0,50	<0,5
Примечание - (ns) – нет существенной разницы					

На основании данных, приведённых в таблице 3, можно сделать вывод о том, что сохраняемость штамма «Dermatitis nodulares/2016/Atyrau/KZ» вируса НД напрямую зависит от температурно-временных режимов хранения и вида защитной среды. Сравнительный анализ сохраняемости данного штамма при испытанном температурном режиме в течение всего срока наблюдения (8 мес) показал, что при температуре минус ($40 \pm 0,5$) °C максимально сохранялась биологическая активность вируса в трехкомпонентной защитной среде №2 (пептон/лактоза/желатин), тогда как в двухкомпонентной №1 (пептон/лактоза) и однокомпонентной защитной среде №3 (обезжиренное молоко) жизнеспособность вируса значительно снизилась от 0,5 до 3,62 lg ТЦД₅₀/мл.

После заражения, у животных в группе №2 начали проявляться первичные узелки на 7 сутки после заражения. На 11 сутки после заражения было отмечено повышение температуры тела до 40,1 °C и выше в течение 7 суток, и через 17 суток температура снижалась до верхней границы нормы. Одновременно с развитием гипертермии у животных наблюдались появление серозных истечений из носовой полости и первые клинические признаки инфекции (угнетение, отказ от корма). Конъюнктивы глаз была гиперемирована. Поверхностные лимфатические узлы (предлопаточный, подчелюстной, подколенный и паховые) были увеличены примерно в 1,5 раза. Титр вируса в этой группе был в среднем ($3,87 \pm 0,17$) (для органо-тканевого материала) и ($4,12 \pm 0,18$) (для культурального материала) log ИД₅₀/0.25 мл.

У животных в группе №1, зараженных органо-тканевым материалом отмечались уплотнения на местах введения вируса размером в диаметре до 1.0 см с покраснением и однодневное повышение температура тела, тогда как у животных в этой группе, зараженного культуральным материалом появились покраснения на месте введения первого разведения вируса за исключением других клинических признаков характерных для НД.

У животных в группе №3, зараженных органо-тканевым и культуральным материалом отмечались аналогичные клинические симптомы, которые были отмечены у животных в группе №2 с проявлением уплотнения, покраснения на местах введения вируса, повышением температуры тела, но без развития генерализованной формы болезни.

Обсуждение полученных данных. Главными методами хранения большинства вирусов в исследовательских и производственных целях является лиофилизация и замораживание при низких температурах с применением защитных сред [21]. Сублимационное высушивание является конечной стадией производства живых биопрепаратов, при этом особое значение отводится защитным средам, которые влияют не только на процесс высушивания вирусной массы, но и на сохраняемость ее свойств, особенно при длительном хранении.

Поэтому, изыскание оптимальных защитных сред высушивания, которые могут обеспечить высокую эффективность биологических препаратов по окончании сублимационной сушки и при последующем хранении, является насущной проблемой.

Для более длительного хранения многих вирусов, в частности для поксвирусов в практике в основном применяют защитные среды, такие как пептон-лактоза, пептон-сахароза, сахароза-желатин и обезжиренное молоко. При этом следует отметить, что поисковые работы по подбору стабилизирующих компонентов для сохранения жизнедеятельности вируса НД в открытых источниках нами не обнаружены. Поэтому обсуждение и глубокий анализ полученных результатов с другими аналогичными исследованиями не проведен. Тем не менее, мы попытались обсудить полученные результаты с другими авторами по изучаемому вопросу в отношении более близко родственными вирусами. Так, Solyom et al. [24] установили, что из 4-х испытанных защитных сред (1 % пептон + 2,5 % глюкозы, 20 % коровье молоко, 2,5 % гидролизат лактоальбумина, бактоказеин) лучшим стабилизирующим эффектом при лиофилизации аттенуированного штамма вируса оспы овец обладали 20 % обезжиренное молоко и бактоказеин, однако авторы не привели данных о сохраняемости таких препаратов в процессе хранения. Аналогичное исследование, в котором авторами было установлено, что из 5 прописей защитной средой с наилучшим протективным эффектом для штамма A/HK/Otar/6:2/2010 (H3N8) вируса гриппа подобрана комплексная среда – смесь пептона (6 %) с лактозой (3 %) в соотношении 1:1 [13]. В нашем опыте также было отмечено, что после лиофильного высушивания вируса НД с различными испытываемыми стабилизаторами существенно не снижалась активность всех образцов, тогда как после длительного хранения вируса со стабилизаторами пептон/лактоза и обезжиренное молоко при определении инфекционного титра вируса на животных значительно снижался. При этом вирус с защитной средой пептон/желатин/сахароза сохранял свою инфекционную активность на телятах в титрах $(3,87 \pm 0,17)$ и $(4,12 \pm 0,18) \log \text{ИД}_{50/0,25} \text{мл}$.

Chifney et al. [25] рекомендовали при лиофилизации аттенуированных штаммов поксвирусов использовать среду, содержащую 2,5 % гидролизат лактоальбумина и 5 % сахарозы. При хранении лиофилизированного вируса с данной средой защиты не было отмечено снижения его активности в течение 1 года при минус 20 °С. Другие авторы [26, 27], при лиофилизации вируса оспы овец, в качестве защитной среды использовали обезжиренное молоко. По результатам исследований проведенного Кореба О.А. [28] установлено, что из 14 прописей наилучшим стабилизирующим эффектом в отношении штаммов вируса оспы овец обладала среда, содержащая пептон в концентрации 3-5 % и сахарозу – 2,5-5 %, которая рекомендована для хранения матричного штамма для приготовления вакцины. Штаммы вируса оспы овец, высушенные со стабилизирующими средами, сохранились при температуре 4 °С и минус 20 °С без существенного снижения активности на протяжении года.

Аналогичные исследования были проведены в условиях НИИПББ [29], в которых при подборе защитных сред для аттенуированного штамма «КМ-40» вируса оспы верблюдов были использованы среды в следующих конечных концентрациях: 6,5 % пептон; 6,5 % пептона + 5 % сахарозы; 3 % пептона + 0,5 % желатина + 3 % сахарозы и обезжиренное коровье молоко. Для изучения сохраняемости вакцинного вируса лиофилизированные его образцы в ампулах были заложены на хранение при температурных режимах $(37,0 \pm 0,5)$ и $(22,0 \pm 2,0)$ °С на 8 мес, $(6,0 \pm 2,0)$ и минус $(40,0 \pm 1,0)$ °С на 20 месяцев. В результате проведенных исследований установлено, что оптимальной защитной средой для данного вируса являлись обезжиренное коровье молоко, а также 6,5 % пептон. Эти стабилизаторы позволили хранить вирус в течение 15 мес при температуре $(6,0 \pm 2,0)$ °С и при минус $(40,0 \pm 1)$ °С в течение 20 мес (Данные не опубликованы).

Заключение. Таким образом, сохраняемость испытанных образцов вируса НД зависела от температуры и срока хранения, а также от состава защитной среды. Полученные результаты исследования позволили нам выбрать оптимальную защитную среду для данного вируса, которой является трехкомпонентная комплексная защитная среда пептон/желатин/сахароза, добавляемая в вирусную суспензию в соотношении 1:1. Использование обезжиренного коровьего молока в качестве стабилизатора также позволило максимально хранить вирус на протяжении 8 мес. при температуре минус $(40,0 \pm 1)$ °С (срок наблюдения). Однако, необходимо отметить, что эти результаты были получены в рамках малочисленных экспериментов. Поэтому, в будущем требуется провести обширные исследования в данном направлении в условиях лаборатории.

ЛИТЕРАТУРА

1. MacDonald R.A.S. Pseudo-urticaria of cattle. Annual Report for 1930 // Department of Animal Health, Northern Rhodesia. – 1931. – P. 20-21.
2. Terrestrial Animal Health Code - World organization for Animal Health. - Paris, France, 2014. - Vol. 1- 2.
3. EFSA (European Food Safety Authority). Scientific report on lumpy skin disease II. Data collection and analysis // EFSA Journal. – 2019. – 17 (3). – 5638. - 26 pp. doi: 10.2903/j.efsa.2019.5638
4. EFSA AHAW Panel (EFSA Panel on Animal Health and Welfare). Scientific Opinion on lumpy skin disease // EFSA Journal. – 2015. – 13 (1). – 3986. - 73 pp. doi: 10.2903/j.efsa.2015.3986
5. Abutarbush S.M., Hananeh W.M., Ramadan W. et al. Adverse reactions to field vaccination against lumpy skin disease in Jordan // Transboundary and Emerging Diseases. – 2014.

6. Abutarbush S.M. Efficacy of vaccination against lumpy skin disease in Jordain cattle // *The Veterinary Record*. – 2014. – 175. – P. 302.
7. Kitching R.P. Vaccines for lumpy skin disease, sheep pox and goat pox // *Developmental Biology (Basel)*. – 2003. – 114. – P. 161-167.
8. Somasundaram M.K. An outbreak of lumpy skin disease in a Holstein dairy herds in Oman: a clinical report // *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*. – 2011. – 6. – P. 851-859.
9. Gari G., Abie G., Gizaw D. et al. Evaluation of the safety, immunogenicity and efficacy of three capripoxvirus vaccine strains against lumpy skin disease virus // *Vaccine*. – 2015. – 33. – 28. – P. 3256-3261.
10. Ben-Gera J., Klement E., Khinich E. et al. Comparison of the efficacy of Neethling lumpy skin disease virus and x10RM65 sheep-pox live attenuated vaccines for the prevention of lumpy skin disease - The results of a randomized controlled field study // *Vaccine*. – 2015. – 33 (38). – P. 4837-4842.
11. Wolfson L. J. et al. Estimating the costs of achieving the WHO-UNICEF Global Immunization Vision and Strategy, 2006-2015 // *Bull. World Health Organ*. – 2008. – 86. – P. 27-39.
12. Мазурина М.Г. Защитная среда для лиофилизации вируса инфекционного бронхита кур // *Ветеринария*. – 1980. - №5. - С. 40.
13. Кожамкулов Е.М., Табынов К.К., Рыскельдинова Ш.Ж., Бейшеналиева С.Т. Подбор оптимальных стабилизирующих сред для лиофилизации и хранения вируса гриппа холодоадаптированного штамма А/НК/ОТАР/6:2/2010(Н3N8) // *Известия ВУЗОВ*. – 2014. - № 5. - С.139-142.
14. Никитин Е.Е., Звягин И.В. Замораживание и высушивание биологических препаратов – Москва: Колос, 1971. - 343 с.
15. Главацкий В.Н., Кравченко В.М., Накопов В.Н. и др. Стабилизация эффективных веществ при замораживании и высушивании очищенных биопрепаратов // *Акт. пробл. вет. вирусол.* - Владимир, 1977. - С. 103-107.
16. Phillips G.O., Harrop R., Wedloch D.I. et al. Study of water binding in lyophilized viral vaccine systems // *Cryobiology*. - 1981. - Vol. 18. - P. 414-419.
17. Токарик Э.Ф., Ковальская Л.А., Скотникова Т.А., Константинов В.М. Методические подходы к конструированию защитных сред для живых вирусных вакцин // *Научные основы производства ветеринарных препаратов*. - М., 1989. - С.17-21.
18. Patent 32624. The strain “Dermatitis nodulares/2016/Atyrau/KZ” of lumpy skin diseases virus. Koshemetov Zh., Sansyzbay A. Khairullin B. Abdurayimov Ye., Orynbayev M., Nurabayev S., Mambetaliyev M., Sugirbayeva G., Ismagambetov B.M. - 2018. <https://kazpatent.kz/images/bulleten/2018/gazette/ru201803/html/b0015197.htm>
19. World Organization for Animal Health (OIE). In Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Lumpy skin disease Chapter 2.4.14. – Paris, France, 2012. - Vol. 2., - P. 762-776.
20. Bhanuprakash V., Indrani B.K., Hegde R., Kumar M.M., Moorthy A.R.S. A Classical Live Attenuated Vaccine for Sheep Pox // *Tropical Animal Health and Production*. – 2004. - 36 (4). – P. 307-320.
21. Варяница В.В., Высеканцев И.П. Защитные среды для хранения стандартного штамма вируса бешенства CVS при температурах –20, –80°C. ISSN 2077-4214 // *Вісник проблем біології і медицини*. – 2019. – Вип. 4, том 1 (153). – С. 205-211.
22. Varyantsia V.V., Vysekantsev I.P. Storage methods of complex RNA viruses // *Problems of Cryobiology and Cryomedicine*. – 2017. – 27 (4). – P. 287-95. DOI: <https://doi.org/10.15407/cryo27.04.287>
23. Gould EA. Methods for long-term virus preservation // *Molecular Biotechnology*. – 1999. – 13 (1). – P. 57-66. DOI: 10.1385/MB:13:1:57
24. Solyom F., Perenlei L., Roith J., A live attenuated virus vaccine against sheep pox // *Acta Vet. Acad. Sci. Hung.* - 1980. Vol. 28. - 4. - P.389-398.
25. Chifney S.T.E., Martin W.B., Ergin H., Koylu A. Factors associated with the production of attenuated sheep pox vaccines // *Res.Vet.Sci.* – 1973. – 14 (1). – P. 62-68.
26. Mateva Penkova V., Jassim F.A., Thompson JR, Al-Doori T.M., The propagation of an attenuated Sheep pox virus and its use as a vaccine// *Bull. Off. Int. Epiz.* – 1974. – 81 (34). – P. 329-339.
27. Лихачева Н.В., Жидкова Л.А. Аттенуированный штамм вируса оспы овец // *Тез. докл. науч-произв. конф. ВГНКИ вет. препаратов*. - Москва, 1974. - С.1-2.
28. Кореба О.А. Биологические свойства штаммов вируса оспы овец: дисс. на соиск. уч. ст. канд. биол. наук. - Гвардейский, 1984. - 188 с.
29. Разработка технологии изготовления вакцины против оспы верблюдов. Отчет о НИР (заключительный). – Гвардейский, 2015. - 163 с.

А.Б. Алиева, Д.Н. Кайсенов, Н.К. Далбаев, Т.С. Әділ,
М.М. Божбанбаева, К.Б. Баракбаев

РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгт.
Гвардейский, Казахстан, E-mail: unots@biosafety.kz

ВЫБОР СТАБИЛИЗИРУЮЩЕЙ СРЕДЫ ДЛЯ ЛИОФИЛИЗАЦИИ И ХРАНЕНИЯ *PASTEURELLA MULTOCIDA* ARO/A

Аннотация. В работе приведены результаты по выбору оптимальной стабилизирующей среды для лиофилизации и хранения *Pasteurella multocida* Aro/A. Проведены сравнительные эксперименты по выживаемости *Pasteurella multocida* Aro/A при различных температурно-временных режимах (плюс 4 ± 2 , 20 ± 2 , 37 ± 1) °C в течение 12 мес, 5 суток и 3 суток, соответственно и при температуре минус 20, минус 70 °C в течение 12 месяцев наблюдения.

На основе проведенных исследований было установлена оптимальная стабилизирующая среда, которая позволяет сохранить выживаемость пастерелл при сублимационном высушивании и при краткосрочном и длительном хранении препарата.

Ключевые слова: пастерелла, стабилизирующие среды, лиофилизация, жизнеспособность.

А.Б. Алиева, Д.Н. Кайсенов, Н.К. Далбаев, Т.С. Әділ,
М.М. Божбанбаева, К.Б. Баракбаев

ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМҚ,
Гвардейский қтп., Қазақстан

PASTEURELLA MULTOCIDA ARO/A ЛЮФИЛИЗАЦИЯЛАУ ЖӘНЕ САҚТАУ ҮШІН ТҮРАҚТАНДЫРУ ОРТАСЫН ТАҢДАУ

Аннотация. Жұмыста *Pasteurella multocida* Aro/A лиофилизация жасауға арналған оңтайлы қорғаушы ортаны таңдау нәтижелері келтірілген. *Pasteurella multocida* Aro/A-ны әртүрлі температуралық-уақыттық режимде (плюс 4 ± 2 , 20 ± 2 , 37 ± 1) °C 12 ай, 5 тәулік және 3 тәулік бойы, сәйкесінше минус 20, минус 70 °C температурасында 12 ай бақылауға арналған салыстырмалы тәжірибелер жүргізілді.

Жүргізілген зерттеулер негізінде сублимационды кептіруде және ұзақ мерзімде сақтауда пастереллалардың өміршеңдігін арттыратын оңтайлы қорғаушы ортасы анықталды.

Түйін сөздер: пастерелла, қорғаушы орталар, лиофилизация, өміршеңдік.

A.B. Aliyeva, D.N. Kaisenov, N.K. Dalbayev, T.S. Adil,
M.M. Bozhbanbayeva, K.B. Barakbayev

RGE "Research Institute for Biological Safety Problems" CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan

SELECTION OF STABILIZING MEDIUM FOR LYOPHILIZATION AND STORAGE OF PASTEURELLA MULTOCIDA ARO/A

Abstract. The paper presents the results of choosing the optimal stabilizing medium for lyophilization and storage of *Pasteurella multocida* Aro/A. Comparative experiments on the survival of *Pasteurella multocida* Aro/A were carried out at various temperature-time regimes (plus 4 ± 2 , 20 ± 2 , 37 ± 1) °C for 12 months, 5 days and 3 days, respectively and at a temperature of minus 20, minus 70 °C for 12 months of observation.

Based on the studies, it was found the optimal stabilizing environment, which allows you to save the survivability of *pasteurella* during freeze-drying and during short-term and long-term storage of the drug.

Keywords: *pasteurella*, protective media, lyophilization, viability.

Введение. При интенсивном ведении животноводства на крупных фермах и промышленных животноводческих комплексах повышается опасность вспышек и распространения заразных болезней, в том числе и таких, которые ранее не наносили серьезного ущерба. Среди инфекционных, опасных болезней значительное распространение имеет пастереллез. Пастереллез широко распространен во многих странах мира и наносит развитию животноводства значительный экономический ущерб. По количеству неблагополучных пунктов, заболевших и павших животных, болезнь занимает третье место после колибактериоза и сальмонеллеза [1, 2].

В комплексе мер борьбы с пастереллезом животных важное место отводится профилактическим мероприятиям. Для производства диагностических препаратов первоочередной задачей является выпуск конкурентоспособных препаратов, не уступающих по своим качественным параметрам импортным аналогам. В связи с изложенным, разработка надежных средств специфической профилактики пастереллеза является актуальным вопросом в системе противоэпизоотических мероприятий [3].

Одним из главных факторов, влияющих на жизнеспособность бактерий после лиофилизации и последующего хранения, является состав защитной среды, с которой смешивают клетки перед консервацией [4].

Практика разработки защитных сред свидетельствует, что для минимизации гибели клеток и отходов продукции по физическим свойствам состав ксеропротектора для каждого вида бактерий должен включать сбалансированный качественно и количественно набор компонентов. При этом существенное значение имеют количество клеток бактериальной суспензии, ее биологические параметры, а также характер температурного воздействия при замораживании и обезвоживании. При этом добиться улучшения структуры сухой биомассы значительно сложнее, чем получить необходимое количество живых клеток в сухом препарате [5].

Для сохранения биологической активности живых бактериальных вакцин используют стабилизирующие и протективные среды, позволяющие долговременно сохранять исходные свойства микробных клеток (м.к.) в процессе хранения, транспортировки и использования [6, 7].

В настоящее время достаточно широко применяются стабилизирующие среды для лиофилизации микроорганизмов, в состав которых входят такие компоненты, как раствор лактозы, сыворотка крови, обезжиренное молоко [8, 9], углеводы, гидролизат казеина [10], глицериновый буфер с добавлением пептона. Известна сахароза-желатиновая среда с 0,1 % агар-агара [11], но наиболее близким техническим решением к предлагаемому способу является стабилизирующие среды следующего состава: водные растворы в конечных концентрациях 1) желатина 2 %, пептона 10 % и лактозы 6 %, 2) желатина 2 % и лактозы 6 %, 3) пептона 10 % и лактозы 6 %, 4) триптон 2,5 % + сахароза 5 % + глутамат 1 %.

Целью настоящей работы является – выбор оптимальной стабилизирующей среды и изучение сохраняемости бактерии *Pasteurella multocida* Aro/A при различных температурно-временных режимах после лиофилизации и хранения.

Материалы и методы исследования. В работе использовали суточную культуру генетически измененного мутанта *Pasteurella multocida* Aro/A. Согласно с целью работы в эксперименте предстояло выяснить степень протективности различных сред при лиофильном высушивании. При этом использовали стабилизирующие среды, состоящие из пептон-лактозы (10 % - 6 %), желатин-пептон-лактозы (2 % - 10 % - 6 %), лактоза-желатин-триптон (6 % - 2 %) и триптон 2,5 % + сахароза 5 % + глутамат 1 %. Данные среды были объединены с аттенуированным штаммом в соотношении 1:1, с помощью магнитной мешалки в течение 10-15 мин при температуре (35-37) °C и были подвергнуты сублимации и заложены на хранение.

Общая продолжительность цикла высушивания не превышала 50 часов. После окончания процесса сушки в стерильных условиях проводили запаивание ампул под вакуумом.

Для изучения сохраняемости препарата со стабилизирующей средой при различных температурно-временных режимах образцы бактериального препарата закладывали на хранение при температурах плюс (4 ± 2) °C, плюс (20 ± 2) °C, (37 ± 1) °C, минус 20 °C, минус 70 °C после чего определяли их биологическую активность. Выбор оптимальной защитной среды был основан на сохранности первоначальных (исходных) показателей жизнеспособности данной культуры.

Полученные результаты исследований. Протективность использованных стабилизирующих сред оценивали по проценту живых м.к. в процессе хранения в течение 12 месяцев (срок наблюдения) к исходному. Максимальный показатель жизнеспособности культур до лиофилизации колебался в пределах 10⁹-10¹⁰ м.к.

Для определения протективного эффекта стабилизирующих сред и для оценки качества сухого препарата сразу после лиофилизации проводили сравнительное исследование по определению содержания жизнеспособности клеток. Исходная активность бактериальной массы до лиофилизации составляла (96 ± 5,6) % живых м.к., а данные, полученные после лиофилизации представлены в таблице.

Таблица – Сравнительное изучение протективного эффекта стабилизирующих сред на сохраняемость штамма *Pasteurella multocida* Aro/A после лиофилизации

Стабилизирующие среды	Биологическая активность, м.к.	Снижение активности, м.к.
Желатин – пептон - лактоза	85±4.2%	9.0±1.0
Лактоза – желатин	83±4.2%	9.0±1.0
Пептон – лактоза	94±4.8%	2.0±0.8
Триптон – сахароза – глутамат	93±4.5%	3.0±1.1

Как видно из данных таблицы видно, что для *Pasteurella multocida* Aro/A наилучшим защитным эффектом обладает стабилизирующая среда содержащая пептон и лактозу, где снижение активности в процессе лиофилизации составляла (2.0 ± 0.8) % м.к., тогда как в других образцах снизилось от (3.0 ± 1.1) до (9.0 ± 1.0) % м.к.

Выживаемость м.к. со стабилизирующей средой №3 после 3 суток при (37 ± 1) °C составила (75 ± 4.8) % (плюс 4 °C), (87 ± 6.3) % (минус 20 °C) и (92 ± 4.8) % (минус 70 °C).

Для стабилизации *Pasteurella multocida* Aro/A в процессе высушивания определяли сохраняемость лабораторных образцов бактериальной суспензии при различных температурно-временных режимах хранения. С этой целью необходимое количество высушенного материала со стабилизирующими средами закладывали на хранение в термостате при температуре (37.0 ± 0.5) °C, при комнатной температуре (20 ± 0.5) °C, при длительных сроках хранения – в условиях бытового холодильника (4 ± 2) °C, при низкотемпературных условиях минус 20 – (70.0 ± 0.5) °C.

Результаты определения биологической активности образцов вакцинных препаратов после различных сроков хранения при указанных температурах показаны в нижеприведенных диаграммах (рисунки 1-5).

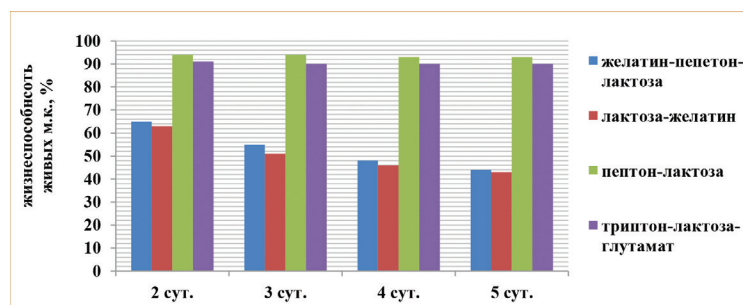


Рисунок 1 – Определение биологической активности при хранении 22 °C

Рисунок 2 – Определение биологической активности при хранении 37 °C

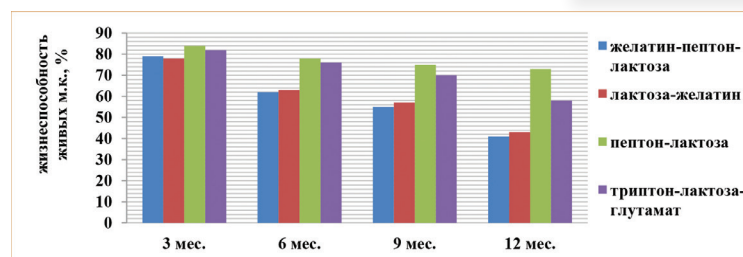
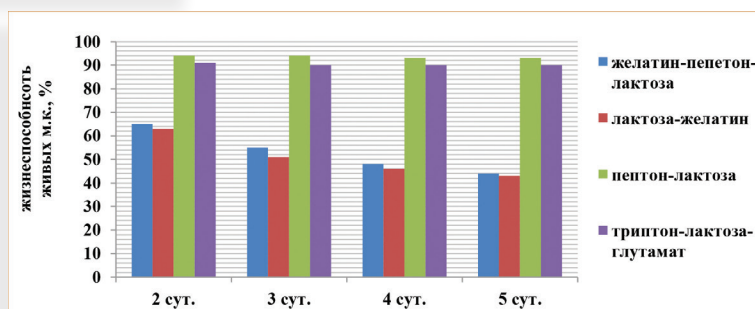


Рисунок 3 – Определение биологической активности при хранении 4 °C

Рисунок 4 – Определение биологической активности при хранении минус 20 °C

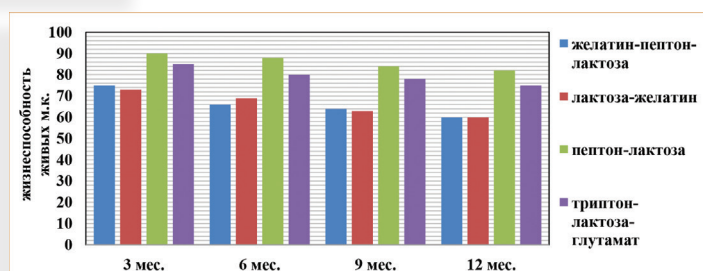
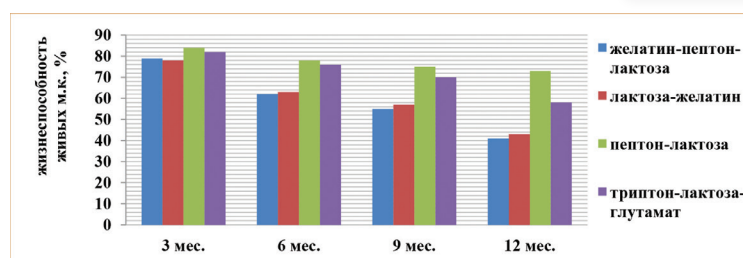


Рисунок 5 – Определение биологической активности при хранении минус 70 °C



Сравнительная оценка влияния температурных режимов на жизнеспособность пастерелл показала, что не все образцы

подтверждают свою сохранность при данных режимах. Хранение высушенных пастерелл при плюсовых температурах (22, 37) °C оказывают угнетающее действие на микробные клетки. Из данных рисунков 1 и 2, видно, что после 1-2 сут хранения уровень жизнеспособности живых м.к. упало в 2-3 раза.

По результатам рисунков 4 и 5 видно, что хранение лиофилизированных *Pasteurella multocida* Aro/A при минусовых температурах обеспечивает необходимый уровень выживаемости живых клеток до 12 месяцев, сохраняя специфические, морфологические, биохимические, генетические свойства.

Заключение. С учетом комплексной эффективности защитного действия, а также всех сопутствующих обстоятельств, в том числе экономического характера, стабилизирующая среда пептон-лактоза была признана наиболее пригодной к использованию. А также установлены, сроки хранения *Pasteurella multocida* Aro/A при температурах плюс (4 ± 2) °C, плюс (20 ± 2) °C, (37 ± 1) °C, минус 20 °C, минус 70 °C, при которых вакцинный препарат сохраняет свою биологическую активность в течение 3 сут, 5 сут и 12 месяцев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Борисенкова А.Н. Антигенная, иммунохимическая и биологическая характеристика *P. multocida* и специфическая профилактика пастереллеза птиц: дис ... док. вет. наук: Санкт-Петербург, 1998.
2. Harper M., Boyce J.D., Adler B. *Pasteurella multocida* pathogenesis: 125 years after Pasteur FEMS Microbiol Lett. – 2006. – 265. – P. 1-10.
3. Hubalek Z., Kockova Krotchvilova A. Liquid nitrogen storage of yeast cultures: 1. Survival and literature review of the preservation of fungi at ultralow temperatures // Antonie van Leeuwenhoeck. – 1978. – Vol. 44. – 2. – P. 229-234.
4. Uzunova-Donera T. Anabiosis and conservation of microorganisms // Journal of culture collections. – 2005. – Vol. 4. – P. 17-28.
5. Волков В.Я. К вопросу о физиологических и физико-химических механизмах стабильности микроорганизмов к замораживанию и высушиванию // Микробиология. – 1994. – Т. 63. – Вып. 1. – С. 5-16.
6. Heekly R.J. Preservation of bacteria by lyophilization // Advances in Applied Microbiology. – N.Y. and London: Acad. Peres, 1961. – Vol. 3. – P. 1-76.
7. Ярцев М.Я. Разработка технологии производства живых сухих вакцин против пастереллеза птиц, рожи свиней и бруцеллеза животных (экспериментальные исследования и внедрение): дис. докт. биол. наук. – М., 1990. – С. 312.
8. RU 2160992 С 1. 2000.
9. EP 0259739 A1. 1988.
10. Wessman G.E., Wessman G. Chemically defined media for *Pasteurella multocida* and *Pasteurella ureae* and a comparison their thiamine requirements with these of *Pasteurella haemolytica* // Can. J. of Microbiol. – 1970. – Vol. 16. – N 8. – P. 751-757.
11. Похиленко В.Д., Баранов А.М., Детушев К.В. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития // Медицинские науки. – 2009. - №4 (12).

УДК: 612.017:615.371:578.821.2

Ж.Т. Аманова, К.Д. Жугунисов, Ж.Б. Кондибаева, Е.А. Шаяхметов, Е.А. Булатов
ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМҚ,
Гвардейский қтп., Қазақстан, E-mail: unots@biosafety.kz

ҚОЙ КҮЛІНЕ ҚАРСЫ ЭКСПЕРИМЕНТАЛДЫ ВАКЦИНАСЫНЫҢ ҚАТЕРСІЗДІГІ МЕН ИММУНОГЕНДІЛІГІН БАҒАЛАУ

Аннотация. Мақалада қой бүйрегі жасуша линиясының клонында К-11 өсіріліп алынған қой күлі вирусына қарсы эксперименталды вакцинасының қатерсіздігі мен иммуногенділігін анықтау бойынша зерттеулердің нәтижелері көрсетілген. Вакцинаның қатерсіздігі мен иммуногенділігін зертханалық және аталған ауруға табиғи бейім жануарларда (қояндар және қойлар) тексерілді. Салмағы 13-18 г болатын қояндарға және салмағы 0,4-0,8 кг болатын қойларға қой күлі вирусына қарсы вакцинасын тері астына енгізу арқылы жүргізілген тәжірибелерде вакцинаның жануарлардың ағзасына реактивтілік және жағымсыз әсерлер тудырмайтындығы анықталды. Вакцина 6-7 айлық қойларға бұлшықетішіне егілгеннен кейін жануарларда қой күлінің клиникалық белгілерін тудырмады, сонымен қатар вакцина егілген жануарларда кемінде 3 log₂ титрлерінде вирусбейтараптаушы антиденелердің (28-ші тәулікте) пайда болуы арқылы аталған вирусқа қарсы иммунитет қалыптасты. Вакцина егілген қойлардағы қой күлі ауруына қарсы иммунитеттің жеткілікті деңгейде қалыптасуы жануарларды қой күлінің вируленттік «А» штаммымен бақылаулық зақымдаудан кейін алынған зертеулердің нәтижелермен расталады.

Түйіндей келе, жүргізілген зерттеулер нәтижесінде қой күліне қарсы эксперименталды вакцинасының қояндар мен қойлар үшін қатерсіздігі және иммуногенділігі анықталынды.

Түйін сөздер: қой күлі, жасуша өсіндісі, қатерсіздік, ареактогенділік, иммуногенділік, вирусбейтараптаушы антиденелер.

Ж.Т. Аманова, К.Д. Жугунисов, Ж.Б. Кондибаева, Е.А. Шаяхметов, Е.А. Булатов
РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК,
пгт. Гвардейский, Казахстан

ОЦЕНКА БЕЗВРЕДНОСТИ И ИММУНОГЕННОСТИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ОСПЫ ОВЕЦ

Аннотация. В статье представлены результаты исследований по изучению безвредности и иммуногенности экспериментальной вакцины против оспы овец, изготовленная из субстрата, поученного в клоне перевиваемой культуры клеток почки овцы К-11. Безопасность и иммуногенность вакцины проверяли на лабораторных и естественно-восприимчивых животных (кроликах и овцах). В экспериментах, проведенных на кроликах, массой 13-18 г и овцах, массой 0,4-0,8 кг установили, что подкожное введение вакцины против вируса оспы не вызывает реактогенности и нежелательных явлений в организме испытуемых животных. Внутримышечное

введение вакцины овцам 6-7 мес возраста, не вызывала клинических признаков оспы у овец, при этом обеспечивала формирование иммунитета против данного вируса с образованием у вакцинированных животных вируснейтрализующих антител в титрах не менее $3 \log_2$ (на 28 сут). Напряженность иммунитета против оспы у вакцинированных овец была на достаточном уровне, что подтверждено результатами контрольного заражения животных вирулентным штаммом «А» вируса оспы овец. Таким образом, на основе анализа полученных результатов установлено, что экспериментальная вакцина против оспы овец является безопасной и иммуногенной для кроликов и овец.

Ключевые слова: оспа овец, культура клеток, безвредность, реактогенность, иммуногенность.

Zh.T. Amanova, K.D. Zhugunisov, Zh.B. Kondibayeva, E.A. Shayakhmetov, E.A. Bulatov
RGE "Research Institute for Biological Safety Problems" CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan

ASSESSMENT OF SAFETY AND IMMUNOGENITY OF AN EXPERIMENTAL VACCINE AGAINST SHEEP POX

Abstract. The article presents the results of studies on the safety and immunogenicity of an experimental vaccine against sheep pox virus, made from a substrate obtained in a clone of a transplantable culture of sheep kidney cells K-11. The safety and immunogenicity of the vaccine was tested in laboratory and naturally susceptible animals (rabbits and sheep). In experiments conducted on rabbits, weighing 13-18 g and sheep, weighing 0.4-0.8 kg, it was found that subcutaneous administration of the vaccine against smallpox virus does not cause reactogenicity and adverse effects in the body of the test animals. Intramuscular inoculation of the vaccine to sheep 6-7 months age, does not cause clinical signs of smallpox in sheep, at the same time provides formation of immunity against this virus with education in vaccinated animals of virus-neutralizing antibodies in titers of at least $3 \log_2$ (for 28 day). The tense immunity against smallpox in vaccinated sheep was at a sufficient level, which is confirmed by the results of the control infection of animals with the virulent strain A of sheep pox virus. Thus, based on an analysis of the obtained results, it was found that the experimental vaccine against sheep pox is safe and immunogenic for rabbits and sheep.

Keywords: sheep pox, cell culture, safety, reactogenicity, immunogenicity, virus-neutralizing antibodies.

Введение. Анализ статистических данных по оспе среди овец за последние годы, свидетельствуют о неблагоприятной эпизоотической ситуации в мире [1, 2]. Сложившаяся ситуация по оспе овец (ОО) в мире свидетельствует о необходимости внедрения новых, а также совершенствованию и оптимизации имеющихся технологий изготовления вакцин, с использованием которых можно разработать профилактических препаратов против ОО, повышающих эффективность противоэпизоотических мероприятий. В этой связи, постоянное повышение качества вакцин и эффективности их производства, с осуществлением технического и технологического перевооружения, является главной задачей каждой производственной организации.

На сегодняшний день на рынке средств специфической защиты животных имеется широкий ассортимент аттенуированных вакцин против ОО [3-8]. Среди них по практичности технологии изготовления особое место занимают препараты, полученные культивированием в перевиваемых культурах клеток, так как облегчает технологию получения препаратов и уменьшает их себестоимость. Кроме того, использование перевиваемых культур клеток в изготовлении препаратов позволяет снизить риск контаминации с посторонними микроорганизмами [9, 10].

Учитывая строгие требования, предъявляемые к эффективности и безопасности ветеринарных препаратов, а также их качественного производства с соблюдением правил GMP, решили провести экспериментальное исследование по изготовлению вакцины из штамма «НИСХИ» вируса ОО, путем культивирования, в клоне перевиваемой культуре клеток почки овец (ПО) К-11.

Использование перевиваемой культуры клеток ПО К-11 в изготовлении вакцины даст возможность улучшить его воспроизводимость, так как, клеточный субстрат будет получен в любое время года без контаминации его посторонними микроорганизмами, что приведет к уменьшению затрат на получение промышленных серий культуры клеток и снизит себестоимость вакцины.

Известно, что при конструировании вакцины особое значение имеет и безопасность, а также иммуногенность вирусной суспензий, которая напрямую влияет на эффективность разрабатываемой вакцины. Поэтому при их определении должны осуществляться комплексные научно-практические исследования, позволяющие объективно оценить профилактические возможности разрабатываемой вакцины.

В связи с этим целью настоящей работы являлось оценка безвредности и иммуногенности экспериментальной вакцины против вируса ОО, полученного в клоне перевиваемой культуре клеток ПО К-11.

Методы исследований. Приготовление вакцины. На основе штамма «НИСХИ» приготовили вирусную суспензию ОО в клоне перевиваемой культуре клеток ПО К-11, выращенные в матрасах стационарным методом. Культуру клеток инфицировали в дозе $0,1 \text{ ТЦД}_{50}/\text{кл}$ и выдерживали при температуре 37°C в течение 1 ч, для контакта монослоя клеток с вирусом. По истечению контакта, в матрасы с культурой клеток вносили поддерживающую среду Игла-МЕМ, с содержанием 2 % инактивированной сыворотки крупного рогатого скота (КРС) и 1 % глутамина, в объеме 1/10 части матраса и помещали в термостат при $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ в течение 5-6 сут для дальнейшего культивирования вируса. Ежедневно проводили визуальный контроль под световым микроскопом для обнаружения характерных цитопатогенных изменений в монослое клеток. По достижению цитопатического действия в монослое культуры клеток на 80-90 % матрасы замораживали при минус 20°C с

последующим оттаиванием при комнатной температуре. Полученную суспензию вируса ОО с биологической активностью ($6,08 \pm 0,00$) $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ объединяли с защитной средой (пептон-сахароза 5-3 %, соответственно), охлажденный до $(4 \pm 1) ^\circ\text{C}$, в соотношении 1:1, с добавлением антибиотиков.

Содержимое сосуда тщательно перемешивали и разливали по $2,0 \text{ см}^3$ в стерильные ампулы. Затем ампулы помещали в металлические кассеты и проводили лиофилизацию в сублимационной установке. До использования ампулы с вакциной хранили при минус $20 ^\circ\text{C}$.

Определение безвредности и реактогенности вакцины. Для определения безвредности и реактогенности использовали экспериментальную вакцину, приготовленную согласно инструкции по применению вакцины против оспы овец, изготовленной в НИИПББ.

Вакцину испытывали на овцах (3 гол), кроликах (5 гол), методом подкожного введения вакцины в дозе в 100 раз превышающую иммунизирующую дозу. Овцам вакцину вводили в исходном разведении в объеме $5,0 \text{ см}^3$ ($125000 \text{ ТЦД}_{50}/\text{см}^3$), кроликам в объеме $1,0 \text{ см}^3$ ($25000 \text{ ТЦД}_{50}/\text{см}^3$). За испытанными животными вели ежедневное клиническое наблюдение, осматривая место аппликации и общее состояние животных, у овец и кроликов с измерением температуры тела в течение 14 сут.

Вакцину считали безвредной, если она не вызывала гибели овец и каких-либо клинических признаков заболевания и патологических изменений в месте инъекций у овец в течение 14 сут, у кроликов в течение 10 сут. При этом, допускается у некоторых животных (овцы) повышение температуры тела до $41,0 ^\circ\text{C}$ в течение 1-4 сут и у части (до 20 %) животных (кролики, овцы) образование на месте введения вакцины воспалительного отека в виде уплотнений (на 3-6 сут).

Определение иммуногенности вакцины. Иммуногенную активность экспериментальной вакцины изучали на овцах 6-7 мес возраста серонегативных к вирусу ОО. Из выбранного поголовья животных были сформированы 2 группы. Первую группу овец 9 гол подвергали вакцинации испытываемой вакциной; вторую группу 3 гол оставляли в качестве контроля. Иммунизацию проводили подкожно по $1,0 \text{ см}^3$ (1000 ТЦД_{50}) в область бесшерстного участка кожи (подмышечная область), обрабатывая место введения вакцины 70 % спиртом. На 7, 14 и 28 сут после введения вакцины у животных отбирали сыворотки крови для определения вируснейтрализующих антител (ВНА) к вирусу ОО в реакции нейтрализации (РН) на культуре клеток ПО К-11. РН проводили согласно методике указанной в литературе [11].

Определение эффективности вакцины на модели контрольного заражения. Через 28 сут после иммунизации вакцинированных и контрольных животных, подвергли контрольному заражению вирулентным вирусом ОО штамма «А» внутрикожно в область подхвостовой складки в дозе 1000 ИД_{50} . За инфицированными животными вели клиническое наблюдение в течение 14 сут с ежедневной термометрией тела. Эффективность иммунизации овец оценивали по способности иммунизированных животных противостоять заболеванию при контрольном заражении вирулентным вирусом.

Статистическая обработка экспериментальных данных. Полученные данные анализировали с помощью программы GraphPad Prism 6.0. Статистически значимыми считали различия при $P < 0,05$.

Основные результаты исследований. Изучение безопасности и реактогенности вакцины на животных. Установлено, что испытываемая вакцина против вируса ОО безвредна и ареактогенна для кроликов при подкожном введении в дозе 25000 ТЦД_{50} . После иммунизации экспериментальной вакциной у опытных кроликов не было отмечено, каких либо признаков отклонения от физиологической нормы в течение всего срока наблюдения (14 сут). Температура тела животных была в пределах физиологической нормы (рисунок 1А). При этом в сравнении с контрольной группой отмечены достоверные различия на 6 сут ($P < 0,002$), на 7 сут ($P < 0,0003$) и на 9 сут ($P < 0,001$) после иммунизации, которые нормализовались до конца исследований.

Испытания вакцины на овцах при подкожном введении в дозе 125000 ТЦД_{50} также показало ее безвредность. На введение вакцины у овец не наблюдались признаки отклонения от физиологической нормы, и не отмечалось повышения температуры тела в течение 14 сут (срок наблюдения). В тоже время с 6 по 11 сут после иммунизации отмечены достоверные различия между температурными показателями овец опытной и контрольной групп ($P < 0,0001$) с последующей нормализацией (рисунок 1Б), что указывает на формирования иммунитета у животных против ОО.

Следовательно, анализ полученных результатов свидетельствует о безвредности и ареактогенности экспериментальной вакцины против ОО для кроликов и овец.

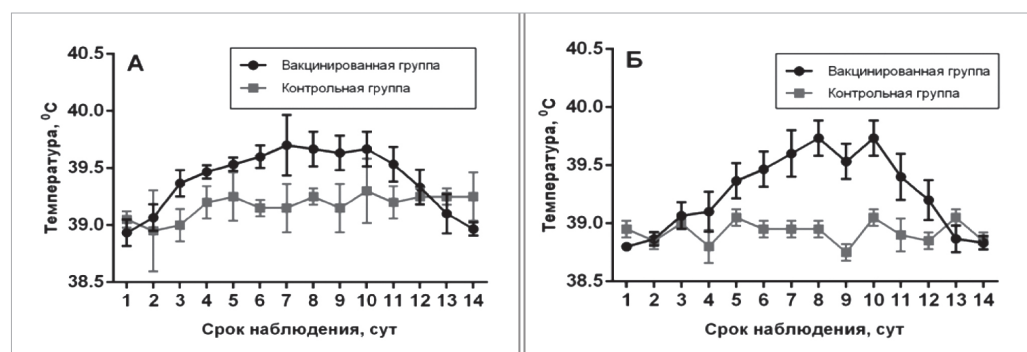


Рисунок 1 – Температуры тел животных после иммунизации экспериментальной вакциной против ОО

И з у ч е н и е иммуногенности вакцины на животных.

В результате исследований сывороток крови иммунизированных овец в РН установлено, что через 7 сут после иммунизации экспериментальной вакциной против вируса ОО титр антител составили $1 \log_2$ и выше, затем к 14

сут данный показатель увеличился до $2,3 \log_2$ и на 28 сут достиг $3 \log_2$. В крови контрольных овец не выявлялись антитела против указанной инфекции (рисунок 2). У животных в опытной группе титры антител были выше по сравнению с контрольной группой, однако они не имели достоверной разницы ($P > 0.05$). Из литературных данных [12, 13] известно, что для надежной защиты животных от ОО уровень ВНА в сыворотках крови животных должно быть не ниже $2-3 \log_2$. В этой связи, полученные результаты исследований свидетельствуют о том, что экспериментальная вакцина из штамма «НИСХИ», полученный в клоне перевиваемой культуры клеток ПО К-11, обладает достаточной антигенной активностью против эпизоотического вируса ОО.

Таким образом, анализ полученных результатов показал, что после иммунизации в сыворотках крови иммунизированных животных отмечалось наличие специфических антител к вирусу ОО достаточно высокого уровня, что указывает на высокую степень защиты животных от указанной инфекции.

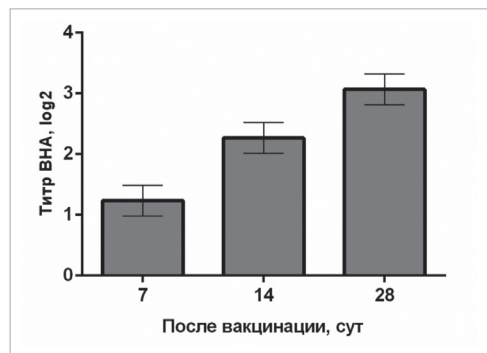


Рисунок 2 – Уровень накопления антител у иммунизированных животных против ОО

Эффективность вакцины при контрольном заражении животных. В результате контрольного заражения животные, иммунизированные экспериментальной вакциной против ОО, приобретали устойчивость к заражению вирулентным вирусом ОО штамма «А». У животных в течение всего срока наблюдения не отмечалось повышения температуры тела, не наблюдалось признаков отклонения от физиологической нормы.

У контрольной группы животных отмечали повышение температуры тела (от $40,5$ до $41,0$) °С на протяжении 3-4 сут, появление гиперемии в области паха и под лопатками, припухлости и папулы размером 5-6 см в диаметре в месте введения вирулентного вируса.

Таким образом, в результате контрольного заражения животных установлено, что испытуемая вакцина является иммуногенной для естественно-восприимчивых животных. Следовательно, анализ полученных результатов подтверждают, что экспериментальная

вакцина из штамма «НИСХИ», полученная в клоне перевиваемой культуры клеток ПО К-11, обладает иммуногенностью и эффективностью при однократной иммунизации овец.

Обсуждение полученных данных. Известно, что при выборе вакцины особое внимание обращают на безопасность препарата и длительность иммунитета у животных. В связи с этим нами были проведены работы по оценке безопасности и иммуногенности экспериментальной вакцины против оспы овец из штамма «НИСХИ», репродуцированный в клоне перевиваемой культуры клеток ПО К-11.

В доступных литературных источниках представлены работы ряда ученых, связанные с разработкой вакцины против оспы овец. Так, разработанная Бабаком В.А., Пунтус И.А., Гусев А.А., и др., вакцина, изготовлена из культуральной жидкости перевиваемой линии клеток гонады козы (3-кг), инфицированной аттенуированным вирусом оспы овец штамм «НИСХИ» (КМИЭВ - V 140). В одной иммунизирующей дозе вакцины содержится вируса оспы овец не менее $3,0 \lg \text{ТЦД}_{50}$. Вакцина вызывает формирование иммунного ответа у овец к вирусу оспы через 10-14 дней и сохраняется не менее 12 мес, вакцина безвредна и ареактогенна для овец [14].

В исследованиях Гусева А.А., Диев В.И., Курченко Ф.П., и др., вирусвакцина против оспы овец из штамма Sheep Carpiroхvirus ВНИИЗЖ, адаптированный к перевиваемой культуре клеток гонад *Capra hircus* L. при подкожном введении штамм в дозе 1000ТЦД_{50} создает стойкий иммунитет у привитых овец на 4-5 день после вакцинации продолжительностью 12 мес.

Очередная вакцина против ОО создана и производится в Армавирской биофабрике Российской Федерации. Вакцина изготовлена из культуральной жидкости, содержащей вирус ОО, штамм «ВНИИЗЖ», репродуцированный в перевиваемой культуре клеток гонад козы Ch-91. Вирусвакцина вызывает формирование иммунного ответа у привитых овец против оспы через 5 сут, после вакцинации и сохраняется не менее 12 мес [15].

Классическая живая аттенуированная вакцина против ОО была изготовлена индийскими учеными V. Bhanuprakash, B.K. Indrani, R. Hegde, M.M. Kumar и A.R.S. Moorthy с использованием штамма Ranipet (SPV-R) вируса оспы овец, репродуцированный в перевиваемой культуре клеток тестикулы ягненка SLT. живая аттенуированная вакцина из штамма SPV-R оказалось безвредной, иммуногенной и 100 % защищала вакцинированных животных от вирулентного заражения.

Следовательно, полученные нами экспериментальные данные, по оценке безопасности и ареактогенности экспериментальной вакцины на лабораторных животных (кроликах) и естественно-восприимчивых животных (овцах), также продемонстрировали полную безопасность и ареактогенность вакцины для кроликов и овец. Дальнейшие испытания экспериментальной вакцины на кроликах показало возможность этой вакцины формировать у овец клиническую и вирусологическую защиту от внутрикожного заражения вирулентным штаммом «А» вируса ОО в дозе 1000ИД_{50} в течение 14 сут.

Таким образом, экспериментальная вакцина против ОО из штамма «НИСХИ», репродуцированный в клоне перевиваемой культуры клеток ПО К-11 по безопасности и иммуногенности, не уступает аналогичным вакцинам против оспы овец.

Заключение. На основании анализа проведенных исследований по изучению безвредности и иммуногенности экспериментальной вакцины из штамма «НИСХИ» вируса ОО, полученная в клоне культуры клеток ПО К-11 установлено, что вакцина, обладает высокой иммуногенностью, безвредностью, ареактогенностью и обеспечивает защиту животных от данной инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Эпизоотическая ситуация в мире по данным Международного эпизоотического бюро. – 2019. <https://www.fsvps.ru/fsvps/iac/foreign.html> (дата обращения: 10.02.2020).
2. Официальный сайт Международного эпизоотического бюро. – 2019. – URL: www.oie.int/eng/info (дата обращения: 10.02.2020).
3. Yogisharadhya R., Bhanuprakash V., Hosamani M., Venkatesan G., Balamurugan V., Bora D.P., Bhanot V., Prabhu M., Singh R.K. Comparative efficacy of live replicating sheep pox vaccine strains in Ovines. - Biologicals. – 2011. – 39. - P. 417-423.
4. Bhanuprakash V., Indrani B.K., Hegde R., Kumar M.M., Moorthy A.R.S. A classical live attenuated vaccine for sheep pox // Trop Anim Health Prod. – 2004. – 36. – P. 307-320.
5. Achour H.A., Bouguedour R., Bouhbal A., Guechtouli A., Aouissat M. Comparative study of the immunizing ability of some attenuated strains of sheep pox virus and of a sensitizing vaccine // Rev Sci Tech. – 2000. – 19. – P. 773-783.
6. Способ получения вакцины против оспы овец [Текст]: пат. 2138291 С1 Рос. Федерация: МПК⁶ А61К39/275, С12Н5/00, С12Н7/00/ Балышев В.М., Башаев В.В., Жестерев В.И., Вишняков И.Ф., Горшкова Т.Ф., Щетникова Л.А., Исакова Н.Б., Юрков С.Г.; заявитель и патентообладатель Покров, «ВНИИВВиМ»; заявл. 30.03.1998; опубл. 27.09.1999, Бюл. № 18.
7. Вакцина против оспы овец [Текст]: пат. 2121366 С1 Рос. Федерация: А61К39/275, С12Н7/00, С12Н5/00, С12Н5/02/ Гусев А.А., Диев В.И., Курченко Ф.П., Иванющенко В.Н., Соколов Л.Н., Куляшбекова Ш.К., Захаров В.М.; заявитель и патентообладатель Владимир, ФГУ «ВНИИЗЖ»; заявл. 24.06.1997; опубл. 10.11.1998, Бюл. № 31.
8. Сухая культуральная вирус-вакцина ассоциированная против оспы овец и оспы коз [Текст]: пат. 2403064 С1 Рос. Федерация, МПК⁷ А 61 К 39/295, А 61 Р 31/12/ Диев В.И., Захаров В.М., Мороз Н. В., Кукушкина М.С.; заявитель и патентообладатель Владимир, ФГУ «ВНИИЗЖ»; заявл. 21.04.09; опубл. 10.11.10, Бюл. № 31.
9. Цыренов В.Ж. Основы биотехнологии: культивирование клеток человека и животных: учеб.-метод. пособие. Улан-Удэ: Изд-во «ВСГТУ», 2005. 48 с.
10. Майхин К.Т. Технология изготовления вакцины против оспы овец из аттенуированного штамма с использованием перевиваемой культуры клеток: автореф. дис ... канд. вет. наук. Алматы, 2003. 97 с.
11. Сюрин В.Н. Руководство по ветеринарной вирусологии. - М.: Изд-во «Колос», 1965. 687 с.
12. Иванющенко В.Н., Кекух В.Г., Кореба О.А. Реактогенные и иммуногенные свойства вирусвакцины против оспы овец из штамма НИСХИ // Ветеринария. 1990. №7. С. 28-30.
13. Кореба О.А. Биологические свойства штаммов вируса оспы овец: дис ... канд. вет. наук: 03.00.06. – Гвардейский, 1984. 188 с. – Библиогр.: с. 132-188.
14. Бабаком В.А., Пунтус И.А., Гусев А.А., Згировская А.А., Ломако Ю.В. Конструирование вакцины живой лиофилизированной для специфической профилактики оспы овец // Ветеринария. – 2013. - № 20. – С. 3-10.
15. Диев В.И., Константинов А.В., Басова Д.К. Иммуногенные свойства вакцины против оспы овец из штамма «ВНИИЗЖ» // Труды федерального центра охраны здоровья животных. 2012. - № 1. С. 230-237.

ӘӨЖ 619:616 - 091 (07)

С.Е. Ермағамбетова, А.С. Ибажанова, Қ. Амангелді
Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Алматы қаласы, Қазақстан

ҚОЗЫ САЛЬМОНЕЛЛЕЗІНІҢ ПАТОЛОГИЯЛЫҚ МОРФОЛОГИЯСЫ

Анотация. Бұл ғылыми мақалада, Қарағанды облысына қарасты «Боранқұл» шаруашылығындағы қойларда туындаған сальмонеллез кезіндегі негізгі клиникалық белгілер, ішкі мүшелердің патологиялық морфологиясы және бактериологиялық зерттеу нәтижесі келтірілген. Зерттей келе, ауруға тән негізгі патоморфологиялық өзгерістер, жалпы сарғаюмен, геморрагиялық диатезбен, қатарлы ойылымды гастритпен, қатарлы энтероколитпен, бауыр мен бүйректің дистрофиясы және некрозымен, өкпенің гиперемиясы және қанталауымен, жалпы анемиямен көрінеді.

Түйін сөздер: қой, патоморфология, патогистология, сальмонеллез, бактериология, клиникалық белгілер.

С.Е. Ермағамбетова, А.С. Ибажанова, К. Амангельды
Казахский национальный аграрный университет, Алматы, Казахстан

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ МОРФОЛОГИЯ САЛЬМОНЕЛЛЕЗА ЯГНЯТ

Аннотация. В данной статье представлены основные клинические признаки, патологическая морфология внутренних органов и результаты бактериологического исследования сальмонеллеза овец в хозяйстве «Боранкул» Карагандинской области. При исследовании характерны основные патоморфологические изменения, проявляются общей желтухой, геморрагическим диатезом, катарным выемочным гастритом, катарным энтероколитом, дистрофией и некрозом печени и почек, гиперемией и кровотечением легких, общей анемией.

Ключевые слова: овцы, патоморфология, патогистология, сальмонеллез, бактериология, клинические признаки.

S.E. Ermagambetova, A.S. Ibazhanova, K. Amangeldy
Kazakh national agrarian University, Almaty, Kazakhstan

PATHOLOGICAL MORPHOLOGY OF SALMONELLOSIS IN LAMBS

Annotation. This article presents the main clinical signs, pathological morphology of internal organs and the results of bacteriological research of salmonellosis of sheep in the «Borankul» farm of the Karaganda region. In the study, the main pathomorphological changes are characterized by general jaundice, hemorrhagic diathesis, catarrhal recess gastritis, catarrhal enterocolitis, dystrophy and necrosis of the liver and kidneys, hyperemia and bleeding of the lungs, and general anemia.

Keywords: sheep, pathomorphology, pathohistology, salmonellosis, bacteriology, clinical signs.

Кіріспе. Қой шаруашылығы мал шаруашылығының ішінде ең өнімді саласы болып табылады, сондықтан оның жан-жақты дамуына бірінші дәрежелі мән беріледі. Шектеулі аумақта мал басының жоғары шоғырлануын құру шаруашылықты инфекцияның әкелінуінен қорғауға және туындаған кезде тез жоюға бағытталған шараларды қатаң сақтауды талап етеді. Қойдың жұқпалы ауруларының бірі саналатын сальмонеллез қазіргі уақытта елімізде жиі тіркелуде [1].

Жекелеген аурулардың, соның ішінде сальмонеллездің эпизоотиясына қарсы іс-шаралар жоспарларында вакцинопрофилактика жүргізу жұмыстары міндетті шаралар қатарына жатпайды [2].

Сонымен қатар, жануарлар төлдегеннен сәттен бастап сойғанға дейін әртүрлі жағдайларға ұшырайды, олардың табиғи төзімділігін едәуір әлсіретеді, бұл сальмонеллезбен тез қайта зарарлауға, ағзадағы сальмонеллалардың бейімделуіне және көбеюіне, кейіннен сыртқы ортаға бөлінуіне ықпал етеді.

Қой сальмонеллезі – асқазан-ішек жолында және басқа мүшелерде сальмонелла бактерияларының көбеюі нәтижесінде пайда болатын жұқпалы бактериялық ауру [3]. Бүкіл әлемде 2200-нан астам сальмонелл серотипі бар. Қой отарының 2 %-ға жуығы бұл аурудың қоздырушысын тасымалдаушы бола алады, әрі оны отар арқылы тарата алады [4].

Сальмонеллалар торшаішілік факультативтік патогендер болып табылады, олар тамақ өнеркәсібі үшін үлкен қауіп төндіреді, өйткені олар әдетте өсіп келе жатқан қоршаған орта жағдайларына бейімделуге қабілетті.

Ауру көрінісінің латенттік түрінің болуына байланысты бактерия тасымалдаушыларды анықтау мәселесі бұрынғысынша өзекті болып қалуда.

Әдетте, табиғи-климаттық, шаруашылық-экономикалық және әлеуметтік аспектілер ескерілмейді. Аумақтарды эпизоотологиялық аудандастыру және жоғарыда аталған факторларды ескере отырып, күрес шараларын саралау жүргізілмейді [5].

Сальмонеллез проблемасына кешенді көзқарас ғана жануарлардың ауруын және адамдар арасында тағамдық токсикоинфекциялардың пайда болу қаупін айтарлықтай төмендетуге мүмкіндік береді. Өлексені сойып зерттеу – қысқа мерзімде диагноз қоюға мүмкіндік береді, әрі бұл – мал басы көп шаруашылықтар үшін өте маңызды [6]. Дер кезінде және дұрыс қойылған диагноз тиісті эпизоотияға қарсы, емдеу-алдын алу және ветеринариялық-санитариялық іс-шараларды тез өткізуге және сол арқылы жануарлардың одан әрі өлуінің алдын алуға, экономикалық шығындарды қысқартуға мүмкіндік береді [7].

Зерттеу материалдары мен әдістері. Ғылыми зерттеу жұмысы Қазақ Ұлттық аграрлық университетінің «Биологиялық қауіпсіздік» және «Микробиология, вирусология және иммунология» кафедраларында, Қарағанды облысына қарасты «Боранқұл» жеке малшаруашылығында орындалды. Зерттеуге аурудан өлген 7 қозы өлексесі, ішкі мүшелерден алынған патологиялық материалдар қолданылды. Аурудың клиникалық белгілерін зерттеу үшін, мал күтушісінен және малдәрігерден анамнездік деректер алынды. Бактериологиялық зерттеуге патологиялық материалдан паренхималық мүшелерден, мезентериалды лимфа түйіндерінен, түтікшелі сүйек кемігінен (миынан) және ащы ішектің құрамынан ет-пептон сорпасына, ет-пептон агарына, Китт-Тароцци, Эндо және Плоскирев агарларында егу жүргізілді. 37 °C температурада термостатта 24 сағаттық өңдеуден кейін колониялар өсуінің сипаты зерттелді, жағындылар дайындалып Грам әдістерімен бояды.

Бөліп алғанған өсімдіктердің тинкториальды, культуральды қасиеттері микробиологияда жалпы қабылданған әдістермен зерттелді. Бұл жағдайда ет-пептон сорпасында, ет-пептон агарында, Китт-Тароцци, элективті Эндо, Плоскирев агарында өсу қасиеттері ескерілді. Ішкі мүшелерді және ішектің ішіндегісін зерттеу үшін, әр мүшеден жеке пипеткалармен себінді жасап, ал кесілген мүше кесекшелерінен жағынды дайындадық. Ол үшін майсыздандырылған стерилды заттық шыныға мүше кесекшесін тақап, қанның және мүшенің жағындысын метил спиртімен бекітіп, бояп, микроскоппен зерттедік. Сальмонеллалар штамдарының идентификациясын Курск биофабрикасында өндірген типті спецификалық агглютинирлеуші қан сарысуы жиынтығы көмегімен жүргіздік (№1,2 жинтық). «Сальмонелланың диагностикалық адсорбцияланған О-поливалентті сарысуы агглютинация реакциясы үшін» сальмонелла тұқымдас бактерияларының идентификациясын заттық әйнкете агглютинация реакциясын қою арқылы анықтадық (№1 жинтық). Содан соң О- және Н-агглютиндеуші сальмонелла монорецепторларлы сарысулары (№2 жинтық) арқылы анықтадық. Агглютинация реакциясын нұсқауға сәйкес орындадық.

Қозы өлекселерін Шор Г.В. ұсынған әдіспен сойып-зерттедік, яғни ішкі мүшелерді толық эвицерациялау жолымен жүргізілді [8].

Бұл әдіс, техникалық жағынан алғанда мойын, көкірек, құрсақ және жамбас қуысындағы мүшелерді бүтіндей кешенді түрде шығарып алуға негізделген. Көкірек, құрсақ қуыстарының сірлі қабықтарының күйін және ішкі мүшелердің орналасқан орнын жан-жақты және мұқият қарап шыққаннан кейін, әр мүшені басқа көршілес орналасқан мүшелермен жалғасқан күйінде зерттедік. Әр қозының ішкі мүшелеріндегі патоморфологиялық өзгерістері туралы хаттамалар толтырылды. Барлық сойып-зерттелген қозы өлекселерінің ішкі мүшелерінен гистологиялық зерттеу жүргізу үшін, көлемі 0,5-1 см болатындай кесекшелер алынды. Ішек бөлімдерінің зақымдану дәрежесін анықтау үшін әрбір ішек бөлімдерінің 3 жерінен (басы, ортасы, соңы) бөлімдерінен кесінді алынды.

Алынған патологиялық материалдар Г.А.Меркуловтың әдістемелігіне сәйкес бейтараптандырылған 10 % формалиннің судағы ерітіндісіне салынып 24 сағат бекітілді. Ал терең гистохимиялық зерттеулер жүргізу үшін күрделі ерітінділерде (Карнуа, спирт-формалин) бекітілді.

Патматериалды сусыздандыру үшін 60°, 70°, 80°, 90°, 96°1, 96° спиртте бір-бір тәуліктен ұстадық. Тиісті өңдеуден кейін мүшелердің бекітілген кесекшелері парафинде нығыздалып, ERM 3100 жартылай автоматтандырылған микротомда 5-7 мкм қалыңдықтағы сериялық ультра жұқа кесінділер алынды. Мүшелердегі жалпы өзгерістерге шолу жүргізу үшін гематоксилин-эозин; Ван-Гизон; Азур-эозин бояуларын пайдаландық [9].

Гистологиялық кесінділерді зерттеу кезінде өзгеріске ұшыраған мүшелердің зақымдану динамикасына және олардың ұлпа компоненттерінің құрамына көңіл аудардық. Мысалы, ішекті зерттеген кезде, әрбір ішек бөлімдері қабаттарының зақымдану дәрежесін анықтап, ондағы торшалық элементтердің сандық дәрежесін сау қозылармен салыстырдық, сондай -ақ қан тамырлар реакциясына назар аудардық.

Гистопрепараттар жарықтық микроскоптарда (МБИ -15, МБР, PZO (Warszawa) әртүрлі үлкейтулерде зерттелінді.

Гистопрепараттарды талдау нәтижелері журналға толтырылды. Микрофотографиялар KARL ZEISS микроскопында цифрлы фотоаппаратқа түсірілді. Сонымен қатар, микросуреттер «Лейка» ДМЛС Германия және Австрия елдерінде бірігіп құрастырылған микроскоп арқылы түсірілді.

Зерттеу нәтижелері. Ауруға тән негізгі клиникалық белгілер анамнездік зерттеулерді талдай келе жүргізілді. Шаруашылық малдәрігерінің және шопанның айтуы бойынша, негізінен 4-6 айлық қозыларда аурудың белгілері байқалған. Барлық ауырған қозыларда дене температурасының жоғарылауы, тәбеттің төмендеуі және жүрудің қиындауы ең тұрақты белгілері болып табылған. Ауырған 18 қозының 7-де іш өту (диарея), 4 қозыда мұрыннан серозды-шырыштың ағуы және жөтел, ал 5 қозыда катаральды пневмония және артрит белгілері байқалған (1-кесте).

1-кесте – Аурудың клиникалық белгілер жиілігі

Шаруашылық атауы	Ауырған жалпы мал басы	Аурудан өлгені	Ауырған қозылардағы клиникалық белгілер (мал басы саны)				
			Іш өту	Дене t° көтерілуі	Жүрудің қиындауы	Артрит	Диарея
«Боранқұл»	18	7	18	18	18	5	7

1-ші кестеде келтірілгендей, шаруашылықта жалпы 18 қозы ауырса, іш өту, дене температурасының көтерілуі, жүрудің қиындауы барлық қозыларда байқалды, яғни 100,0 %, ал артрит белгісі 27,7 %, диарея 38,8 % көрсеткіште болды.

Бактериологиялық зертеулер нәтижесі. Морфологиялық және тинкториальдық қасиеттері бойынша барлық өсінділер өз тұқымға тән сипаттамаларға ие болды (2-кесте).

2-кесте – Ауру және өлген қозылардан оқшауланған дақылдарды анықтау

Қандай жануарлардан бөліп алынған өсінділер	Зерттелген өсінділердің саны	Зерттеу нәтижесі			
		<i>Salmonella</i>	<i>Escherichia</i>	<i>Streptococcus</i>	<i>Proteus</i>
Ауру және өлген қозылардан алынған	35	19	7	5	4
Барлығы	35	19	7	5	4

Зерттеу барысында 2-ші кестеде көрсетілгендей 35 культура бөліп алынды, оның ішінде 19- өсінді *Salmonella*, 7- өсінді *Escherichia*, 5- өсінді *Streptococcus (Diplococcus)* және 4- өсінді *Proteus* тұқымындарына жататыны анықталды. Сальмонелла – қысқаша таяқша (1-4 x 5 мкм), ұштары жұмыр, Грам-теріс, кейбір варианттарында жіпшелері бар, қозғала алады, спора, капсула түзбейді, аэробтар. ет-пептон сорпасында, ет-пептон агарында және Эндо орталарында өсінділер жақсы өседі.

Ет-пептон агарында барлық культуралар тегіс жиектері бар, сұрғылт-көгілдір түсті, Эндо ортада дөңгелек колониялар құрды, колониялар мөлдір қызғылт түсті, Плоскирев ортада лактазасыз *salmonella* колониялары түссіз болып қалады.

Ет-пептон сорпасында, ортаның қарқынды бұлдырлығы және түтіктің түбінде сұр-ақ тұнба пайда болды. Барлық зерттелген культуралар глюкоза, мальтоза, маннитол ферменттейді, ал лактоза мен сахарозаны ыдыратпады. Көмірсулардың басқа түрлеріне (арабиноза, ксилоза, рамноза, дульцит және т.б.) қатысты культуралар әр түрлі ферменттік белсенділік көрсетті.

Морфологиялық, тинкториальдық, культуралдық және биохимиялық қасиеттері бойынша зерттегеннен кейін, сальмонеллалар штамдарының идентификациясын Курск биокофабрика өндірген типті спецификалық агглютинирлеуші қан сарысуы жиынтығы көмегімен жүргіздік, сальмонелла дақылдары 0-поливалентті, 0- және Н-монорецепторлық сарысулармен зерттедік. Нәтижесінде өлі және ауру қозылардан, оқшауланған 19 сальмонелла дақылдарының ішінен 12 сальмонелла дақылдары *S. abortus ovis*, 3 – *S. dublin*, 5 – *S. typhimurium* типтеріне жататыны анықталды.

Эшерихия тұқымының өкілдері – дөңгелек, полиморфты, бір-бірінен сирек орналасады, Грам-теріс, споралар мен капсулалар түзілмейді. Ет-пептон ағарында барлық өсінділер көгілдір немесе сұрғылт түсті, беті тегіс, дөңгелек, тегіс жиегі бар мөлдір колонияларды құрады. Ет-пептон сорпасында өсуімен ортаның біркелкі бұлдырлығы байқалды, шайқалған кезде оңай ыдырайтын ақшыл тұнба пайда болды, зерттелген дақылдардың 95 % жылжымалы болды. Эндо элективті ортада культуралар негізінен дөңгелек, тегіс жиегі және тегіс бетті колонияның, негізінен қызыл түсті – металл жарқырауы бар немесе онсыз қызыл түсті; кейде қызыл орталығы бар қызғылт колониялар табылды. Плоскирев ортаның дифференциалдық қасиеті, құрамындағы лактозаның қышқыл өнімдерін бөліну кезінде рН өзгеруіне негізделген, *E. coli* культурасының құрамында лактоза бар, сондықтан мұндай колониялар қызыл бейтарап индикатордың арқасында таңқурай түсіне ие – (қызыл бейтарап индикатор). Глюкоза, мальтоза, лактоза, сахароза, маннитол, салицин бар ортада қышқыл мен газдың немесе тек қышқылдың пайда болуы байқалды. Арабинозды, ксиллозды, рамнозаны ферменттемейді.

Патоморфологиялық зерттеулер нәтижесі. Өлген қозылардың 3-де ауру жіті өткендігі, қалған 5-де созылмалы өткені анықталғаннан кейін, ішкі мүшелерді анықтау барысында мынадай өзгерістердің болғандығына көз жеткіздік (сурет 1). Жіті өткен қозыларда: құрсақ және көкірек қуыстарында аздаған трансудат болды (сурет 2). Паренхималық мүшелерде нүктелі және дақты қанталаулар байқалды.

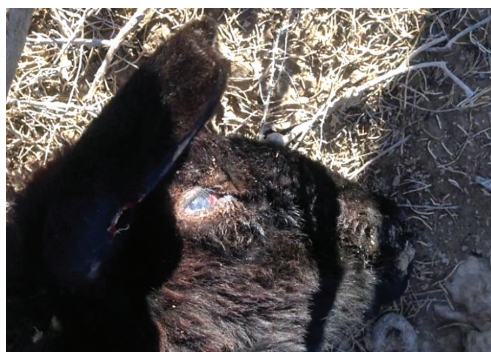
Көкбауыр бірнеше есе ұлғайған, консистенциясы жұмсарып, қара-қызыл тартқан ұлпасы мол қырынды береді, фолликулдары мен трабекулаларының суреті анық емес.

Аш ішек қатарлы қабынып, кілегейлі қабық дақты-жолақты қанталаған, ісінген. Мықын ішек фибринді қабынған. Сонымен қатар, ұлтабар да жіті қатарлы қабынған, тік ішектің жолақты қызарған кілегейлі қабығы қанталаған. Шажырқайлық лимфалық түйіндер ұлғайып, қызарған, тілік беті мол ылғалды, қанталаулар бар. Бауыр қанға толған, дистрофияға ұшырап, ісінген, түсі көкшіл. Бүйректің сыртқы қабатында сұрғылт-ақшыл түсті, көлемі көкнәр тұқымындай, шектелмеген интерстицийлік продуктивтік қабыну ошақтары болды. Өкпе гиперемия сипатында, домбыққан өкпеде бірен-саран лобулярлық қабыну ошақтары байқалды. Жүрек еті дистрофияға ұшырап сұрғылт тартқан.

Ауру созылмалы өткен қозылардың ішкі мүшелерінде өкпенің қабынуымен сипатталды. Серозды-қатарлы лобулярлық пневмониямен, қатарлы бронхопневмониямен және фибринді пневмониямен байқалды. Қабынған бөліктері ұлғайған, сұрғылт-қызыл түсті, нығыз болды. Плевраның тікелей астында және паренхима тереңінде үлкенді-кішілі іріңдіктер мен некроздар орын алған. Талақтың қызыл ұлпасында лимфоциттер, плазмоциттер топырлары недәуір мол болды, сойып зерттегенде ылғалды қабықтардың сарғайғаны, ішек пен ұлтабардың қатарлы қабынғаны, бауырдың ұлғайып, біршама сарғайғаны, онда көптеген сұрғылт түсті, тарының, көкнәрдің дәніндей түйіршіктердің пайда болғаны байқалды.

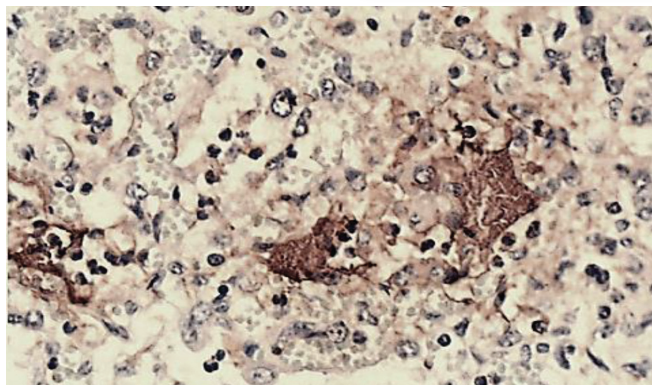
Ішек фолликулдары ұлғайып, айқын көрінеді, тілік бетінде сұрғылт-қызыл түсті, мол ылғалды болды. Шажырқайлық лимфалық түйіндерде ұлғайған, барлық паренхималық мүшелер дистрофия сипатында. Тізе және тілерсек буындары серозды-фибринді қабынған.

Гистологиялық өзгерістер. Лимфалық түйіндер мен талақта лимфоциттер азайып, фолликулдар кішірейген, ретикулалық ұлпа домбығу сұйығымен кеуленген. Бауыр мен талақтың эритроциттермен лық толған қылтамырлары мен синусоидтарында сладж құбылысы, фибринді, эритроцитарлы, гиалинді, аралас майда тромбтар байқалды. Бауырдың, бүйректің, миокардтың паренхималық торшалары дистрофияға ұшырап, өзгерген. Аш ішектің кілегейлі қабығының меншікті қабытында мезенхималық торшалар молайып, жайыла орналасып, кей жерде кіріңкілерді бүлдіріп, жойып жіберген. Бауырдағы түйіншектерді зерттеу барысында «сальмонелездік түйіншіктер» сипатында екеңіне көз жеткіздік (3-сурет).



Сурет 1 –
Сальмонеллезден
өлген қозы өлексесі

Сурет 2 – Құрсақ және көкірек қуыстарындағы трансудат және асқорыту жолдарының қабынуы



Сурет 3 – Бауырдағы «Сальмонеллездік түйіншіктер» Г-Эх400

Алынған деректерді талқылау. Сонымен, сальмонеллез (*Salmonellosis*) – қызба және ішек қызметінің бұзылуымен, созылмалы жағдайда – өкпенің қабынуымен сипатталатын жұқпалы ауру. Біздің жұмысымызда келтірілген деректерден Қазақ ұлттық аграрлық университетінің «Биологиялық қауіпсіздік», «Микробиология және вирусология» кафедраларында жүргізілген постмортальдік патологиялық-морфологиялық және бактериологиялық диагностикалық зерттеулер нәтижесінде Қарағанды облысы «Боранкүл» шаруашылығында алғаш рет қозылар арасында сальмонеллез ауруы анықталды. Біздің зерттеу объектіміз болған 4-6 айлық қозыларда аурудың клиникалық белгілері негізінен іш өту, дене температурасының көтерілуі, жүрудің қиындауы, тәбеттің төмендеуі, артрит түрлерінде білінді. А.А.

Конопаткин (1993) Қ. Бияшев (2010) әдеби деректерінде осыны айтады, яғни аурудың өту ағымы қай түрде болмасын: клиникалық белгілер гастроэнтероколитті формасына сәйкес келеді.

Біздің қол жеткізген деректеріміз, бактериялардың биологиялық қасиеттерін зерттеген кезде, нәтижесінде өлі және ауру қозылардан, оқшауланған 19 сальмонелла дақылдарының ішінен 12 сальмонелла дақылдары *S. abortus ovis*, 3 – *S. dublin*, 5 – *S. typhimurium* типтеріне жататыны анықталды.

Қорытынды. Сальмонеллезге шалдыққан қозылар организмінде қоздырушының әрекетінен туындайтын құрылымдық өзгерістер ас қорыту жолдарында айқын білінетін айғақтайды. Пато-гистологиялық зерттеу нәтижесінде: лимфа түйіндерінің серозды қабынуы; көкбауырда ұлғайулар мен қабық астында қан құйылған ошақтар; Асқазанның жіті қатарлы, геморрагиялық қабынуы; Аш ішекте қатарлы қабынуы, тоқ ішекте фибринді қабыну, бүйрек, жүректің түйіршікті дистрофиясы, бауырда некроз ошақтарының пайда болуы, өкпенің домбығуы мен жіті веналық гиперемиясы зерттелген барлық қозыларда анықталды. Гистопатологиялық зерттеу париеталды және висцералды плевра фибриннің айқын шөгіндісімен байланыстырылған дегенеративті нейтрофилдерден тұратын диффузды және ауыр қабыну инфильтраты есебінен ұлғайғанын көрсетті.

ӘДЕБИЕТ

1. Ибажанова А.С., Нұрғазы Б.Ө, Кенжебекова Ж.Ж. Жылқы сальмонеллезінің патологиялық морфологиясы // Сборник международной научной конференции «Инновационное развитие и востребованность науки в современном Казахстане», Фонд науки Президента Республики Казахстан – лидера нации. - Алматы, 2014. Ч. I. – С. 215-220.
2. Shane Besier. Salmonellosis of sheep // Agriculture and Food. Friday, 7 September 2018. – 2018.
3. Бияшев Б.К., Ермагамбетова С.Е., Арзымбетов Д.Е., Жумашева Ж. Характеристика микрофлоры, выделенных от новорожденных животных, больных желудочно-кишечными заболеваниями // Исследования результаты. – 2009. – № 4.
4. Омаров М.О., Матвиенко Б.А. Профилактика сальмонеллезов – важная ветеринарная и медико-биологическая проблема // Вестник с/х. наук Казахстана. – 1990. – № 5. – С.78-80.
5. Жаров А.В. Патологическая анатомия болезней сельскохозяйственных животных. – М.: 2004. – С. 118-122.
6. Ығылманұлы Ө. Ветеринариялық патологиялық анатомия. – Алматы, 2010. – 148. – 151 б.
7. Ермагамбетова С.Е., Киркимбаева Ж.С., Жумашева Ж. Патогенные свойства культур эшерихии, выделенные от новорожденных животных // Вестник с-х науки. – 2009. – № 11. – С. 19-21.
8. Меркулов Г.А. Гистологическая техника. – М.: 1969. – 350 с.
9. Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. – М.: Мир, 1969. – 467 с.

Б.А. Еспембетов, Н.Н. Зинина, М.К. Сармыкова, Н.С. Сырым, О.В. Червякова
РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, нгт.
Гвардейский, Казахстан, E-mail: unots@biosafety.kz

РЕЗУЛЬТАТЫ ИЗУЧЕНИЯ ЭПИЗООТИЧЕСКОЙ КУЛЬТУРЫ *STREPTOCOCCUS EQUI*, ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ ПАТОЛОГИЧЕСКОГО МАТЕРИАЛА ЖЕРЕБЕНКА

Аннотация. В данной статье представлены результаты биологических свойств эпизоотической культуры *Streptococcus equi*, выделенной из патологического материала у лошадей.

Ключевые слова: мыт, изолят, культивирование, морфология, *Streptococcus equi*.

Б.А. Еспембетов, Н.Н. Зинина, М.К. Сармыкова, Н.С. Сырым, О.В. Червякова
ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМК,
Гвардейский қтп., Қазақстан

ҚҰЛЫННЫҢ ПАТОЛОГИЯЛЫҚ МАТЕРИАЛЫНАН БӨЛІП АЛЫНҒАН *STREPTOCOCCUS EQUI* ЭПИЗООТИЯЛЫҚ ӨСІНДІСІНІҢ БИОЛОГИЯЛЫҚ ЖӘНЕ МОЛЕКУЛАЛЫҚ-ГЕНЕТИКАЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІН ЗЕРТТЕУ НӘТИЖЕЛЕРІ

Аннотация. Бұл мақалада жылқы төлінен патологиялық материалдан бөлініп алған эпизоотиялық культураның *Streptococcus equi* биологиялық қасиеттерінің нәтижелері көрсетілген.

Түйін сөздер: сақау, изолят, өсіру, морфологиясы, *Streptococcus equi*.

Б.А. Espembetov, N.N. Zinina, M.K. Sarmykova, N.S. Syrym, O.V. Chervyakova
RGE "Research Institute for Biological Safety Problems" CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan

RESULTS OF STUDY OF EPIZOOTIC CULTURE OF *STREPTOCOCCUS EQUI* ISOLATED FROM THE PATHOLOGICAL MATERIAL OF YOUNG HORSE

Abstract. The article presents the results of a study of the biological properties of the epizootic culture of *Streptococcus equi* isolated from pathological material of young horses.

Keywords: strangles, isolate, cultivation, morphology, *Streptococcus equi*.

Введение. Коневодство в Казахстане традиционная отрасль и по данным Министерства сельского хозяйства Республики Казахстана на декабрь 2019 года насчитывается поголовье 2 миллиона 708 тысяч 609 голов лошадей. Интенсивное развитие коневодства в республике выдвигает на первый план меры борьбы с факторами, сдерживающими развитие этой отрасли. Одним из этих факторов является инфекционное заболевание – мыт лошадей, занимающий 72 % в инфекционной патологии всех заболеваний [1].

Мыт – остро протекающая инфекционная болезнь, характеризующаяся лихорадкой, катарально-гнойным воспалением слизистых оболочек полости носа, глотки и адспецдирование подчелюстных лимфатических узлов. Мытом болеют преимущественно молодое поголовье лошадей в осенне-зимний-весенний периоды года. Жеребята заболевают обычно во время отъема, но могут болеть и в месячном или десятидневном возрасте. Болезнь передается воздушно-капельным путем, при контакте, через загрязненные корма, воду. Мыт возникает при ослаблении организма, вследствие недостаточного кормления, скученности лошадей.

Учитывая сложную эпизоотическую ситуацию по мыту лошадей в Республике Казахстан, сотрудники лаборатории микробиологии выезжали в неблагополучные по мыту фермерские хозяйства и проводили отбор проб патологического материала от клинически больного жеребенка.

Целью данной работы было выделение бактерий вида *Streptococcus equi*, из привезенных проб, изучение морфологических и культурально-биохимических свойств данной бактерий.

Материалы и методы. Объектом для исследований являлись пробы патологического материала в виде гноя, экссудата подчелюстных лимфоузлов, мазок ротовой и носовой полости, мазок слизистой глаза от больного мытом жеребенка, доставленные в НИИПББ 04.07.2018 года из с.Узынагаш, Жамбылского района Алматинской области.

Мазки, приготовленные из патологического материала, а так же из бульонных и агаровых культур окрашивали по Граму [2].

Выделение стрептококков производили посевом проб патологического материала на кровяном агаре, мясо-пептонном агаре (МПА) и мясо-пептонном бульоне (МПБ) с добавлением в них 1 %-ной глюкозы и 10 %-ной стерильной сыворотки лошади (рН 7,4-7,6) [3].

Идентификацию выделенной культуры *Streptococcus equi* проводили изучением биохимических свойств - по выделению сахаролитических, протеолитических ферментов, образованию каталазы, оксидазы, аммиака, сероводорода, индола [4, 5].

Подтверждение молекулярно-генетических свойств изолята *Streptococcus equi* проводили с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) анализа. Выделение бактериальной дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) изучаемого изолята проводили с использованием коммерческого набора QIAGEN. Для амплификации выделенной ДНК использовали амплификатор Gene Amp PCR 9700 [6].

Основные результаты исследований. В основу определения таксономических видов и изучения биологических свойств культур стрептококков, изолированных из патологического материала жеребенка нами была взята дифференциальная таблица тестов, предложенная в справочнике «Лабораторные исследования в ветеринарии» под редакцией Антонова В.Я. и Определитель Bergeys Manual of Systematic Bacteriology / Department of Microbiology and Molecular Genetics: Michigan State University: USA, 2005.

Микроскопия мазков биологического материала от больных мытом жеребят с атипичной формой мыта, показало наличие Грам позитивных стрептококков в исследуемых образцах (гной, мазок ротовой и носовой полости, мазок слизистой глаза). При этом по результатам изучения культурально-морфологических свойств бактерий, микроскопии мазков, окрашенных по Граму, проведенным на первом этапе бактериологических исследований было установлено, что тестируемые изоляты бактерий относятся к стрептококкам. При бактериоскопии было установлено наличие коротких кокковидной формы грамположительных бактерий в виде извитых цепочек, немного сплюснутых в поперечнике.

Для выделения и изучения возбудителя проводили пересев характерных по морфологии культур на специальные питательные среды. В последствие из гноя сделали высев на кровяном агаре, МПА и МПБ с добавлением в них 1 %-ной глюкозы и 10 %-ной стерильной сыворотки лошади (pH 7,4-7,6). Инкубирование ростового материала в чашках Петри проводили при температуре $(36-37 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 18-24 часов. При этом подозрительные колонии стали появляться через 18-24 часов.

В сыровоточном бульоне культура возбудителя мыта характеризовалась ростом в виде мелких крупинок, выстилающих стенки и дно пробирки; бульон остается прозрачным. При микроскопии культур выросших в сыровоточном бульоне обнаруживаются цепочки стрептококков различной длины. На рисунке 1 показаны стрептококки различных форм.

На плотных питательных средах мытный стрептококк образует очень мелкие, стекловидные просвечивающиеся, похожие на капельки росы колонии. На вторые сутки видны мелкие колонии округлой формы белого цвета, с ровными краями, выпуклые, блестящие, пастообразной консистенции, в диаметре 1-3 мм. На четвертые сутки – наблюдается слияние колоний между собой. После этого колония приобретает матовую плоскую поверхность молочного оттенка.

В результате бактериологических исследований биологического материала от больного мытом жеребенка был выделен изолят *Streptococcus equi*. с характерными морфологическими признаками для возбудителя мыта лошадей. При посеве на кровяной МПА культура дает рост, при этом колонии блестящие, слизистые с зоной гемолиза в виде тонкой полоски желтоватого цвета (гемолиз типа β). На рисунке 2 показана морфология бактерий изолята *Streptococcus equi*. после культивирования на кровяном агаре.

В жизнедеятельности бактерий ферменты играют большую роль. Они являются обязательными участниками разнообразных биохимических реакций, лежащих в основе функций питания, дыхания, размножения. Каждый вид бактерий продуцирует постоянный для него набор ферментов. Устойчивость ферментативных систем бактерий позволяет использовать биохимические свойства в сочетании с морфолого-культуральными признаками для определения рода и вида бактерий. Для изучения биохимических свойств и идентификации мытных стрептококков, бактериальные культуры были высеваны на дифференциально-диагностические питательные среды. Результаты исследований приведены в таблице 1.

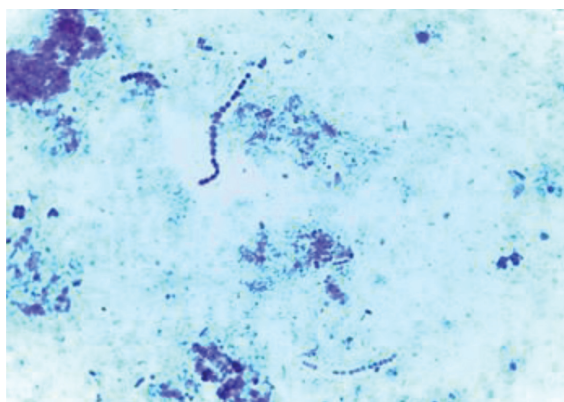


Рисунок 1 – Стрептококки в МПБ с сывороткой крови, окраска по Граму (ув. 1000)

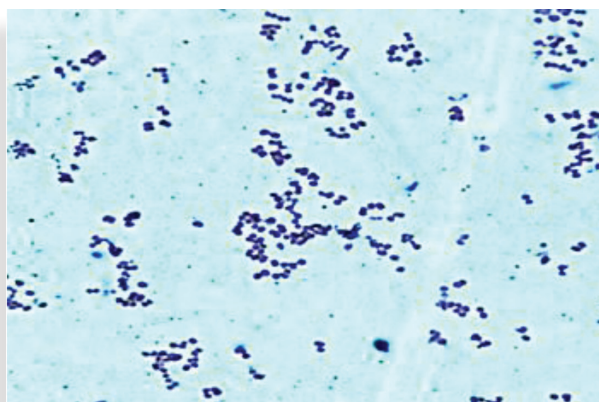


Рисунок 2 – Культура *Streptococcus equi*, окраска по Граму (ув. 1000)

Таблица 1 – Ферментативные и биохимические свойства культуры *Streptococcus equi*

Биохимические характеристики бактериальной культуры	Культура <i>Streptococcus equi</i> , выделенная в 2018 году
Ферментация лактозы	-
Ферментация сорбита	-

Ферментация маннит	-
Разжижение желатины	-
Образование индола	-
Образование аммиака	-
Образование сероводорода	-
Лакмус	-
Метиленовый синий	-
Свертывание молока	-
Образование оксидазы	-
Образование каталазы	+

Как видно из таблицы 1 исследованные бактериальные культуры, выделенные, из патологического материала от жеребенка было установлено, что выделенный стрептококк не ферментирует лактозу, сорбит, маннит, не образует индол, аммиак, H₂S, лакмус и метиленовый синий не редуцирует, не разжижает желатин, не свертывает стерильное обезжиренное молоко. В то же время биохимические исследования выявили, что исследуемый изолят оксидаза – отрицателен и каталаза – положителен. Отсутствие ферментации названных углеводов позволяет дифференцировать мытных стрептококк (*Streptococcus equi*) от гноеродного (*Streptococcus pyogenes*).

С целью подтверждения молекулярно-генетических свойств изолята *Streptococcus equi* провели ПЦР-анализ. Выделение бактериальной ДНК изучаемого изолята проводили с использованием коммерческого набора QIAGEN. Для амплификации выделенной ДНК использовали амплификатор Gene Amp PCR 9700.

Реакцию амплификации проводили в 50 µL, включающих 5µL 10 x ПЦР буфера (Qiagen, USA), 1 µL 10 mM dNTP (NEB, USA), 0.5 µL ДНК (100 ng/µL), по 1 µL праймера seeH-F AGC ATG ATT CTA ACT TAA TTG AAG CCG (20 pmol/µL) и seeH-R TAG CAT GCT ATT AAA GTC TCC ATT GCC, и 0.25 µL (1.25 Units) Taq DNA полимеразы (Qiagen, USA). Условия амплификации 95 °C – 5 мин; 20 циклов: 95 °C – 20 с, touchdown 60 °C (-0,5) – 20 с, 72 °C – 30 с; 20 циклов: 95 °C – 20 с, 50 °C – 20 с, 72 °C – 30 с; 72 °C – 7 минут (рисунок 3).

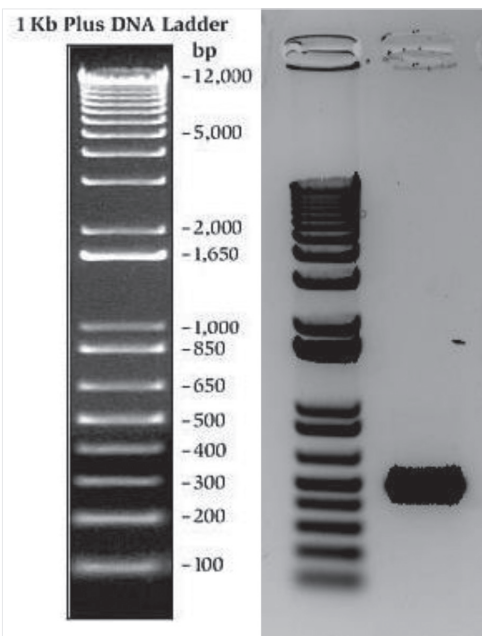


Рисунок 3 – Электрофоретический анализ продуктов ПЦР

Нуклеотидная последовательность штамма бактерий *Streptococcus equi* на 99 % идентична нуклеотидной последовательности фрагмента гена 16 S рРНК *Streptococcus equi*, из этого следует, что полученный бактериальный изолят относится к виду *Streptococcus equi*.

Обсуждение полученных данных. Выделена культура *Streptococcus equi* по культурально-морфологическим свойствам соответствуют возбудителю мыва лошадей. Возбудитель мыва лошадей в эпизоотическом очаге встречается у больных и клинически

В дальнейшем ПЦР-продукт клонирован в pGEM-T вектор и секвенирован с использованием праймеров M13. Полученная последовательность проанализирована в BLAST (рисунок 4).

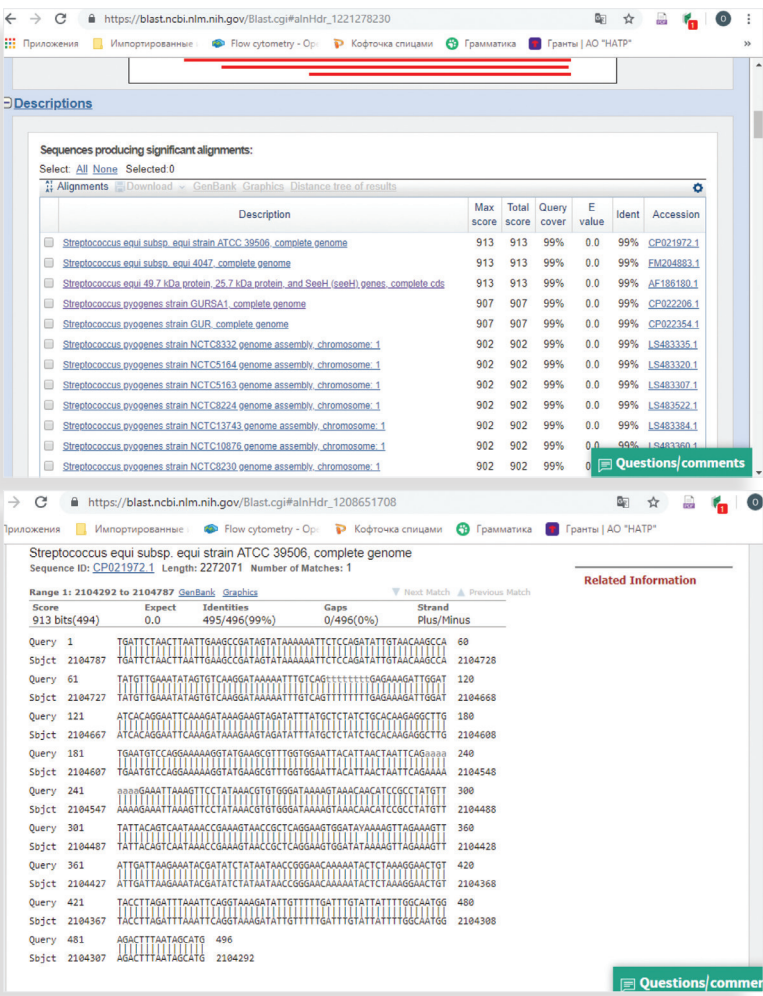


Рисунок 4 – Результаты анализа полученной последовательности в BLAST

здоровых животных на наружных слизистых оболочках, чаще на слизистой носа и глаза. В сывороточном бульоне с культурой отмечается рост в виде мелких крупинок, выстилающих стенки и дно пробирки. На кровяном МПА культура *Streptococcus equi* дает рост, с зоной гемолиза в виде тонкой полоски желтоватого цвета (гемолиз типа β). Проведенные биохимические исследования выделенных изолятов на ферментативную активность с лактозу, сорбит, маннит, показали отрицательную реакцию с культурой *Streptococcus equi*, которые отличают данный вид от *Streptococcus pyogenes*.

Заключение. Результаты молекулярно-генетического тестирования отверждают, что выделенный изолят относится к виду *Streptococcus equi*. Следовательно, суммируя полученные данные и по результатам проведенных бактериологических, биохимических и молекулярно-генетических исследований можно заключить, что выделенный изолят соответствует возбудителю мита лошадей – *Streptococcus equi*.

ЛИТЕРАТУРА

1. АгроИнфо. Сколько скота в Казахстане // agro_info@bk.ru.
2. Джетигенов Э.А., Бекташов А., Айтбаев А. Культурально-морфологические свойства изолятов возбудителя мита лошадей // Вестник кыргызского национального аграрного университета им. К.И. Скрябина. - 2016. - 1. - С.190-194.
3. Corinne R. Sweeney, John F. Timoney, J. Richard Newton, Melissa T. Hines. *Streptococcus equi* Infections in Horses: Guidelines for Treatment, Control, and Prevention of Strangles // J. Vet Intern Med. - 2005. - 19. - С. 123-134.
4. Lindahl Susanne. *Streptococcus equi* subsp. *equi* and *Streptococcus equi* subsp. *Zooepidemicus* // Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences. - U., 2013. - P. 75.
5. Rasmussen C.D., Haugaard M.M., Petersen M.R., Nielsen J.M., Pedersen H.G., Bojesen A.M. *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* isolates from equine infectious endometritis belong to a distinct genetic group // Veterinary Research. - 2013. - 44:26. <http://www.veterinaryresearch.org/content/44/1/26>.
6. Скородумова Д.И. с соавт. Микробиологическая диагностика бактериальных болезней животных // Справочник. – Москва, 2005. – 653 с.

ӘОЖ 619.614.31.637.636

А.А. Жумагелдиев, Т. Мәтен, Б.К. Қазтаева, А.А. Толымбекова, Ж.Б. Байбулатова
Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Алматы қ., Қазақстан

ҰЛАР ЕТІНІҢ ТАҒАМДЫҚ ҚҰНДЫЛЫҒЫ ЖӘНЕ САНИТАРИЯЛЫҚ КӨРСЕТКІШТЕРІ

Анотация. Құс етінде мал етіне қарағанда дәнекер ұлпалары нәзік, борпылдақ және аз, ұша еттерінде біркелкі орналасқан, сондықтан олар адам ағзасында оңай қорытылады. Ал май құс денесінде негізінен тері астына жиналған (құрсақта және төсте), ал іш майы ішек-қарын айналасында. Құс майының, басқа мал майымен салыстырғанда, балку температурасы төмен, яғни оңай сіңіріледі. Сонымен қатар, олар жоғары диеталық қасиеттерімен ерекшеленеді. Сондықтан, елімізде құс шаруашылығы дамуда және өнімдеріне сұраныс жоғарылауда. Кейінгі кездерде аңшылар саятшылық өнімдерін саудаға шығара бастады, ал ауыл тұрғындары, аңшылар болса ұлар етін тағам ретінде қолданады. Дегенмен, кәсіби ауланатын құстар, соның ішінде, ұлар етінің сапасы, тағамдық қауіпсіздігі туралы мәселелер әлі күнге дейін шешімі табылмаған. Сонда да, біз жұмысымызда ұлар етінің тағамдық құндылығы мен қауіпсіздігін анықтауға арнадық. Жұмыс барысында ұлар етінің химиялық құрамы мен аминқышқылдарының мөлшері және санитариялық-микробиологиялық көрсеткіштері анықталды. Нәтижесінде, ұлар етінде нәруыз 1,3 %, май 3,6 %, күл 0,2 %, энергетикалық құндылығы 38 ккал/100 г артық, ылғал 5,1 % төмен екендігі анықталды. Сонымен қатар, ұлар етінің құрамында аминқышқылдарының жалпы мөлшері 1318 мг/100 г артық.

Түйін сөздер: ұлар, химиялық құрамы, нәруыз, май, ылғал, күл, энергетикалық құндылық, алмаспайтын, алмасатын аминқышқылдары.

А.А. Жумагелдиев, Т. Мәтен, Б.К. Қазтаева, А.А. Толымбекова, Ж.Б. Байбулатова
Казахский национальный аграрный университет, г.Алматы, Казахстан

ПИЩЕВАЯ ЦЕННОСТЬ И САНИТАРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ МЯСА ГОРНОЙ ИНДЕЙКИ (УЛАР)

Аннотация. В мясе птицы соединительные ткани нежнее, рыхлее, меньше и в туше расположены равномерно, по сравнению с мясом животного. Поэтому они легко усваиваются организмом человека. А жир в организме птицы накапливается под кожей. Птичий жир имеет низкую температуру плавления, т.е. легко усваивается по сравнению с другими животными маслами. Кроме того, они отличаются высокими диетическими свойствами. На основании этого в стране широко развивается птицеводство и повышается спрос на продукцию. Охотники занимаются продажей продукцией, а местные жители используют их в пищу. Особым спросом пользуется мясо горной индейки (улар). К сожалению до сегодняшнего дня не решен вопрос о пищевой ценности и санитарных показателях пищевой безопасности мяса горной индейки (улар). Для решения этого вопроса были проведены

мероприятия по определению химического состава, санитарно-микробиологических показателей и содержания аминокислот. В результате установлено: что в мясе горной индейки (улар) белки на 1,3 %, жиры на 3,6 %, зола на 0,2 %, энергетическая ценность на 38 ккал/100 г больше, влажность на 5,1 % ниже, чем в мясе курицы. Кроме того, общий объем аминокислот превышает 1318 мг/100 г.

Ключевые слова: мясо горной индейки, химический состав, белок, жир, влага, зола, энергетическая ценность, незаменимые, заменимые аминокислоты.

A.A. Zhumageldiev, T. Maten, B.K. Kasteeva, A.A. Tolymbekova, Zh.B. Baibulatova
Kazakh National Agrarian University, Almaty, Kazakhstan

NUTRITIONAL VALUE AND HEALTH INDICATORS OF MOUNTAIN TURKEY MEAT (ULAR)

Abstract. In poultry meat, connective tissues are more tender, looser, smaller and evenly distributed in the carcass, compared to animal meat. Therefore, they are easily absorbed by the human body. And the fat in the bird's body accumulates under the skin. Poultry fat has a low melting point, i.e. it is easily digested compared to other animal oils. In addition, they have high dietary properties. Based on this, poultry farming is widely developing in the country and the demand for products is increasing. Hunters are engaged in selling products, and local residents use them for food. Mountain Turkey meat (Ular) is in particular demand. Unfortunately, the issue of nutritional value and sanitary indicators of food safety of mountain Turkey meat (Ular) has not been resolved yet. To solve this issue, measures were taken to determine the chemical composition, sanitary and microbiological indicators and the content of amino acids. As a result, it was found that mountain Turkey meat has 1.3 % protein, 3.6 % fat, 0.2 % ash, 38 kcal/100 g more energy value, and 5.1 % lower humidity than chicken meat. In addition, the total volume of amino acids exceeds 1318 mg/100 g.

Keywords: mountain Turkey meat, chemical composition, protein, fat, moisture, ash, energy value, essential, interchangeable amino acids.

Кіріспе. Егеменді еліміздің өркендеуінің алғы шарты, ауыл шаруашылығының негізгі салаларының бірі құс шаруашылығының дамуы. Басқа салалармен бәсекелесе отырып, жоғары сапалы құс шаруашылығы өнімдерін өндіру өзекті мәселе болып отыр. Халықтың етке және ет өнімдеріне сұранысы қандай болса, олардың сапасына деген талабы да солай жоғарылауда. Статистикалық мәліметтер бойынша, халықты құс шаруашылығы өнімдерімен қамтамасыз ету үшін жылына 180 мың тоннаға жуық құс еті және 3,5 миллиард дана жұмыртқа өндірілуі тиіс екен. Өткен жылы құс етін тұтынуы 12,2 кг, жұмыртқа тұтыну көлемі 172 дана төңірегінде болды. Құс етінде 0,9-1,2 % экстрактивті заттар бар, олар етке өзіндік дәм береді, ас қорыту сөлдерінің бөлінуіне әсер етеді және еттің сіңімділігін жоғарылатады. Тауық және күрке тауық еттері ақ және қызыл еттерге бөлінеді. Ақ ет төсте жиналған, онда саркоплазма және май мөлшері төмен, ал су және нәруыз мөлшері көп. Қызыл етте тиамин, рибофлабин және пантотен қышқылы мол. Тауық еті В₁, В₂, РР және басқа да дәрумендерге бай. Тағам қауіпсіздігі мемлекетіміздің негізгісі ұстанып отырған саясаты болуда. Аңшылар, делдалдар және т.б. өнімдерін саудаға шығарып сатуда, ал тұрғындар ұлар етін таңсық ас ретінде тағамға пайдалануда. Ел арасында ұлар етін жеген адам ұзақ жасайды деген сөз бар. Ұлар тауды мекендейді, *Tetraogallus* – қырғауыл тұқымдасына жатады. Дене тұрқы 60 см төңірегінде, салмағы 3кг-дай, тауыққа ұқсас, жергілікті құс. Биік тау шыңдарын мекендеп, 5-10-нан топтасып жүреді. Қалықтап ұшады. Ұлар етінің тағамдық қауіпсіздігін анықтау қажеттілігі туындауда. Сондықтан, қазіргі уақытта ұлар етінің химиялық құрамын, тағамдық құндылығын тексеріп, ветеринариялық санитариялық сараптау жүргізілді.

Материалдар мен әдістер. Қазақ ұлттық аграрлық университеті «Ветеринариялық санитариялық сараптау және гигиена» кафедрасының «Өнім сапасы, қауіпсіздігі және ветеринариялық санитариялық сараптау» зертханасында, Қазақстан-Жапон инновациялық орталығы «Азық-түлік және экологиялық қауіпсіздік» зертханасында және Қазақ тағамтану академиясының «Нутритест» зертханасында ұлар етінен сынамалар алынып, ветеринариялық санитариялық сараптауда жалпылама қолданылатын тәсілдермен химиялық құрамы, аминқышқылдарының мөлшері анықталды. Аминқышқылдарының мөлшері «Автоматтандырылған амин қышқылды анализатор» (ААА-881), құралы көмегімен анықталды. Бұл жұмыстар «тағамдық өнімдердің сапасы мен қауіпсіздігінің сараптамалық әдістері» әдістемелік ұсынысы бойынша жүргізілді.

Зерттеу нәтижелері. Тағамның құнарлылығы, қорытылуы, сіңімділігі ет құрамындағы нәруыздың, майдың, ылғалдың мөлшеріне байланысты. Нәруыздар тірі организмде алуан түрлі және өздеріне ғана тән қызмет атқарады, организмде жүретін барлық биологиялық үдерістер нәруыз қызметімен байланысты. Олар: катализдік, транспорттық, механикалық, қорғаныс, реттегіш, құрылымдық, рецепторлық, коректік және т.б. қызмет атқарады. Тексеру барысында, ұлар етінен алынған сынамалар құрамындағы нәруыз мөлшері 19,4 г/100 г болса, салыстыру үшін әкелінген тауық етінен алынған сынамалар құрамындағы бұл мөлшер 18,1 г/100 г болды. Демек, ұлар етінен алынған сынамалар құрамындағы нәруыз мөлшері салыстыру үшін әкелінген тауық етінен алынған сынамалар құрамындағы мөлшерден 1,3 г/100г жоғары екендігі анықталды.

Май – организмнің тіршілік әрекетіне қажет маңызды табиғи қосылыстар қатарында. Олар нәруыздармен, көмірсулармен қосылып ерекше биологиялық қызмет атқаратын әр түрлі биомолекулаларды құрайды. Май дегеніміз – табиғи заттар тобы. Олар іс жүзінде суда ерімейді. Нәруыздармен, көмірсулармен қатар майлар да мал, адам және өсімдіктердің барлық ұлпалар клеткаларының құрамына кіреді. Майдың биологиялық қызметі: май энергия қоры, клетка мембранасының құрылымдық және рецепторлық бөлігі, қорғаныс қызметін атқарады, көптеген дәрумендер ериді, алмастырылмайтын май қышқылдары бар. Неғұрлым етте май көбірек болса,

соғұрлым дәмдірек болады. Тексеру барысында, ұлар етінен алынған сынамалар құрамындағы май мөлшері 22,1 г/100 г болса, салыстыру үшін әкелінген тауық етінен алынған сынамалар құрамындағы бұл мөлшер 18,5 г/100 г болды. Демек, ұлар етінен алынған сынамалар құрамындағы май мөлшері салыстыру үшін әкелінген тауық етінен алынған сынамалар құрамындағы мөлшерден 3,6 г/100 г артық екендігі анықталды (1-кесте).

Еттің құрамындағы ылғал ондағы биохимиялық үдерістердің жүруіне, сақтау мүмкіндігін анықтауда, микробиологиялық және т.б. үдерістерде маңызды қызмет атқарады. Өнімнің тағамдық, тауарлық құндылығы, сақтау кезіндегі тұрақтылығы және т.б. қасиеттері ет құрамындағы ылғалдың мөлшеріне байланысты. Етті сақтау кезінде ылғал мөлшері көп болса ет тез бұзылады. Тексеру барысында, ұлар етінен алынған сынамалар құрамындағы ылғал мөлшері 57,4 г/100 г болса, салыстыру үшін әкелінген тауық етінен алынған сынамалар құрамындағы бұл мөлшер 62,5 г/100 г болды. Демек, ұлар етінен алынған сынамалар құрамындағы ылғал мөлшері салыстыру үшін әкелінген тауық етінен алынған сынамалар құрамындағы мөлшерден 5,1 г/100 г төмен екендігі анықталды.

1-кесте – Ұлар етінің химиялық құрамы, г/100

Көрсеткіштері	Ұлар еті	тауық еті
Нәруыз	19,4	18,1
Май	22,1	18,5
Ылғалдылық	57,4	62,5
Күл	1,1	0,9
Энергетикалық құндылығы, ккал/100 г	277,0	239,0

Ет және ет өнімдерінің құрамындағы минералды заттар күлдендіру арқылы анықталады. Күл, органикалық заттарды муфель пешінде жағудан қалған заттың минералды бөлігі. Біздің зерттеуіміздің нәтижесі бойынша, ұлар етінен алынған сынамалар құрамындағы күл мөлшері 1,1 г/100 г болса, салыстыру үшін әкелінген тауық етінен алынған сынамалар құрамындағы бұл мөлшер 0,9 г/100 г болды. Демек, ұлар етінен алынған сынамалар құрамындағы күл мөлшері салыстыру үшін әкелінген тауық етінен алынған сынамалар құрамындағы мөлшерден 0,2 г/100 г көп екендігі анықталды.

Энергетикалық қуаттылық деп ағзадағы биологиялық тотықсыздану құбылысы кезінде тағамдық заттардан бөлінетін энергияны айтады. Адамның жасына, жынысына, массасына, жүргізетін жұмыс түріне байланысты тағамдық энергетикалық қуаттылықтың қажеттілігі тәулігіне 2850-20875 кДж екен. Еттің түрі мен құрамына байланысты 100 г өнімде 147,5 тен 1662,5-ке дейін, әр түрлі энергиялық қуаттылықты көрсетеді. Біздің зерттеуіміздің нәтижесі бойынша, ұлар етінен алынған сынамалардың энергетикалық құндылығы 277,0 ккал/100 г болса, салыстыру үшін әкелінген тауық етінен алынған сынамалар құрамындағы бұл мөлшер 239,0 ккал/100г болды. Демек, ұлар етінің энергетикалық құндылығы салыстыру үшін әкелінген тауық етінің энергетикалық құндылығынан 38 ккал/100 г артық екендігі анықталды.

Еттің сіңімділігі, тиімділігі, тағамдық құндылығы ондағы аминқышқылдарының құрамына байланысты екені белгілі. Организмге қажетті барлық алмаспайтын аминқышқылдары болғандықтан, ет құрамындағы нәруыз толық құнарлы болып саналады. Аминқышқылы – молекуласында карбоксил тобы және амин тобы бар органикалық қышқылдар. Барлық тірі организмдердің, бактериядан бастап адамға дейін, нәруыздары 20 аминқышқылдарынан тұрады. Биологиялық құнарлылығына қарай алмасатын және алмаспайтын аминқышқылдары болып бөлінеді. Біздің зерттеуіміздің нәтижесі бойынша, ұлар етінен алынған сынамалар құрамындағы аминқышқылдарының жалпы мөлшері 19354 мг/100 г болса, салыстыру үшін әкелінген тауық етінен алынған сынамалар құрамындағы бұл мөлшер 18036 мг/100 г болды. Демек, ұлар етінен алынған сынамалар құрамындағы аминқышқылдарының жалпы мөлшері салыстыру үшін әкелінген тауық етінен алынған сынамалар құрамындағы мөлшерден 1318 мг/100 г жоғары екендігі анықталды.

Алмасатын аминқышқылдары құс организмінде басқа аминқышқылдарынан түзілуі ықтимал. Оларға: аланин, глутамин қышқылы, оксипролин, пролин, серин, ал ересек құстарда және глицин жатады. Олар тағаммен күнде организмге түсіп отырады. Біздің зерттеуіміздің нәтижесі бойынша, ұлар етінен алынған сынамалар құрамындағы алмасатын аминқышқылдарының мөлшері 11773 мг/100 г болса, салыстыру үшін әкелінген тауық етінен алынған сынамалар құрамындағы бұл мөлшер 11113 мг/100 г болды. Демек, ұлар етінен алынған сынамалар құрамындағы алмасатын аминқышқылдарының мөлшері салыстыру үшін әкелінген тауық етінен алынған сынамалар құрамындағы мөлшерден 660 мг/100 г төмен екендігі анықталды (2-кесте).

2-кесте – Ұлар етінің құрамындағы аминқышқылдарының мөлшері, мг/100 г

Аминқышқылдары	Алмаспайтын аминқышқылдары	Алмасатын аминқышқылдары	Аминқышқылдарының орташа көрсеткіштері
Ұлар еті	7581 ± 2,6	1177, 3 ± 1,6	19354 ± 3,5
Тауық еті	6923 ± 2,5	1111,3 ± 1,7	18036 ± 3,2

Алмаспайтын аминқышқылы организмде синтезделмейді, олар организмде дайын күйінде азықпен қабылдануы керек. Алмаспайтын аминқышқылдарына валин, изолейцин, лейцин, лизин, метионин, треонин,

триптофан, фенилаланин жатады. Алмаспайтын аминқышқылдары жануарлар организміне қоректік заттармен түсуі керек. Алмаспайтын аминқышқылдары құнарлы азықтың құрамында болады. Кейбір аминқышқылдары организмде басқа қышқылдар жеткілікті мөлшерде болса, солардың есебінен синтезделе береді. Оларды жартылай алмастырылатын аминқышқылдары дейді. Мысалы, фенилаланиннен тирозин, метиониннен цистин түзіледі. Организмде белгілі бір алмастырылмайтын аминқышқылы жетіспесе, онда сол қышқылдың биологиялық маңызына байланысты ауытқулар байқалады. Осыған байланысты жұмыс барысында ұлар етінен алынған сынамалар құрамындағы аминқышқылдарының мөлшері анықталды. Біздің зерттеуіміздің нәтижесі бойынша, ұлар етінен алынған сынамалар құрамындағы алмасатын аминқышқылдарының мөлшері 7581 мг/100 г болса, салыстыру үшін әкелінген тауық етінен алынған сынамалар құрамындағы бұл мөлшер 6923 мг/100 г болды. Демек, ұлар етінен алынған сынамалар құрамындағы алмаспайтын аминқышқылдарының мөлшері салыстыру үшін әкелінген тауық етінен алынған сынамалар құрамындағы мөлшерден 658 мг/100 г көп екендігі анықталды.

Тағам өнімдерінде өсу нәтижесінде пайда болған кейбір микроағзалар немесе метаболиттер адамды әртүрлі ауруларға ұшыратуы ықтимал, олар тағамдық уланулар және тағамдық токсикоинфекция болып бөлінеді. Сондықтан, микробиологиялық бақылау жүйелі түрде жүргізілуі тиіс. Ол шикізаттан бастап, дайын өнімге дейін технологиялық үдерістің барлық кезеңдерінде жүзеге асырылады. Санитариялық-микробиологиялық көріністі микроорганизмдерді бақылау шикізат, жартылай өңделген өнім және дайын өнім сапасын бағалауға қолданылады және ереже бойынша екі көрсеткіштен тұрады, оларға мезофильді аэробты және факультативті-анаэробты микроорганизмдер мөлшері (МАФАНММ) (жалпы бактериямен тұқымдануы), ішек таяқшасы тобы бактерияларының мөлшері (ІТТБ) жатады. Сонымен қатар сульфит қайталанатын кластридиялар, (*Vibrio parahaemolyticus*); – патогенді микроорганизмдер, соның ішінде сальмонеллалар сияқты топтар кіреді.

Ұлар етін атып алу немесе қақпаңға түсіру барысында, сою, ұшаларын бөлшектеу және сақтау барысында микроорганизмдермен зақымдануы ықтимал. Сондықтан, ұлар етіне санитариялық-микробиологиялық зерттеу жұмыстары жүргізілді (3-кесте).

3-кесте – Ұлар етін санитарлық-микробиологиялық бақылау

Көрсеткіштер	СанПиН бойынша норма	Салқындалатын ұлар еті	
	салқын/мұздат	көкірек етінен алынған сынама	жамбас бұлшықетінен алынған сынама
МАФАНММ (КОЕ/г)	$1 \times 10^4 / 1 \times 10^5$	$1,5 \times 10^1$	$2,0 \times 10^1$
ІТТБ (колиформдар)	1г-да зерттелді	-	-
Сальмонеллалар	25г жіберілмейді	-	-

Мезофильді аэробты және факультативті-анаэробты микроағзалармен ұлар еті мөлшері рұқсат берілген мөлшерінен анағұрлым төмен болды. Ал, ішек таяқшасы тобы бактерияларының мөлшері, патогенді микроағзалар, соның ішінде сальмонеллалар анықталған жоқ.

Ұлар мүшелері мен ұшасын тексергенде басын (айдары, көзі, тұмсығы) жұтқыншағын, кеңірдек, өңеш, жемсау қарындары, ішек, бауыр және көкбауыры тексерілді. Әсіресе, бауыр мен талақ ұқыпты қаралды. Ұшасын тексергенде ұлардың қоңдылығына, терісінің көкшілденуіне, буындарының ісінуіне және етінің тазалығына баса назар аударады.

Құсты ішкі мүшелерінен ажырату толық түрде жүргізілген. Құстың ішкі мүшелерінен толық тазарту барысында, оның басы екінші мойын омыртқа тұсынан, ал сирақтары тілерсек буынынан, қанаты шынтақ буынынан кесілген. Ал, ішек-қарынын алу үшін, көк ет артқылы клоакадан төс сүйектің басына дейін тілінген. Құс ұшасының ішінен ішек-қарын, бауыр етімен, жүрек, көк бауыр бәрі бірге сыртқа шығарылып, тексерілген. Жемсауын, кеңірдегін, өңеші қалыпты жағдайдан ауытқымаған. Өкпе, бүйрек тілік бетіндегі суреті сақталған.

Қорытынды. Зерттеу нәтижесі көрсеткендей тексеру үшін әкелінген ұлар етінің химиялық құрамы бойынша салыстырмалы түрде алынған тауық етінің химиялық құрамынан нәруыз 1,3 % жоғары, май мөлшері 3,6 % артық, ылғал мөлшері 5,1 % төмен, күл мөлшері 0,2 % көп болса, ұлар етінің энергетикалық құндылығы тауық етінің энергетикалық құндылығынан 38 ккал/100 г артық екендігі анықталды. Аминқышқылдарынан ұлар етінің құрамында тауық етінің құрамындағы мөлшерге қарағанда, алмаспайтын аминқышқылдарының мөлшері 658 мг/100 г артық, алмаспайтын аминқышқылдарының мөлшері 660 мг/100 г жоғары болса, аминқышқылдарының жалпы мөлшері 1318 мг/100 г артық болып шыққандығы анықталды. Ұлар етін санитарлық-микробиологиялық бақылау барысы бойынша, мезофильді аэробты және факультативті-анаэробты микроорганизмдер мөлшері мен ішек таяқшасы тобы бактерияларының мөлшері, патогенді микроорганизмдер, соның ішінде сальмонеллалар сияқты топтардан қалыпты жағдайдан ауытқу болмады. Демек, ұлар еті сапалы, қауыпсыз, тағамдық құндылығы жоғары ет болып табылады.

ӘДЕБИЕТ

1. Ветеринариялық (ветеринариялық-санитариялық) қағидалар. – Астана, 2015.
2. Жұмагелдиев А.А., Ромашев К.М., Қырықбайұлы С. Ветеринариялық-санитариялық сараптау // Оқулық. Алматы, ҚазҰАУ, 2018. - Б. 633-635.

3. Қырықбайұлы С., Телеуғали Т. Ветеринариялық санитариялық сараптау практикум. – Алматы, 2017. – Б. 311-313.

4. Шуклин Н.Ф., Телеуғалиев Т.М., Кирикбаев С.К. Экспертиза доброкачественности и радиационной безопасности продуктов. Их стандартизация и сертификация. - Алматы, 2016. Том. 1-3. – С. 298-299.

ӘОЖ 619.614.31.637.636

А.А. Жумагелдиев, Г. Тоқтасын, М.Р. Турабеков, Б. Қазтаева, А. Толымбекова
Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Алматы, Қазақстан, E-mail: akil_275@mail.ru, turabekov.m@mail.ru

АНИЗАКИДОЗБЕН ЗАҚЫМДАЛҒАН КӨКСЕРКЕНІҢ МАЙ ҚЫШҚЫЛДАРЫ МӨЛШЕРІ ЖӘНЕ ВЕТЕРИНАРИЯЛЫҚ САНИТАРИЯЛЫҚ БАҒАЛАУ

Аннотация. Жан басына шаққандағы тамақ өнімдерін тұтынудың ғылыми негізделген физиологиялық нормасы бойынша, адам жылына 14 кг балық және балық өнімдерін тұтынуы тиіс. Балық өнімдерінің адам тағамында өзіндік орны бар. Холестериннің аздығы, яғни ас қорыту жүйесіне аз салмақ түсіруіне байланысты балық еті диеталық тағам ретінде еліміздің халықтары арасында кеңінен пайдаланылады [1]. Ғылыми деректерге сүйенсек, адамзатқа қажетті нәруыздың 10% мөлшері теңіз өнімдерінен алынатындығы дәлелденген. Осыған сәйкес, елімізде балық шаруашылығы қарқынды дамуда, мемлекет тарапынан түрлі бағдарламалар бекітілуде. Дегенмен, балықтың адам денсаулығына нұқсан келтіретін қауіпті аурулары белең ала бастады. Сондай аурулар қатарында балық анизакидозы кездесуде. Сонымен қатар, балық тез бұзылатын өнім болғандықтан, оның қауіпсіздігін анықтау және анизакидозбен зақымдалған балық етінің сапасын тексеру, балық өнімдерін ветеринариялық санитариялық сараптау, санитариялық бағалау ветеринар мамандарының жауапты міндеті. Мақала осындай өзекті мәселеге арналған. Зерттеу нәтижелері бойынша, Қапшағай су қоймасынан ауланған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы май қышқылдарының жалпы мөлшері, Каспий теңізінің қазақстандық секторынан ауланған анизакидозбен зақымдалған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы мөлшерден 127 мг/100г төмен екендігі анықталды.

Түйін сөздер: балық, анизакидоз, қаныққан, моноқанықпаған, полиқанықпаған май қышқылдары.

А.А. Жумагелдиев, Г. Тоқтасын, М.Р. Турабеков, Б. Қазтаева, А. Толымбекова
Казахский национальный аграрный университет, Алматы, Казахстан

ВЕТЕРИНАРНО-САНИТАРНАЯ ОЦЕНКА И СОДЕРЖАНИЕ ЖИРНЫХ КИСЛОТ СУДАКА, ПОРАЖЕННОГО АНИЗАКИДОЗОМ

Аннотация. Научно-обоснованная физиологическая норма потребления продуктов питания человека – 14 кг рыбы и рыбной продукции. Рыбная продукция имеет важную роль в питании человека. С наименьшим количеством холестерина рыбное мясо широко используется среди населения как диетическое. По научным данным доказано, что 10% полезных для человечества белков получают из морепродуктов. В соответствии с этим, в стране активно развивается рыбное хозяйство. Государство подготовила программу развития рыбного хозяйства. Несмотря на это идет распространение некоторых заболеваний рыб. В числе таких заболеваний встречается анизакидоз. Кроме того, рыба является скоропортящимся продуктом. Поэтому, определение качества, безопасность и ветеринарно-санитарной экспертиза и санитарная оценка рыб зараженной анизакидозом, должна производиться ветеринарными специалистами. Данная статья посвящена таким актуальным темам. По результатам исследований выявлено, что общее содержание жирных кислот в пробах, отобранных из судака, выловленного из Капшагайского водохранилища ниже на 127 мг/100 г, чем судак, пораженный анизакидозом, выловленный из казахстанского сектора Каспийского моря.

Ключевые слова: рыба, анизакидоз, насыщенные, моновенасыщенные, полиненасыщенные жирные кислоты.

A.A. Zhumageldiyev, G. Toktasyn, M.R. Turabekov, B. Kaztaeva, A. Tolymbekova
Kazakh national agrarian University, Almaty

VETERINARY AND SANITARY ASSESSMENT AND CONTENT OF FATTY ACIDS OF WALLEYE AFFECTED BY ANISAKIDOSIS

Abstract. A scientifically-based physiological norm of human food consumption is 14 kg of fish and fish products. Fish products have a crucial role in a human nutrition. Due to consisting of the lowest amount of a cholesterol, fish meat is widely used among the population as a dietary supplement. According to scientific data proven that 10% of useful proteins for human beings are obtained from seafood. In accordance with this, fisheries are being actively developed in the country. The State has prepared a program for the development of fisheries. Despite this, some fish diseases are widely spread. Among these diseases anisakidosis is frequently found. Furthermore, fish products are perishables.

Therefore, the determination of quality, safety and veterinary-sanitary examination and sanitary assessment of fish, infected by anisakidosis have to be performed by veterinary experts. This article is focused on such relevant topics. According to the research results, the total content of fatty acids in the samples taken from the perch caught from the Kapshagai reservoir is lower to 127 mg/100 g than the perch, affected by anisakidosis and caught from the Kazakhstan sector of the Caspian Sea.

Keywords: fish, anisakidosis, saturated, monounsaturated, polyunsaturated fatty acids.

Кіріспе. Республика экономикасы дамуының басым бағыттарының бірі бола отырып, балық шаруашылығы аса зор әлеует пен үлкен қорға ие және ел экономикасының негізгі салаларының бірі.

Республикамызда балық шаруашылығының негізін су айдындарының балық шаруашылығы қоры құрайды, оның құрамына жалпы ауданы 3 млн га астам болатын Каспий және Арал теңіздері су айдындары, Балқаш көлі, Бұқтырма, Қапшағай, Шардара су қоймасы, Алакөл көлдер жүйесі және басқа да су айдындары кіреді. Су айдындарында балықтардың 100-ден астам түрлері мекендейді. Балық ресурстарының табиғи өсімін молайту, тиімділігін арттыру арқылы жүргізілген іс-шаралардың арқасында балық шаруашылығы дамуда. Дегенмен, осылай дамуға балықтың кейбір инвазиялық аурулары кері әсерін тигізуде [2].

Бұл сектордың даму деңгейі қашан да қазақстандық қоғамның экономикалық және қоғамдық-саяси тұрақтылығын анықтайтын факторы болып табылады. Балық өсіретін зауыттар балық уылдырығын қолдан ұрықтандырып өсіріп, көптеген шабақтарды су айдындарына жіберу арқылы балық санының артуына мүмкіндік жасалады. Алайда, балықтардың саны мен сапасының артуына көптеген инвазиялық аурулар кедергі келтіруде. Сонымен қатар, антропогенді әсерлерден балықтың инвазиялық аурулары туындап, оның өсімі тежелуде.

Жыныстық жетілу кезеңінде анизакидоздар теңіз сүтқоректілері мен құс анизакидоздарының негізгі қоздырғышы болып табылады. Анизакид балаңқұрттары балық ағзасының сірі қабықтарында, ішкі мүшелерінің беткі бөлігінде, ұлпасында немесе бұлшықетінде оралып, кейде созылған күйінде кездеседі. Қабығының диаметрі 3,5-5,5 мм. Балаңқұрт ұзындығы 4 см жетеді, диаметрі 0,4-1,0 мм. Түсі ақ-сарыдан қызыл-қоңырға дейін. Анизакид балаңқұрттарымен зақымданған балықты тағам ретінде пайдалану адам мен етқоректі жануарларға қауіпті. Залалсыздандырылмаған балықты тағам ретінде пайдаланғанда анизакид балаңқұрттары жыныстық жетілу кезеңіне дейін ас қорыту жүйесінде, ішектерде болады. Олардың әсерінен ағзада қабыну үдерістері пайда болып, ас қазан бүріп ауырады және ас қорыту жүйесі қызметінің бұзылуымен, улану, аллергия және т.б. құбылыстар кездесуі ықтимал [3].

Материалдар мен әдістер. Қазақ ұлттық аграрлық университеті «Ветеринариялық санитариялық сараптау және гигиена» кафедрасының «Өнім сапасы, қауіпсіздігі және ветеринариялық санитариялық сараптау» зертханасында және Қазақ тағамтану академиясының «Нутритест» зертханасында ішкі сауда объектілеріне сату үшін әкелінген Каспий теңізінің қазақстандық секторынан ауланған көксеркелерден және Қапшағай су қоймасынан ауланған көксеркелерден сынамалар алынып, май қышқылдарының мөлшері салыстырмалы түрде ветеринариялық санитариялық сараптауда жалпылама қолданылатын тәсілдермен анықталды. Бұл жұмыстар «Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов» әдістемелік ұсынысы бойынша жүргізілді.

Зерттеу нәтижелері. Агроөндіріс кешенін дамытуға қажетті жер және табиғи ресурстары мол болғандықтан, еліміздің – аумақтық және жаһандық азық-түлік қауіпсіздігін қамтамасыз етудегі маңызы зор. Тағам өнімдерінің қауіпсіздігі – бұл тағам өнімдерінің сапасы мен адам денсаулығына зиянсыздығы.

Еттің дәмділігі және нәрлілігі ондағы нәруыз бен майдың ара қатынасына байланысты. Олардың мөлшері бір-бірімен шамалас болғанда, еттің нәрлілігі жоғары болып есептеледі. Ал, еттің шырындылығы және жұмсақтығы майдың орналасуына байланысты. Майдың биологиялық құндылығы және ағзаға сіңімділігі, майының емдік қасиеті ондағы полиқанықпаған май қышқылдарына және басқа да адам организмінде түзілмейтін, бірақ физиологиялық және алмасу үдерісінде ерекше маңызы бар липойды қосылыстарға байланысты. Әсіресе, май ұлпалары ет талшықтарының арасына орналасса, ондай ет аса дәмді [4]. Майдың биологиялық құндылығы ондағы қанықпаған, әсіресе көп қанықпаған линол, линолен және арахидон қышқылдарының мөлшеріне байланысты. Біз зерттеу барысында ішкі сауда объектілеріне сату үшін әкелінген Каспий теңізінің қазақстандық секторынан ауланған анизакидозбен зақымдалған көксеркеден және Қапшағай су қоймасынан ауланған көксеркелерден сынамалар алынып, оның құрамындағы май қышқылдарының мөлшері салыстырмалы түрде анықталды. Зерттеу нәтижесі бойынша, сату үшін әкелінген Каспий теңізінің қазақстандық секторынан ауланған анизакидозбен зақымдалған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы қаныққан май қышқылдарының мөлшері ($690 \pm 0,5$) мг/100 г болса, салыстырмалы түрде алынған, сату үшін әкелінген Қапшағай су қоймасынан ауланған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы қаныққан май қышқылдарының мөлшері ($733 \pm 0,6$) мг/100 г көрсетті. Яғни, анизакидозбен зақымдалған көксерке балығынан алынған сынамалар құрамындағы қаныққан май қышқылдарының мөлшері, Қапшағай су қоймасынан ауланған анизакидозбен зақымданбаған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы қаныққан май қышқылдарының мөлшерінен 33 мг/100 г төмен екендігі анықталды. Оның ішінде: сату үшін әкелінген Каспий теңізінің қазақстандық секторынан ауланған анизакидозбен зақымдалған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы С14:0 миристин қышқылының мөлшері 240 мг/100 г болса, сату үшін әкелінген Қапшағай су қоймасынан ауланған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы С14:0 миристин қышқылының мөлшері 254 мг/100 г құрады. Яғни, зақымданбаған балық етінде зақымданған балық етінен алынған сынамалар құрамындағы мөлшерге қарағанда С14:0 миристин қышқылының 14 мг/100 г мөлшерінде жоғары екендігі анықталды.

Балық майының құрамындағы қаныққан май қышқылдарынан С16:0 пальмитин қышқылының мөлшері, Қапшағай су қоймасынан ауланған анизакидозбен зақымданбаған көксеркеден алынған сынамалар құрамында 404 мг/100 г болса, Каспий теңізінің қазақстандық секторынан ауланған анизакидозбен зақымдалған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы С16:0 пальмитин қышқылының мөлшері 392 мг/100 г болғандығы анықталды. Яғни, зақымдалмаған балық майында С16:0 пальмитин қышқылының мөлшері 12 мг/100 г артық екендігі 1-кестеде көрсетілген.

Каспий теңізінен ауланған анизакидозбен зақымдалған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы С17:0 маргарин қышқылының мөлшері 17 мг/100 г болса, Қапшағай су қоймасынан ауланған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы С17:0 маргарин қышқылының мөлшері 19 мг/100 г болғандығы анықталды. Яғни, анизакидозбен зақымданған балықтан алынған сынамалар құрамындағы С17:0 маргарин қышқылының мөлшері зақымданбаған балықтан алынған сынамалар құрамындағы мөлшерден 2 мг/100г төмен екендігі анықталды.

Қапшағай су қоймасынан ауланған, анизакидозбен зақымданбаған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы С18:0 стеарин қышқылының мөлшері 56 мг/100 г болса, Каспий теңізінің қазақстандық секторынан ауланған анизакидозбен зақымдалған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы С18:0 стеарин қышқылының мөлшері 41 мг/100 г болғандығы анықталды. Яғни, анизакидозбен зақымданбаған балықтан алынған сынамалар құрамындағы С18:0 стеарин қышқылының мөлшері зақымданған балықтан алынған сынамалар құрамындағы көрсеткіштен 15 мг/100 г көп екендігін көрсетті (1-ші кесте).

Май – ет ұлпасының сапасын анықтайтын морфологиялық компоненттер қатарында болып табылады. Мұнда майдың жалпы мөлшерінен басқа, оның ұшадағы орналасуының да маңызы бар. Әсіресе, ет аралығында орналасқан майлы еттер аса құнарлы болып есептеледі [5]. Тексеру барысында, сату үшін әкелінген Қапшағай су қоймасынан ауланған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы моноқанықпаған май қышқылдарының мөлшері ($1174 \pm 0,6$) мг/100 г болса, сату үшін әкелінген Каспий теңізінің қазақстандық секторынан ауланған анизакидозбен зақымдалған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы моноқанықпаған май қышқылдарының мөлшері ($1132 \pm 0,5$) мг/100 г болғандығы белгілі болды. Яғни, анизакидозбен зақымдалмаған көксерке балығынан алынған сынамалар құрамындағы моноқанықпаған май қышқылдарының мөлшері, анизакидозбен зақымданған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы қаныққан май қышқылдарының мөлшерінен 42 мг/100 г жоғары екендігі анықталды. Оның ішінде: сату үшін әкелінген Каспий теңізінің қазақстандық секторынан ауланған анизакидозбен зақымдалған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы С16:1 пальмитолеин қышқылы мөлшері 307 мг/100 г болса, сату үшін әкелінген Қапшағай су қоймасынан ауланған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы С16:1 пальмитолеин қышқылы мөлшері 319 мг/100 г құрады. Яғни, зақымданбаған балық етінен алынған сынамалар құрамында зақымданған балық етінен алынған сынамалар құрамындағы мөлшерге қарағанда С16:1 пальмитолеин қышқылы мөлшері 12 мг/100 г мөлшерінде жоғары екендігі анықталды.

Қапшағай су қоймасынан ауланған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы С18:1 олеин қышқылының мөлшері 517 мг/100 г болса, Каспий теңізінен ауланған анизакидозбен зақымдалған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы С18:1 олеин қышқылы мөлшері 501 мг/100 г құрады. Яғни, зақымданбаған балық етінен алынған сынамалар құрамында зақымданған балық етінен алынған сынамалар құрамындағы мөлшерге қарағанда С18:1 олеин қышқылы мөлшері 16 мг/100 г мөлшерінде көп екендігі белгілі болды.

Қапшағай су қоймасынан ауланған, анизакидозбен зақымданбаған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы С20:1 гадолеин қышқылы мөлшері 338 мг/100 г болса, Каспий теңізінің қазақстандық секторынан ауланған, анизакидозбен зақымдалған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы С20:1 гадолеин қышқылы мөлшері 324 мг/100 г болғандығы анықталды. Яғни, анизакидозбен зақымданбаған балықтан алынған сынамалар құрамындағы С20:1 гадолеин қышқылының мөлшері зақымданған балықтан алынған сынамалар құрамындағы көрсеткіштен 14 мг/100 г кем екендігін көрсетті.

Май қышқылдарының қасиеттері олардың көміртегі атомдары тізбегінің ұзындығы мен олардың қанығу деңгейлеріне байланысты. Зерттеу нәтижесі бойынша, сату үшін әкелінген Каспий теңізінің қазақстандық секторынан ауланған анизакидозбен зақымдалған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы полиқанықпаған май қышқылдарының мөлшері ($332 \pm 0,5$) мг/100 г болса, салыстырмалы түрде алынған, сату үшін әкелінген Қапшағай су қоймасынан ауланған анизакидозбен зақымдалмаған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы полиқанықпаған май қышқылдарының мөлшері ($377 \pm 0,6$) мг/100 г көрсетті. Яғни, анизакидозбен зақымдалған көксерке балығынан алынған сынамалар құрамындағы полиқанықпаған май қышқылдарының мөлшері, Қапшағай су қоймасынан ауланған анизакидозбен зақымданбаған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы полиқанықпаған май қышқылдарының мөлшерінен 45 мг/100 г төмен екендігі анықталды. Оның ішінде: сату үшін әкелінген Каспий теңізінің қазақстандық секторынан ауланған анизакидозбен зақымдалған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы С18:2 линол қышқылының мөлшері 25 мг/100 г болса, сату үшін әкелінген Қапшағай су қоймасынан ауланған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы С18:2 линол қышқылының мөлшері 28 мг/100 г құрады. Яғни, зақымданбаған балық етінен алынған сынамалар құрамында, зақымданған балық етінен алынған сынамалар құрамындағы мөлшерге қарағанда С18:2 линол қышқылының мөлшері 3 мг/100 г жоғары екендігі анықталды. Сонымен қатар, полиқанықпаған май қышқылдарынан сату үшін әкелінген Қапшағай су қоймасынан ауланған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы С18:3 линолен қышқылы 10 мг/100 г, С20:4 арахидон қышқылының мөлшері 29 мг/100 г болса, С20:5 эйкозопентаен қышқылының мөлшері 19 мг/100 г, С22:5 докозопентаен қышқылының мөлшері 28 мг/100 г, С22:6 докозагексаен қышқылының мөлшері 263 мг/100 г анықталса, бұл мөлшер Каспий теңізінің қазақстандық секторынан ауланған анизакидозбен

зақымдалған көксеркеден алынған сынамалар құрамында C18:3 линолен қышқылы 8 мг/100 г, C20:4 арахидон қышқылының мөлшері 27 мг/100 г болса, C20:5 эйкозапентаен қышқылының мөлшері 18 мг/100 г, C22:5 докозапентаен қышқылының мөлшері 23 мг/100 г, C22:6 докозагексаен қышқылының мөлшері 231 мг/100 г болғандығы анықталды. Яғни, Қапшағай су қоймасынан ауланған, анизакидозбен зақымданбаған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы C18:3 линолен қышқылы 2 мг/100 г, C20:4 арахидон қышқылының мөлшері 2 мг/100 г болса, C20:5 эйкозапентаен қышқылының мөлшері 1 мг/100 г, C22:5 докозапентаен қышқылының мөлшері 5 мг/100 г, C22:6 докозагексаен қышқылының мөлшері 32 мг/100 г жоғары екендігі анықталды.

1-кесте – Салыстырмалы түрдегі көксерке балығы май қышқылдарының мөлшері, мг/100 г

Көрсеткіштер	Қапшағай су қоймасынан ауланған көксерке сынамасы	Каспий теңізінен ауланған көксерке сынамасы
Қаныққан май қышқылдары	733±0,8	690±0,6
C _{14:0} миристин	254±0,5	240±0,7
C _{16:0} пальмитин	404±0,4	392±0,5
C _{18:0} стеарин	56±1,3	41±0,9
C _{17:0} маргарин	19±0,8	17±0,7
Моноқанықпаған май қышқылдары	1174±0,6	1132±0,4
C _{16:1} пальмитолеин	319±0,5	307±0,5
C _{18:1} олеин	517±0,7	501±0,8
C _{20:1} гадолеин	338±0,5	324±0,6
Полиқанықпаған май қышқылдары	377±0,7	332±0,5
C _{18:2} линол	28±0,7	25±0,6
C _{18:3} линолен	10±0,3	8±0,4
C _{20:4} арахидон	29±0,9	27±0,5
C _{20:5} эйкозапентаен	19	18
C _{22:4} докозапентаен	28	23
C _{22:6} докозагексаен	263	231
Май қышқылының жалпы мөлшері	2284±0,2	2154±0,2

Жалпы алғанда, ішкі сауда объектілеріне сату үшін әкелінген Каспий теңізінің қазақстандық секторынан ауланған, анизакидозбен зақымдалған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы май қышқылдарының жалпы мөлшері 2154 мг/100 г болса, Қапшағай су қоймасынан ауланған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы май қышқылдарының жалпы мөлшері 2284 мг/100 г. Біз, мұнан Қапшағай су қоймасынан ауланған көксеркеден алынған май қышқылдарының мөлшері 127 мг/100г артық екендігін анықтадық.

Қорытынды. Агроөнеркәсіп кешенінің негізгі бағыты – халықты сапалы және қауіпсіз тағамдық өнімдермен қамтамасыз ету. Осы мақсатты орындау барысында, ішкі сауда объектілеріне сату үшін әкелінген Каспий теңізінің қазақстандық секторынан ауланған, анизакидозбен зақымдалған көксеркеден алынған сынамалар құрамындағы май қышқылдарының жалпы мөлшері төмен болса, қаныққан май қышқылдары 43 мг/100 г кем, моноқанықпаған май қышқылдары 42 мг/100 г аз болса, полиқанықпаған май қышқылдары 45 мг/100 г жеткіліксіз болып шықты. Яғни, анизакидозбен зақымданған балықты шартты жарамды деп шешім қабылдап, тұтыну алдында технологиялық өңдеуден өткізілуі қажет.

ӘДЕБИЕТ

1. Ветеринариялық (ветеринариялық-санитариялық) қағидалар. – Астана, 2015.
2. Жұмагелдиев А.А., Ромашев К.М., С.Қырықбайұлы. «Ветеринариялық-санитариялық сараптау». ҚазҰАУ. – Алматы, 2018. – Б. 651-653.
3. С. Қырықбайұлы, Т. Телеуғали Ветеринариялық санитариялық сараптау, практикум. – Алматы, 2017. – Б. 321-323.
4. Шуклин Н.Ф. Экспертиза доброкачественности и радиационной безопасности продуктов. Их стандартизация и сертификация. – 2016. – С. 259-271.
5. Ромашев Қ.М., Жұмагелдиев А.Ә. Кәсіби ауланатын жануарлар өнімдерін ветеринариялық санитариялық сараптау және санитариялық бағалау. – Алматы, 2012. – Б. 112-113.

Д.А. Инкарбеков, Н.Н. Асанжанова, Ж.К. Кыдырбаев, А.С. Нурпейсова,
Е.М. Кожамкулов, Ш.Ж. Рыскельдинова, Р.Т. Абитаев

РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК,
г.м. Гвардейский, Казахстан, E-mail: unots@biosafety.kz

ОЦЕНКА СТАБИЛЬНОСТИ ВАКЦИН ПРОТИВ ГРИППА ПТИЦ СУБТИПА H7N9

Аннотация. В работе представлены результаты определения сохраняемости стабильности инактивированной эмульгированной вакцины против гриппа птиц приготовленных из рекомбинантных штаммов NIBRG-267 A/Shanghai/2/2013 и NIBRG-268 A/Anhui/1/2013 субтипа H7N9 при $(4 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ в течении трех месяцев. По результатам проведенных исследований было показано, что опытно-промышленные серии вакцин сохраняют свои физико-химические и биологические свойства при $(4 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ в течение 3 месяцев хранения и вызывают у не менее 80 % птиц образование антител к вирусу гриппа в титре 1:32,6 и 1:40,1 соответственно.

Ключевые слова: вирус гриппа птиц, субтип H7N9, вакцина, стабильность.

Д.А. Инкарбеков, Н.Н. Асанжанова, Ж.К. Кыдырбаев, А.С. Нурпейсова,
Е.М. Кожамкулов, Ш.Ж. Рыскельдинова, Р.Т. Абитаев

ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМҚ,
Гвардейский қтп., Қазақстан

ҚҰС ТҰМАУЫНЫҢ H7N9 СУБТИПІНЕ ҚАРСЫ ВАКЦИНАЛАРДЫҢ ТҰРАҚТЫЛЫҒЫН БАҒАЛАУ

Аннотация. Мақалада құс тұмауынның субтипіне H7N9 қарсы рекомбинантты NIBRG-267 A/Shanghai/2/2013 және NIBRG-268 A/Anhui/1/2013 штамдарынан эмульделіп, инактивтеліп жасалған вакцинаның тұрақтылығының үш ай ішінде $(4 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ температурада сақталуын анықтау нәтижелері көрсетілген. Жүргізілген зерттеулердің нәтижелері бойынша аталмыш вакциналардың тәжірибелік-өнеркәсіптік сериялары 3 ай бойы $(4 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ температурада өзінің физикалық-химиялық және биологиялық қасиеттерін сақтайдығын және егілген құстардың кемінде 80 % - да тұмау вирусына қарсы антиденелердің титрі көрсеткіші сәйкесінше 1:32,6 және 1:40,1 болатындығын көрсетті.

Түйінді сөздер: құс тұмауы вирусы, H7N9 субтипі, вакцина, тұрақтылық.

D.A. Inkarbekov, N.N. Assanzhanova, Zh.K. Kydyrbayev, A.S. Nurpeisova,
Y.M. Kozhamkulov, S.Zh. Ryskeldinova, R.T. Abitaev

RGE "Research Institute for Biological Safety Problems" CS MES RK,
Gvardeiskiy, Kazakhstan

ASSESSMENT OF THE STABILITY OF VACCINES AGAINST AVIAN INFLUENZA SUBTYPE H7N9

Abstract. The paper presents the results of determining the persistence of an inactivated emulsified avian influenza vaccine prepared from the NIBRG-267 A / Shanghai / 2/2013 and NIBRG-268 A / Anhui / 1/2013 strains of the H7N9 subtype at $(4 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ during three months. According to the results of the studies, it was shown that the pilot industrial series of vaccines retain their physicochemical and biological properties at $(4 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ for 3 months of storage and induced at least 80 % of birds to form antibodies to the influenza virus in a titer of 1: 32.6 and 1: 40.1, respectively.

Keywords: avian influenza virus, subtype H7N9, vaccine, stability.

Введение. Высокопатогенные вирусы птичьего гриппа вызывают особую озабоченность вследствие того, что они чрезвычайно лабильны и постоянно претерпевают генетические изменения, которые могут иметь непредсказуемые последствия. По данным отчета Всемирной организации здравоохранения в период с 2013 года по 2020 год идет циркуляция в очагах вспышек болезни в мире разных вариантов H5 (N1-N9), H7N9 и H9N2 [1, 2].

Специфическая профилактика гриппа среди домашних птиц (преимущественно в частных подворьях) в Казахстане с 2008 года по настоящее время выполняется с помощью отечественной коммерческой вакцины инактивированной эмульгированной против высокопатогенного гриппа птиц (серологический вариант H5N1), производства НИИПББ. Благодаря широкому и повсеместному применению этой вакцины обеспечивалось эпизоотологическое благополучие страны по высокопатогенному гриппу птиц H5N1. Анализ эпизоотической ситуации по гриппу птиц в мире и сопредельных Казахстану государств (с 2013 зарегистрированы вспышки вируса гриппа птиц субтипа H5 в семи различных вариациях, а также субтипов H7N9 и H7N7) показал, что нынешний штаммовый состав (A/H5N1, клайд 2.2) вакцины неактуален [3, 4]. Для обеспечения лучшей эффективности вакцины в случае проникновения инфекции в Казахстан, была запланирована работа по обновлению вакцинного штамма.

Для этой цели из NIBSC были получены рекомбинантные штаммы NIBRG-268 и NIBRG-267 субтипа H7N9, и приготовлены опытно-промышленные серии вакцин против гриппа птиц из указанных штаммов.

Целью настоящей работы было определение сохраняемости стабильности вакцин против гриппа птиц субтипа H7N9 при $(4,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ в течении трех месяцев хранения.

Материалы и методы. В работе использованы опытно-промышленные серии инактивированной эмульгированной вакцины против гриппа птиц из штаммов NIBRG-267 A/Shanghai/2/2013 (H7N9) и NIBRG-268 A/Anhui/1/2013 (H7N9), которые были заложены на хранение при температуре $(4,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ в течение 3 мес.

Определение концентрации водородных ионов. Концентрацию водородных ионов в вакцине определяли с помощью pH-метра и выводили среднюю результатов трех измерений.

Определение кинематической вязкости. Определение кинематической вязкости проводили при помощи капиллярного вискозиметра. Метод основан на определении времени истечения через капилляр определенного объема жидкости из измерительного резервуара.

Определение стабильности эмульсии. Контроль стабильности эмульсии вакцин проводили с использованием содержимого из трех флаконов двумя методами (термостатирования в течение 14 дневного срока наблюдения и центрифугирования в течение 1 часа).

Определение сохраняемости стабильности по иммуногенности. Сохраняемость вакцин определяли путем вакцинации 30 сут цыплят (из птицефабрики «Алтын-Кус», г. Алматы) внутримышечно в область груди в объеме $0,5\text{ см}^3$ и оценивали через 28 сут после иммунизации по уровню образования антител в сыворотках крови привитых птиц с помощью реакции торможения гемагглютинации (РТГА) по общепринятой методике. Для этого сыворотки крови предварительно обрабатывали рецептороразрушающим энзимом (RDE), инактивировали в водяной бане при $(56,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ в течение 30 мин. В качестве антигена использовали исходные вирусы H7N9.

Основные результаты исследований. При определении стабильности эмульсии методами центрифугирования и термостатирования через 3 месяца хранения обнаружено появление незначительной прозрачной или желтоватой масляной фракции в верхней части пробирки, что легко устранялось встряхиванием, и не являлось признаком расслоения.

Результаты определения сохраняемости опытно-промышленных серий вакцин из штаммов NIBRG-267 A/Shanghai/2/2013 и NIBRG-268 A/Anhui/1/2013 представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Сохраняемость стабильности вакцин инактивированных эмульгированных против гриппа птиц из штаммов NIBRG-267 A/Shanghai/2/2013 и NIBRG-268 A/Anhui/1/2013 при хранении $(4,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ в течение 3 мес

Наименование показателя	NIBRG-267 A/Shanghai/2/2013		NIBRG-268 A/Anhui/1/2013	
	исх	через 3 мес	исх	через 3 мес
pH	7,3	7,24	7,2	7,16
Кинематическая вязкость	37,0	36,7	37,4	37,2
Стабильность эмульсии по методу центрифугирования	нет расслоения эмульсии	нет расслоения эмульсии	нет расслоения эмульсии	нет расслоения эмульсии
Стабильность эмульсии по методу термостатирования	нет расслоения эмульсии	нет расслоения эмульсии	нет расслоения эмульсии	нет расслоения эмульсии
Иммуногенность (СГТ)	1:39,4	1:32,6	1:53,81	1:40,1

Обсуждение полученных данных. В результате изучения сохраняемости вакцин инактивированных эмульгированных против гриппа птиц из штаммов NIBRG-267 A/Shanghai/2/2013 (H7N9) и NIBRG-268 A/Anhui/1/2013 (H7N9) согласно приведенным выше методам, было установлено что при хранении в течение 3 мес при $(4,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ по физико-химическим и иммунобиологическим характеристикам вакцина соответствует требованиям нормативно-технической документации (СТ 405-1919-04 ГП-096-2017).

Закключение. В результате проведенных работ было определено, что образцы инактивированных эмульгированных вакцин против гриппа птиц из штаммов NIBRG-267 A/Shanghai/2/2013 (H7N9) и NIBRG-268 A/Anhui/1/2013 (H7N9) при хранении в течение 3 мес при $(4,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ обладают сравнительно хорошей стабильностью и вызывают у не менее 80 % вакцинированных птиц образование антител в титре 1:32,6 и 1:40,1, соответственно. Вакцина полностью сохраняет свои иммуногенные свойства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Senne D.A. Avian influenza in North and South America, the Caribbean and Australia 2006-2008 // Avian Dis. – 2010. – Vol. 54. – P. 179-186.
2. Brown I.H. Summary of avian influenza activity in Europe, Asia and Africa 2006-2009 // Avian Dis. – 2010. – Vol. 54. – P. 187-193.
3. OIE Situation Report for avian influenza (latest update: 28 February 2018) http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Animal_Health_in_the_World/docs/pdf/OIE_AI_situation_report/OIE_SituationReport_AI_February2018.pdf
4. WHO. Antigenic and genetic characteristics of zoonotic influenza viruses and candidate vaccine viruses developed for potential use in human vaccines, 22 February 2018. – 2018.

Ж.К. Кошеметов, С.Ш. Нурабаев, Г.Д. Наханова, В.М. Матвеева

*РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК,
пгт. Гвардейский, Казахстан, E-mail: unots@biosafety.kz***ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ПОСТАНОВКИ ИФА НА ОСНОВЕ ШТАММА NIBRG-121 XP (H1N1) ВИРУСА ГРИППА ТИПА А**

Аннотация. Активность специфического антигена, приготовленного на культуре клеток MDCK на основе штамма NIBRG-121 XP (H1N1) после двукратного замораживания и оттаивания составила в реакции гемагглютинации (РГА) 1:256, в реакции диффузионной преципитации (РДП) – 1:8. Опытным путем подобраны оптимальные условия очистки штамма NIBRG-121 XP (H1N1) вируса гриппа, которые включают осаждение вируса ПЭГ-6000 в 7 % конечной концентрации при pH-8,5, ультрацентрифугировании, очистке в градиенте плотности сахарозы, 100-кратное концентрирование, при этом активность очищенного препарата в РГА составила – 1:10240-1:40960, концентрация белка – 1550 мкг/мл. Разрушением вируса с помощью твин-эфира в соотношении 1:1 получен NP белок штамма NIBRG-121XP (H1N1), активность полученных на его основе антисывороток против данного белка на кроликах была высокая и составила в РДП – 1:8-1:16. Активность выделенных гамма-глобулинов из антисывороток по спиртовому методу Кона в РДП составила 1:8-1:16. Приготовлены конъюгаты по методу Wilson и Nakane. На основе приготовленных диагностических препаратов оптимизированы условия постановки иммуноферментного анализа для диагностики гриппа типа А в клинических образцах. Оптимизированный метод иммуноферментного анализа для диагностики гриппа типа А показал высокую специфичность.

Ключевые слова: грипп типа А, иммуноферментный анализ, глобулин, антиген, сыворотка, конъюгат.

Ж.К. Кошеметов, С.Ш. Нурабаев, Г.Д. Наханова, В.М. Матвеева

*ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМҚ,
Гвардейский қтп., Қазақстан***А ТИПТІ ТҰМАУ ВИРУСЫНЫҢ NIBRG-121 XP (H1N1) ШТАММЫНЫҢ НЕГІЗІНДЕ ИФТ ҚОЮ ШАРТТАРЫН ОҢТАЙЛАНДЫРУ**

Аннотация. Екі рет қатыру және ерітуден кейін NIBRG-121 XP (H1N1) штаммының негізінде MDCK жасушаларының өсіндерінде дайындалған телімді антигеннің ГАР-ғы \ белсенділігі 1:256, ДПП-да 1:8 құрады. Тәжірибелік жолмен NIBRG-121 XP (H1N1) тұмау вирусы штаммын тазартудың оңтайлы шарттары іріктеліп алынды, ол үшін вирусты pH-8,5 соңғы концентрациясы 7 % ПЭГ-6000 сұйықтықпен тұндыру, ультрацентрифугалау, сахароза тығыздығының градиентінде тазалау, 100 есе концентриялау кіреді, бұл ретте тазартылған препараттың белсенділігі ГАР-да – 1:10240-1:40960, ақуыз концентрациясы 1550 мкг/мл құрады. Вирусты твин-эфирмен 1:1 қатынасында өңдеу арқылы NIBRG-121XP (H1N1) штамының NP ақуызы алынды, осы ақуыз негізінде арнайы қан сарысуы алынды, қояндарда осы ақуызға қарсы алынған антисарысудың белсенділігі жоғары болды және ДПП-да 1:8-1:16 құрады. Кон спирттік әдісі бойынша антисарысудан бөлінген гамма-глобулиндердің белсенділігі 1:8-1:16 құрады. Wilson және Nakane әдісі бойынша конъюгаттар дайындалды. Дайындалған диагностикалық препараттар негізінде клиникалық үлгілерде А типті тұмауды диагностикалау үшін иммуноферменттік талдау қою шарттары оңтайландырылды. А типті тұмауды диагностикалау үшін иммуноферменттік талдау оңтайландырылған әдісі жоғары тиімділік көрсетті.

Түйін сөздер: А типті тұмау, иммуноферменттік талдау, глобулин, антиген, Сарысу, конъюгат.

Zh.K. Koshemetov, S.Sh. Nurabayev, G.D. Naganawa, V.M. Matveyeva

*RGE “Research Institute for Biological Safety Problems” CS MES RK,
Gvardeiskiy, Kazakhstan***OPTIMIZATION OF CONDITIONS FOR SETTING ELISA BASED ON THE NIBRG-121 XP (H1N1) STRAIN OF THE INFLUENZA A VIRUS**

Abstract. The activity of a specific antigen based on MDCK cell culture based on the NIBRG-121 XP (H1N1) strain after double freezing and thawing was set in RGA 1: 256, in RDP 1: 8. Experimentally selected optimal conditions for the purification of the strain NIBRG-121 XP (H1N1) VG, which include the deposition of the PEG-6000 virus in 7 % of the final concentration at pH-8.5, ultracentrifugation, purification in the density gradient of sucrose, 100-fold concentration, while the activity of the purified drug in the RGA was – 1:10240-1:40960, the protein concentration of 1550 mcg/ml. Using the destruction of the virus by twin-ether in a ratio of 1:1, the NP protein of the nibrg-121XP strain (H1N1) was obtained, on the basis of a specific serum, the activity of the obtained antisera against this protein in rabbits was high and was in the RDP-1:8-1:16. The activity of isolated gamma globulins from antisera by the Kona alcohol method in the RDP

was 1:8-1: 16. Conjugates were prepared using the Wilson and Nakane method. On the basis of the prepared diagnostic preparations, the conditions for setting enzyme immunoassay for the diagnosis of type A influenza in clinical samples are optimized. The optimized enzyme immunoassay method for diagnosing type A influenza showed high specificity.

Keywords: influenza type A, enzyme immunoassay, globulin, antigen, serum, conjugate.

Введение. Свиной грипп (англ. Swine influenza) – условное название заболевания людей и животных, вызываемого штаммами вируса гриппа. Название широко распространялось в средствах массовой информации в начале 2009 года. Штаммы, ассоциированные со вспышками так называемого «свиного гриппа», обнаружены среди вирусов гриппа серотипа С и подтипов серотипа А (А/Н1N1, А/Н1N2, А/Н3N1, А/Н3N2 и А/Н2N3). Эти штаммы известны под общим названием «вирус свиного гриппа». Свиной грипп распространён среди домашних свиней в США, Мексике, Канаде, Южной Америке, Европе, Кении, материковом Китае, Тайване, Японии и других странах Азии [1]. При этом вирус может циркулировать среди людей, птиц и др. видов; этот процесс сопровождается его мутациями [2].

По официальным данным число заболевших людей пандемическим гриппом А/Н1N1 (свиной грипп) в Казахстане в 2009 году зафиксированы в двух областях (Акмолинская, в г. Астана и Алматинская), заболели 15 человек [3, 4, 5].

В связи с этим с целью точной идентификации и типирования подтипов пандемического гриппа А/Н1N1 (свиной грипп), исследования по разработке различных вариантов тест-системы и в том числе иммуноферментного анализа (ИФА) является актуальными.

Материалы и методы. Вирусы. В качестве объекта исследований использовали штамм NIBRG-121 XP (H1N1). Животные: козы местных пород в возрасте до 1 года; куры местных пород; кролики с живой массой 2-2,5 кг.

Для культивирования вируса гриппа (ВГ) типа А и получения вирусосодержащих суспензий с целью наработки специфического антигена и получения очищенных белков (NP и HA) вируса, применяемых для гипериммунизации животных, была использована перевиваемая линия клеток почки собак (MDCK) и зеленой мартышки (Vero), выращенная в 1,5 литровых матрасах стационарным методом и 11-суточные куриные эмбрионы.

Приготовление иммунопероксидазных конъюгатов для ИФА при ВГ типа А. Приготовление иммунопероксидазных конъюгатов включает следующие этапы:

- а) выделение и контроль гамма-глобулинов;
- б) конъюгация выделенных гамма-глобулинов с пероксидазой хрена.

Выделение гамма-глобулинов из специфических сывороток. Выделение гамма-глобулиновой фракции из специфических сывороток крови проводили по методу Кона и с помощью сернокислого аммония $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ [6, 7].

Выделение гамма-глобулинов по методу Кона включает 3 этапа:

- первый - осаждение гамма и бетта-глобулинов;
- второй - отделение бетта-глобулина;
- третий - осаждение гамма-глобулина.

Конъюгация гамма-глобулинов и антител с пероксидазой хрена. Иммунопероксидазные конъюгаты получали по методу Wilson и Nakane [8].

Основные результаты исследований. С целью получения специфических антигенов ВГ типа А для прямого варианта ИФА проводились исследования по отработке оптимальных методов их приготовления. Вирусосодержащую суспензию нарабатывали в MDCK, Vero и 11-суточных развивающихся куриных эмбрионах, инфицированных штаммом NIBRG-121 XP (H1N1). Антигены готовили по следующим методам: осаждение пораженных вирусом клеток MDCK и Vero с помощью низкоскоростного центрифугирования с последующим термолизом клеток. Из вирусосодержащей аллонтонной жидкости (АЖ) ВГ антиген готовили с применением 7 %-го ПЭГ-6000 при pH-8,5. Активность антигенов приготовленных по вышеперечисленным методам в реакции геммагглютинации (РГА) и реакции диффузионной преципитации (РДП) представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Сравнительная активность антигенов, приготовленных различными способами в серологических реакциях

Методы очистки и концентрирования антигенов ВГ А	Кратность замораживания и оттаивания	Сравнительная активность антигенов в	
		РГА	РДП
Осаждение клеточной (MDCK) фракции центрифугированием при 2000 об/мин в течение 30 мин, концентрирование в 100 раз от первоначального объема с последующим замораживанием при минус 40 °С и оттаиванием при комнатной температуре и повторным центрифугированием при 4000-4500 об/мин в течение 20-30 мин	1	1:256-1:512	1:2-1:4
	2	1:256	1:8
	3	1:64	1:8

Осаждение клеточной (Vero) фракции центрифугированием при 2000 об/мин в течение 30 мин, концентрирование в 100 раз от первоначального объема с последующим 1-кратным замораживанием при минус 40 °С и оттаиванием при комнатной температуре и повторным центрифугированием при 4000-4500 об/мин в течение 20-30 мин	1	1:128	1:2
	2	1:32	1:4
	3	1:16	1:4
Осаждение вируса из вирусосодержащей АЖ с помощью ПЭГ-6000 в 7 %-ной конечной концентрации при pH-8,5 в течение 18-24 ч при 4 °С, последующее осаждение антигена центрифугированием при 3000 об/мин в течение 60 мин, концентрирование в 100 раз от первоначального объема, 2-3-кратный термолиз и осветление при 4000-4500 об/мин в течение 20-30 мин		1:1280	1:32

Как видно из данных таблицы 1, для концентрирования и очистки антигенов ВГ штамма NIBRG-121 XP (H1N1) пригодны все испытанные способы его приготовления. Но, более активные культуральные антигены получены по первому методу, при этом методе активность антигена составила в РГА 1:256, в РДП – 1:8. Также активные антигены приготовлены по второму методу, активность антигенов составила в РГА 1:1280, а в РДП – 1:32.

С целью приготовления активных и специфичных диагностических препаратов для разрабатываемых методов диагностики и идентификации ВГ А и его подтипа необходимо получить очищенные и концентрированные препараты данного вируса.

Исходя из этого, были проведены опыты по подбору оптимальных методов очистки штамма NIBRG-121 XP (H1N1) ВГ из вирусосодержащей АЖ куриного эмбриона. Для выделения и очистки вируса из вирусосодержащих суспензий испытаны методы адсорбции вируса на куриных эритроцитах с последующей его элюцией, концентрированием и очисткой в градиенте плотности сахарозы, осаждение ПЭГ-6000 в 7 %-ной конечной концентрации при pH-8,5 с последующим концентрированием методом ультрацентрифугирования и дальнейшей очисткой в градиенте плотности сахарозы. Результаты проведенных нами исследований по подбору оптимальных методов выделения и очистки препаратов ВГ А представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты исследований по подбору оптимальных методов выделения и очистки препаратов ВГ А

Наименование вирусосодержащей суспензии	Кол-во опытов	Активность в РГА	Способ выделения и очистки вируса	Активность очищ. вируса в РГА	Содержание белка мкг/мл
АЖ ВГ А NIBRG-121 XP (H1N1)	3	128	Адсорбция на формализированные эритроциты петуха и элюция вируса при 37 °С, концентрирование в 10 раз	512-1024	1430
АЖ ВГ А NIBRG-121 XP (H1N1)	2	128	Осаждение вируса ПЭГ-6000 в 7 % конечной концентрации при pH-8,5, ультрацентрифугирование, очистка в градиенте плотности сахарозы, 100-кратное концентрирование	10240-40960	1550
Примечание – активность антигена выражена в обратных величинах					

В результате проведенных исследований (таблица 2) было установлено, что все испытанные методы выделения и очистки ВГ А из различных вирусосодержащих суспензий показали положительные результаты. Выделенный вирус обладал высокой гемагглютинирующей активностью. Выделение вируса с применением куриных эритроцитов показало, что вирус хорошо элюировался с эритроцитов с помощью физиологического раствора при температуре 37 °С в течение 4 ч. Гемагглютинирующая активность выделенных препаратов вируса составляла от 1:512 до 1:1024. Дальнейшая очистка вируса в градиенте плотности сахарозы приводила к получению гомогенного препарата с содержанием белка 1430 мкг/мл. Осаждение вируса с помощью ПЭГ-6000 продемонстрировало высокий выход вируса и высокую гемагглютинирующую активность выделенных препаратов вируса, дополнительная очистка этих препаратов в градиенте плотности сахарозы приводила к повышению активности очищенного вируса в РГА- 1:10240-1:40960.

Для получения активных и специфичных антисыворотков к отдельным структурным белкам ВГ А были проведены исследования по выделению типоспецифических вирусных белков, нуклеопротеидного (NP) из очищенных препаратов ВГ штамма NIBRG-121 XP (H1N1). Для этого были испытаны следующие методы: разрушение вируса твин-эфиром в различных соотношениях с последующим удалением НА с помощью эритроцитов петуха, удаление НА и NA с помощью фермента бромелайна с последующим осаждением NP и его очисткой в градиенте плотности сахарозы. Результаты проведенных исследований по выделению и очистке NP белка ВГ из штамма NIBRG-121 XP (H1N1) представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты исследований по подбору оптимальных методов выделения и очистки NP белка из вируса гриппа типа А

Способ очистки препарата вируса	Штамм	Актив-ность в РГА	Способ выделения и очистки NP и М белков	Активность очищенного препарата в		Содержание белка мкг/мл
				ИФА	РГА	
Ультрацентрифугирование и очистка в градиенте плотности сахарозы	NIBRG-121 XP	1024-4096	Разрушение вируса твин-эфиром – 1:0,5, удаление HA эритроцитами петуха, осаждение NP ультрацентрифугированием и очистка через 30 %-ную сахарозу	160	-	47
Выделение с помощью эритроцитов козы, ультрацентр., очистка через 30 %-ную сахарозу	NIBRG-121 XP	1024-4096	Разрушение вируса твин-эфиром – 1:1, удаление HA эритроцитами петуха, осаждение NP ультрацентрифугированием и очистка через 30 %-ную сахарозу	320	-	132
Выделение с помощью эритроцитов козы, ультрацентр., очистка через 30 %-ную сахарозу	NIBRG-121 XP	1024-4096	Обработка вируса бромелайном, разрушение вируса твин-эфиром – 1:1, осаждение NP ультрацентрифугированием и очистка через 30 %-ную сахарозу	80	-	39
Примечания 1 титры антигена выражены в обратных величинах 2 «-» – отрицательный результат						

Как видно из результатов таблицы 3, все испытанные нами методы выделения и очистки NP белка показали положительные результаты, но способ №2 оказался более эффективным, так как в препарате NP, очищенном по данному способу, титры антигена в ИФА и выход препарата были выше.

Очищенный препарат NP исследовали в РГА и ИФА, а также определяли содержание белка по Лоури. Активность в ТФ-ИФА очищенных препаратов NP составила – 1:80-1:320 и содержание белка – 39-132 мкг/мл.

Отсутствие в составе фракций NP белка каких-либо примесей поверхностных белков (HA+NA) или компонентов вирионов подтверждали методом электрофореза в ПААГ-е. Результаты электрофореза представлены на рисунке 1.

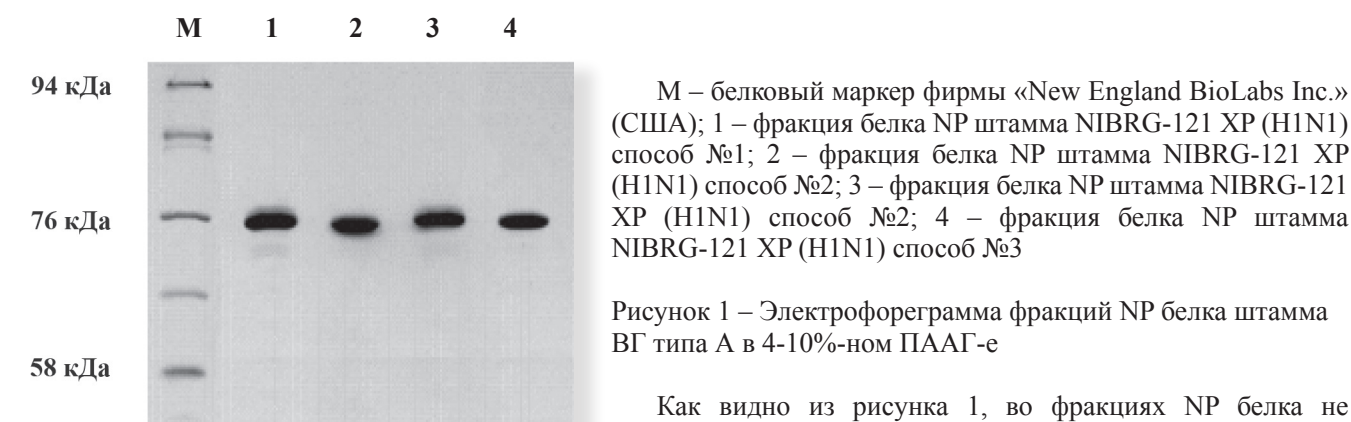


Рисунок 1 – Электрофореграмма фракций NP белка штамма ВГ типа А в 4-10%-ном ПААГ-е

Как видно из рисунка 1, во фракциях NP белка не содержатся каких-либо примесей поверхностных белков (HA+NA) или компонентов вирионов. Используемые нами способы выделения NP белка ВГ штамма NIBRG-121 XP (H1N1) позволяют получать очищенные препараты указанных полипептидов с молекулярными массами (Мм) 58 кДа. Полученные результаты соответствуют данным литературы [9, 10], в которых относительная Мм белка NP данного вируса равна 57-58 кДа.

Специфические антисыворотки к NP белку ВГ А получают на кроликах, крысах и мышах [11-19]. В наших экспериментах для получения сывороток к внутренним белкам ВГ А использовали коз, кроликов и кур.

Для получения антисывороток в качестве антигена для иммунизации животных использовали очищенные препараты внутренних белков из штамма NIBRG-121 XP (H1N1) ВГ типа А.

Первоначально коз, кур местных пород и кроликов весом 2-2,5 кг иммунизировали очищенным препаратом NP из штамма NIBRG-121 XP (H1N1) в область подколенных, надколенных лимфатических узлов, а также внутримышечно в область грудной мышцы по 0,7; 0,4 и 0,5 см³, соответственно.

Схема получения антисыворотки против NP белка из штамма NIBRG-121 XP (H1N1) ВГ типа А представлена в таблице 4.

Таблица 4 – Схема получения специфических антисывороток против белка NP ВГ А на разных видах животных и птиц

№ схемы	Вид животного	Количество голов	Способ введения, объем антигена и адъювант	Концентрация белка в мкг/ см³	Интервал между введениями, сут
1	коза	1	п/к, в область подколенных лимфатических узлов, 2,0 см³ с сапонином в конечной концентрации 0,001 %	250	Через 14 сут после гипериммунизаций тотально обескровили
2	кролик	2	п/к, в область надколенных лимфатических узлов, 0,5 см³ с ISA – 25 в объеме 1,16 см³	800	
3	кролик	2	п/к, в область надколенных лимфатических узлов, 0,5 см³ с ПАФ в соотношении 1:1	80	
4	курица	2	в/м, область грудной мышцы, 0,5 см³ с ISA – 25 в соотношении 1:1	800	Через 18 сут после гипериммунизации тотально обескровили
5	курица	2	в/м, область грудной мышцы, 0,5 см³ с ПЭС – 3 в соотношении 1:1	900	
Примечания 1 «п/к» - подкожно 2 «в/м» - внутримышечно					

Через 14 суток кроликов totally обескровили и активность полученных сывороток определяли в РДП.

Оценку активности и специфичности полученных антисывороток проводили в РДП. Результаты проведенных опытов по получению антисывороток к типоспецифическим белкам ВГ А на кроликах, курах и козах и оценка их активности в РДП представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Оценка активности и специфичности антисывороток, полученных к типоспецифическим белкам ВГ А в РДП

Наименование антисывороток	Схема гипериммунизации	Активность в РДП	
		AgN	AgS
Козья	1	-	1:4
Кроличьи	2	-	1:8-1:16
Кроличьи	3	-	1:8-1:16
Куриные	4	-	1:8
Куриные	5	-	1:8
Примечания 1 «-» – отрицательный результат 2 «AgN» – антиген нормальный 3 «AgS» – антиген специфический			

Как видно из результатов таблицы 5, активность полученных антисывороток против NP белка из штамма NIBRG-121 XP (H1N1) на кроликах была высокая и составила в РДП - 1:8-1:16. Активность антисывороток против NP белка из штамма NIBRG-121 XP (H1N1), полученных на козах и курах, составила в РДП 1:4-1:8.

Таким образом, наиболее активная и специфичная антисыворотка к белку NP ВГ А получена на кроликах.

Из антисывороток полученных на козах, кроликах и курах против NP белка из штамма NIBRG-121 XP (H1N1) нами были выделены иммуноглобулины по спиртовому методу Кона. Активность выделенных гамма-глобулинов проверяли в РДП, результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Оценка активности и специфичности выделенных гамма-глобулинов в РДП

Наименование антисывороток	Схема гипериммунизации	Активность сывороток в РДП		Активность IgG в РДП	
		AgN	AgS	AgN	AgS
Козья	1	-	1:4	-	1:16
Кроличьи	2	-	1:8-1:16	-	1:8
Кроличьи	3	-	1:8-1:16	-	1:16
Куриные	4	-	1:8	-	1:4
Куриные	5	-	1:8	-	1:8

Примечания

- 1 «-» – отрицательный результат
2 «AgN» – антиген нормальный
3 «AgS» – антиген специфический

По данным таблицы 6 видно, что выделенные по спиртовому методу Кона 5 серий гамма-глобулинов против NP белка в РДП показали довольно высокую активность 1:4-1:16. Однако активность кроличьего (схема №3) и козьего (схема №1) иммуноглобулина к NP белку в РДП оказались на один или два порядка активнее – 1:16, чем другие иммуноглобулины.

В дальнейшем при отработке оптимальных условий постановки прямого варианта ИФА в качестве белка для метки с ферментом в опыте взяты иммуноглобулины к NP белку с активностью в РДП 1:16. На основе данных гамма-глобулинов, были приготовлены 2 серии вирусспецифического иммунопероксидазного конъюгата по методу Wilson и Nakane. Активность в ИФА конъюгата составила – 1:400-1:1600 и соответственно рабочий титр – 1:100-1:200.

В ходе оптимизации условий постановки прямого варианта ИФА была испытана оптимальная сенсibilизирующая доза гамма-глобулина, отработаны оптимальные рабочие дозы антигенов и конъюгата к белку NP ВГ А. Также проведена отработка температурно-временных условий контакта иммунореагентов между собой и подбор солевых растворов для их разведения при постановке ИФА.

Для отработки температурно-временных условий процесса сенсibilизации лунок полистироловых планшетов специфическим гамма-глобулинам к белку NP ВГ А исследовали следующие режимы: 2 и 3 ч при 37 °С, 16-18 ч при 4 °С.

Результаты исследований показали, что наиболее оптимальными режимами сенсibilизации лунок полистироловых планшетов специфическим гамма-глобулинам ВГ А являются – 2 ч при 37 °С или 18 ч при 4 °С.

При подборе раствора для сенсibilизации лунок полистироловых планшетов готовили следующие растворы: 0,01М ФБР с pH 7,2-7,4, 0,1М ФСБ с pH 7,2-7,4, 0,01М ФСБ с pH 7,2-7,4, 0,1М КББ с pH 9,6, 0,01М КББ с pH 9,6 и 0,15М физиологический раствор с pH 6,8.

Обсуждение полученных данных. Результаты исследований показали, что наиболее оптимальным раствором для сенсibilизации лунок полистироловых планшетов специфическим гамма-глобулинам к белку NP ВГ А птиц является 0,01М КББ с pH 9,6.

Для отработки температурно-временных условий контакта сенсibilизированного гамма-глобулинам лунок полистирольных планшетов с бычьим сывороточным альбумином, взятым в концентрациях 0,5, 1 и 2 %, использовали следующие режимы: 30 мин, 1 и 1,5 ч при 37 °С.

Результаты исследований показали, что обработка лунок полистироловых планшетов с бычьим сывороточным альбумином в концентрации 1 % в течение 60 мин при температуре 37 °С полностью снимает неспецифический фоновый уровень.

Для отработки температурно-временных условий контакта антигенов с лунками полистироловых планшетов, сенсibilизированным специфическим гамма-глобулином ВГ А испытывались следующие режимы: 1, 2 и 3 ч при 37 °С, 16-18 ч при 4 °С.

Результаты исследований показали, что наиболее оптимальными режимами контакта антигенов с сенсibilизированным специфическим гамма-глобулином к белку NP ВГ А являются – 2 ч при 37 °С или 18 ч при 4 °С.

Взаимодействие вирусспецифического конъюгата к NP ВГ А с комплексом антитело-антиген проводили в течение 0,5; 1; 1,5 и 2 часов при 37 °С. Установлено, что достаточным временем взаимодействия конъюгата с антигеном является 1ч при 37 °С.

Отработанный вариант ИФА был применен для обнаружения типоспецифического антигена ВГ А в различных вируссодержащих препаратах. Результаты этих исследований представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Результаты исследования в ИФА гомологичных и гетерологичных антигенов ВГ А при идентификации типоспецифического антигена

Наименование проб	Кол-во исслед. проб	Активность в ТФ-ИФА	Кол-во полож. проб
АЖ ВГА штамм NIBRG-121 XP (H1N1)	23	640-5120	23
АЖ ВГА штамм А/Тараз/01/09 (H1N1)	17	320-2560	17
АЖ ВГА штамм А/Puerto Rico/8/34 (H1N1)	9	80-1280	9
АЖ ВГА штамм А/Астана/818/09 (H1N1)	15	640-2560	15
АЖ ВГП штамм А/крачка/Ю. А./61 (H5N3)	10	-	-
АЖ ВГП штамм А/цыпленок/Росток/29 (H7N1)	10	-	-
АЖ ВГП штамм А/дом. гусь/Павлодар/1/05(H5N1)	10	-	-
AgS культур. ВГП штамм А/крачка/Ю.А./61 (H5N3)	5	-	-
AgS культур. ВГП штамм А/цыпленок/Росток/29 (H7N1)	5	-	-
AgS культур. ВГП штамм А/дом. гусь/Павлодар/1/05	5	-	-

АЖ ВГП штамм А/Turkey/Massachusetts/3740/65 (H6N2)	5	-	-
АЖ ВГП штамм А/утка/Чехословакия/56 (H4N6)	5	-	-
АЖ ВГП штамм А/утка/Альберта/35/76 (H1N1)	5	640-1280	5
АЖ ВГП штамм А/утка/Германия/215/73 (H2N3)	5	-	-
АЖ ВГП штамм А/утка/Калифорния/72 (H3N8)	5	-	-
AgN культуральный	3	-	-
АЖ неинфицир. КЭ	3	-	-
Эмбрион-вакцина ИЛТ	3	-	-
AgS при ИЛТ	3	-	-
AgS при болезни Гамборо	3	-	-
Вирус инфекционного бронхита штамм «Н-120»	3	-	-
AgS при оспе кур	3	-	-
АЖ болезни Ньюкасла	3	-	-
Примечания 1 Титры антигена выражены в обратных величинах 2 «AgS» - антиген специфический 3 «AgN» - антиген нормальный			

Как видно из результатов данной таблицы 7, во всех испытанных пробах ВГ А различных подтипов с помощью конъюгата к белку NP данного типа вируса выявлен типоспецифический антиген в титрах с 1:80 до 1:5120. В то же время все нормальные и гетерологичные антигены показали отрицательные результаты в ИФА.

Таким образом, конъюгат, приготовленный к белку NP ВГ А и разработанный вариант ИФА пригодны для обнаружения типоспецифического антигена вируса в различных биоматериалах.

Заключение. Для концентрирования и очистки антигенов штамма NIBRG-121 XP (H1N1) ВГ были использованы разные способы. В результате проведенных исследований установлено, что для получения активного и специфичного культурального антигена из клеток MDCK пригоден следующий способ: осаждение клеточной (MDCK) фракции центрифугированием при 2000 об/мин в течение 30 мин, концентрирование в 100 раз от первоначального объема с последующим замораживанием при минус 40 °С и оттаиванием при комнатной температуре и повторным центрифугированием при 4000-4500 об/мин в течение 20-30 мин, активность антигенов в РГА составила 1:256, в РДП – 1:8.

В результате проведенных исследований из числа апробированных нами методов очистки вируса гриппа были подобраны следующие оптимальные методы очистки данного вируса. Осаждение вируса ПЭГ-6000 в 7 % конечной концентрации при pH-8,5, ультрацентрифугирование, очистка в градиенте плотности сахарозы, 100-кратное концентрирование. Гемагглютинирующая активность выделенных препаратов вируса составляла от 1:10240 до 1:40960, с содержанием белка 1550 мкг/мл.

В результате проведенных исследований отработана следующая оптимальная схема выделения белка NP из очищенных препаратов ВГ А: разрушение вируса твин-эфиром – 1:1, удаление НА эритроцитами петуха, осаждение NP ультрацентрифугированием и очистка через 30 %-ную сахарозу. Очищенный препарат NP исследовали в РГА и ТФ-ИФА, а также определяли содержание белка по Лоури. Активность в ТФ-ИФА очищенных препаратов NP составила – 1:320 и содержание белка – 132 мкг/мл.

Специфические антисыворотки к белку NP ВГ А получали на козах местной породы, кроликах и курах. Для получения антисывороток в качестве антигена для иммунизации животных использовали очищенные препараты внутренних белков штамма NIBRG-121 XP (H1N1) ВГ типа А.

Активность полученных антисывороток против NP белка из штаммов NIBRG-121 XP (H1N1) на кроликах была высокая и составила в РДП – 1:8-1:16. Активность антисывороток против NP белка полученных на козах и курах, составила в РДП 1:4-1:8.

Выделенные по спиртовому методу Кона гамма-глобулины против NP белка в РДП показали довольно высокую активность 1:4-1:32.

В дальнейшем при отработке оптимальных условий постановки прямого варианта ИФА в качестве белка для метки с ферментом в опыте нами взяты иммуноглобулины к NP белку из штамма NIBRG-121 XP (H1N1). На основе данных гамма-глобулинов, были приготовлены 2 серии вирусспецифического иммунопероксидазного конъюгата по методу Wilson и Nakane. Активность в ИФА конъюгата, приготовленного на основе гамма-глобулина, выделенного спиртовым методом, составила 1:400-1:1600 и соответственно рабочий титр – 1:50-1:200. Конъюгат активен и не дает неспецифических реакций с контрольными нормальными и гетерологичными антигенами в рабочем разведении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Swine influenza // The Merck Veterinary Manual. – 2008.
2. http://www.who.int/csr/swine_flu/swine_flu_faq.pdf.
3. <http://www.centrasia.ru/newsA.php?st=1248409680>.
4. <http://www.newsru.com/world/31jul2009/15kazah.html>.
5. http://www.almanews.kz/society/svinioj-gripp-uzhe-v-kazaxstane_6506.html.

6. Фримель Г. Иммунологические методы. - М: «Медицина», 1987. - 472 с.
7. Ахмедов А.М. Белки сыворотки крови при инфекционных болезнях животных. - М: «Колос», 1968. - С. 31-36.
8. Wilson M.B., Nakane P.K. Resent development in the periodate method of conjugating horseradish peroxides (HRPO) to antibodies // Biomedical press. -1978. - P. 215-244.
9. Иванова В.Т., Говоркова Е.А., Закстельская Л.Я. Сравнительная характеристика биофизических свойств белков вирусов гриппа А, В и С // Вопр. вирусол. - 1984. - Т. 29, - №3. - С. 276-281.
10. Иванова В.Т., Исаченко В.А., Закстельская Л.Я., Жданов В.М. Сравнительное изучение электрофоретической подвижности полипептидов вирусов гриппа рода А птиц // Вопр. вирусол. - 1979. - №5. - С. 505-510.
11. Ehrnts Anneka, Sundqvist Karl-Gosta. Polar appearance and nonlignad induced spreading of measles virus haemagglutinin at the surface of chronically infected cells // J. Cells. - 1975. - Vol. 5 (4). - P. 351-359.
12. Мукажанова Г.Н., Синяков М.С., Харитоненков И.Г. Особенности выделения гемагглютинаина вируса гриппа с помощью очищенного бромелина // Вопр. вирусол. - 1981. - №3. - С. 275-279.
13. Daniels R.S., Douglas A.R., Gonsalves-Scarano F., Palu G., Skehel J.J., Brown E., Khossow M., Wilson I.A., Wiley D.C. Antigenic structure of influenza virus haemagglutinin // In: The origin of Pandemic Influenza Viruses. - New-York, 1984.
14. Pitko Veli-Matti, Pyokari Pekka, Nase Leena, Mantyarvi Rauno. Effect of β -propiolactone on infectivity and haemagglutinin of the BK virus // J. Acta pathol. et microbiol. scand. - 1975. - Vol. 83 (2). - P. 141-144.
15. Иванова В.Т., Кордюкова Л.В., Маныкин А.Н. Использование бромелайна для получения субвирусных частиц вируса гриппа А и В // Вопр. вирусол. - 2003. - №5. - С. 14-18.
16. Ron A. et al. Characterization of a Novel Influenza A virus Haemagglutinin subtype (H16) obtained from Black-Headed Gulls // J. Virol. - 2005. - 79 (5). - P. 2814-2822.
17. Senne D.A., Panigrahy B., Kawaoka Y. et al. Survey of the hemagglutinin (HA) cleavage site sequence of H5 and H7 avian influenza viruses: amino acid sequence at the HA cleavage site as a marker of pathogenicity potential // Avian Diseases. - 1996. - Vol. 40 (2). - P. 425-437.
18. Петров Р.В., Хаитов Р.М. Получение гипериммунных сывороток к белку М вируса гриппа // Вопр. вирусол. - 1984. - №3. - 271 с.
19. Altstein A.D. et al. Immunization with influenza A NP-expressing vaccine virus recombinant protect mice against experimental infection with human and avian influenza viruses // Arch Virol. - 2006. - 151 (5). - P. 921-31.

УДК 619:616.98:578.835

Б.Ш. Мырзахметова, Л.Б. Кутумбетов, А.К. Наханов

*РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК,
г.м. Гвардейский, Казахстан, E-mail: unots@biosafety.kz*

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ФИБРОБЛАСТОВ КУРИНЫХ ЭМБРИОНОВ ДЛЯ ПРОДУКЦИИ ВИРУСА ГЕРПЕСА ИНДЕЕК

Аннотация. В статье приведены результаты изучения технологических параметров приготовления монослойной культуры фибробластов куриных эмбрионов и поддержания жизнеспособности этих клеток в состоянии суспензии в качестве субстрата-продуцента вируса герпеса индек.

Ключевые слова: технология, вирус, фибробласты куриных эмбрионов, культивирование, монослой, биомасса, титр, суспензия, культура клеток, вакцина, субстрат.

Б.Ш. Мырзахметова, Л.Б. Кутумбетов, А.К. Наханов

*ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМҚ,
Гвардейский қтп., Қазақстан*

КҮРКЕТАУЫҚ ГЕРПЕС ВИРУСЫН ӨНДІРУГЕ АРНАЛҒАН ТАУЫҚ ЭМБРИОНДАРЫ ФИБРОБЛАСТТАРЫН ӨСІРУ

Аннотация. Мақалада тауық эмбриондары фибробласттарының монокабатты өсіндісін дайындаудың және күркетауық герпес вирусының субстрат өндірушісі ретінде суспензия жағдайында осы жасушалардың өміршеңдігін сақтаудың технологиялық параметрлерін зерттеу нәтижелері келтірілген.

Түйін сөздер: технология, вирус, тауық эмбриондары фибробласттары, өсіру, монокабат, биожиынтық, титр, суспензия, жасуша өсіндісі, вакцина, субстрат.

CULTIVATION OF FIBROBLASTS OF CHICKEN EMBRYOS FOR PRODUCTION OF TURKEY VIRUS HERPES VIRUS

Abstract. The article presents the results of studying the technological parameters for preparing a monolayer culture of chicken embryo fibroblasts and maintaining the viability of these cells in suspension as a substrate producer of turkey herpes virus.

Keywords: technology, virus, chicken embryo fibroblasts, cultivation, monolayer, biomass, titer, suspension, cell culture, vaccine, substrate.

Введение. Большинство вирусных возбудителей болезней птиц *in vitro* репродуцируются в развивающихся куриных эмбрионах и культуре фибробластов, приготовленных из этих объектов [1]. Поэтому в биотехнологии изготовление биологических препаратов, предназначенных для диагностики и специфической профилактики вирусных болезней птиц в качестве субстрата-продуцента возбудителей таких болезней используют развивающиеся куриные, в некоторых случаях утиные эмбрионы или культуру клеток, приготовленную из их фибробластов или отдельных органов: почки, печень, сердце, эпителий трахеи, кожа и др. Перечисленные субстраты используются также для прямой вирусологической диагностики болезней путем детекции возбудителя [2]. Развивающиеся куриные эмбрионы и культуру фибробластов таких эмбрионов используют и в практике производства вакцины против болезни Марека из собственного гомологического возбудителя или гетерологического вируса герпеса индеек [3]. Использование субстратов-продуцентов вирусов в производстве биологических препаратов требует в каждом случае, в зависимости от используемого штамма вируса, цели исследования или производства, разработки стандартизированного способа приготовления культуры клеток и тканей, позволяющего производить биомассу вируса с требуемыми иммунобиологическими параметрами. Исходя из изложенного целью исследований являлась разработка технологических параметров приготовления и поддержания культуры фибробластов куриных эмбрионов, пригодных для использования в производстве биомассы вируса герпеса индеек, необходимой для изготовления вакцины против болезни Марека.

Методика исследований. В исследованиях использовали развивающиеся куриные эмбрионы 10-11-суточного возраста, из которых готовили культуру фибробластов куриных эмбрионов путем первичной трипсинизации. Трипсинизацию проводили с помощью 0,5 % раствора трипсина в 1-2-х литровых колбах на магнитной мешалке. Перед трипсинизацией эмбрионы подвергали измельчению, разрезая на мелкие кусочки ножницами [4-7].

Культуру фибробластов куриных эмбрионов в монослое получали путем культивирования трипсинизированных клеток стационарным способом в плоских матрасах и роллерным – в круговых сосудах. В качестве питательной среды для адгезии и роста клеток монослоем использовали питательную среду по прописи Игла, содержащую ионы кальция и 10 % фетальной сыворотки крови крупного рогатого скота. Питательную среду вносили в сосуды из расчета 10 % от общего внутреннего их объема.

В целях установления наиболее продуктивных технологических параметров, позволяющих получать однородную монослойную культуру клеток, способную сравнительно продолжительно сохраняться монослоем на поверхности адгезии (внутренней поверхности сосудов) изучали влияние показателей множественности посева трипсинизированных фибробластов на единицу объема питательной среды и кратности замены питательной среды в процессе культивирования на формирование требуемого качества монослоя в зависимости от способа культивирования.

Культуру клеток фибробластов куриных эмбрионов, поддерживаемых суспензионным способом, получали путем внесения и инкубации трипсинизированных клеток в реакторе специального аппарата-ферментера типа LabFors, производства Швейцария. Для поддержания жизнеспособности клеток и препятствия их адгезии на стенках реактора в качестве питательной среды использовали питательную среду по прописи Игла без содержания ионов кальция с добавлением 15 % сыворотки крови крупного рогатого скота.

В целях установления наиболее щадящих технологических параметров, позволяющих более продолжительное время поддерживать жизнеспособность клеток изучали влияние показателей множественности посева трипсинизированных фибробластов на единицу объема питательной среды в реакторе и скорости оборотов суспензии клеток вокруг оси, способствующей клеткам находиться во взвешенном состоянии.

Основные результаты исследований. Результаты приготовления монослойной культуры фибробластов куриных эмбрионов и наблюдения за сохранением этой культуры клеток приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Динамика формирования и сохранения монослоя культуры фибробластов куриных эмбрионов

Концентрация высеваемых клеток, тыс кл/см ³	Сосуды для выращивания монослоя клеток		Сроки формирования монослоя клеток, сутки	Сроки сохранения монослоя клеток, сутки	Примечание
	Вид	Кол-во, шт			

100	1,5-литровый матрас	3	Не сформировался за 7 суток	Одиночные и группы клеток в течение 7 суток	Полный монослой клеток не формируется
	0,5-литровый круговой флакон	3	Не сформировался за 7 суток	Одиночные и группы клеток в течение 7 суток	Полный монослой клеток не формируется
200	1,5-литровый матрас	3	Сформировался за 3-4 суток, не полностью	Сохранился в течение 5-7 суток	Полный монослой клеток формируется
	0,5-литровый круговой флакон	3	Сформировался за 3-4 суток, не полностью	Сохранился в течение 5-6 суток	Полный монослой клеток формируется
300	1,5-литровый матрас	3	Сформировался за 2-3 суток	Сохранился в течение 5-6 суток	Полный монослой клеток формируется
	0,5-литровый круговой флакон	3	Сформировался за 3-4 суток, не полностью	Сохранился в течение 4-6 суток	Полный монослой клеток формируется
400	1,5-литровый матрас	3	Сформировался за 2 суток	Сохранился в течение 4 суток	Полный монослой клеток формируется
	0,5-литровый круговой флакон	3	Сформировался за 2-3 суток	Сохранился в течение 4-6 суток	Полный монослой клеток формируется
500	1,5-литровый матрас	3	Сформировался за 1,5-2 суток	Сохранился в течение 3-4 суток	Полный монослой клеток формируется
	0,5-литровый круговой флакон	3	Сформир-вался за 2 суток	Сохранился в течение 3 суток	Полный монослой клеток формируется

Как видно из данных таблицы 1, клетки в концентрации 100 тыс кл/см³ при высева в 1,5-литровые плоские сосуды/матрасы и круговые флаконы емкостью 0,5 л не смогли сформировать монослой в течение 7 суток культивирования при температуре 37 °С стационарным и роллерным способами, соответственно. При увеличении концентрации посевных клеток двукратно монослой клеток сформировался на 3-4 сутки, который сохранился в течение последующих 5-7 суток в плоских матрасах и 5-6 суток в круговых флаконах. Однако монослой клеток в сосудах, не зависимо от способа культивирования оставался не полным, покрывая только до 70-80 % поверхности стекла. При концентрации посевных клеток 300 тыс кл/см³ монослойная культура клеток появилась уже на 2-3 сутки в матрасах и на 3-4 сутки в круговых сосудах, и она продержалась на поверхности стекла сосудов (плоские матрасы и круговые флаконы) в течение 5-6 суток и 4-6 суток, соответственно. В этих исследованиях, если в матрасах культура клеток покрывала всю поверхность адгезии, то в круговых сосудах оставались пустоты примерно на 10-20 % площади поверхности стекла. Дальнейшее увеличение концентрации клеток до 400 и 500 тыс кл/см³ приводило более быстрому образованию монослоя, сроки которого не превышали 2-3 суток. Однако сформированный монослой фибробластной культуры клеток в матрасах долго не сохранялся и в течение 3-4 суток культивирования начинал отслаиваться от поверхности стекла. В противовес в круговых сосудах монослой был полный и при посевной концентрации клеток 400 тыс кл/см³ он сохранялся без отслоения в течение 4-6 суток.

Полученные данные свидетельствуют о том, что для приготовления монослойной культуры клеток фибробластов куриных эмбрионов, необходимой для продукции вируса герпеса индеек, следует использовать концентрацию посевных клеток в пределах 200-300 тыс кл/см³, при котором монослой формируется на 2-4 сутки и сохраняется без отслаивания от стекла в течение 5-7 суток на внутренней поверхности стеклянных плоских и круговых сосудов. Уменьшение концентрации посевных клеток значительно увеличивает срок формирования монослоя или он вовсе не формируется, а повышение концентрации клеток значительно сокращает сроки формирования монослоя, но в процессе дальнейшего культивирования за сравнительно короткие сроки, которые составляют 3-4 суток, начинает монослой отслаиваться от поверхности культивирования.

Результаты приготовления суспензии фибробластов куриных эмбрионов и поддержания их жизнеспособности во взвешенном состоянии в суспензии приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Концентрация живых фибробластных клеток в суспензии в динамике культивирования глубинным способом, тыс кл/см³

Посевная концентрация клеток, тыс кл/см ³	Режим работы реактора		Сроки подсчета живых клеток после посева, ч									
	Объем среды, л	Скорость вращения, об/мин	24		48		72		96		120	
			абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
500	2,5	60	350	70	300	60	300	60	270	54	250	50
	3,4	120	320	64	310	62	280	56	250	50	230	46
1000	3,2	60	830	83	790	79	720	72	690	69	610	61
	3,7	120	800	80	780	78	730	73	700	70	640	64
1500	3,5	60	1300	8789	1260	84	1150	77	970	65	870	58
	3,7	120	1370	91	1310	87	1270	85	1130	75	1100	73
2000	4,0	60	1820	91	1650	83	1480	74	1350	68	1270	64
	3,5	120	1850	93	1700	85	1690	85	1530	77	1410	71

Как видно из данных таблицы 2, с повышением концентрации посевных клеток процент выживаемости клеток фибробластов заметно увеличивается. Выбранные два уровня скорости вращения суспензии клеток с помощью лопастей реактора не оказали заметного влияния на продолжительность выживания клеток. Но при низкой скорости вращения была отмечена тенденция у клеток к оседанию. Изучение динамики сохранения жизнеспособности клеток показало, что в процессе культивирования в режиме, выбранном в таблице 2 (концентрация клеток от 500 тыс кл/см³ до 2 000 тыс кл/см³, температура инкубации 37 °С, наполнение реактора от 40 % до 67 %, скорость вращения суспензии от 60 до 120 об./мин, количество водородных ионов в среде от 7,2 до 7,4), через 24 часа от 64 % до 93 % фибробластов куриных эмбрионов остаются жизнеспособными, через 48 часов их количество составляет от 60 до 87 %, через 72 часа – от 60 до 85 %, через 96 часов – от 54 % до 75 % и через 120 часов – от 46 % до 73 %. Динамика выживаемости клеток показывает, что повышение концентрации высеваемых фибробластов положительно сказывается на количестве живых клеток в суспензии. Если, при концентрации посевных клеток 500 тыс кл/см³ средняя выживаемость фибробластов в течение 5 суток составляет от 67 % в первые сутки до 48 % на пятые сутки, то при более высоких концентрациях показатель выживаемости за тот же период составляет: при 1000 тыс кл/см³ от 81,5 % в первые сутки до 62,5 % на пятые сутки, при 1 500 тыс кл/см³ от 89 % в первые сутки до 65,5 % на пятые сутки, при 2000 тыс кл/см³ от 92 % в первые сутки до 67,5 % на пятые сутки. Двукратное увеличение концентрации посевных клеток позволило повысить выживаемость фибробластов на 14,5 % к концу пятого дня культивирования, а трех- и четырехкратное их увеличение – на 17,5 % и 19,5 %, соответственно.

Обсуждение полученных данных. Таким образом, полученные данные позволяют заключить о том, что для получения монослойной культуры фибробластов куриных эмбрионов, пригодной для репродукции вируса герпеса индеек, необходимо трипсинизированные фибробласты высевать в концентрации 300 тыс кл/см³ при стационарном культивировании и 400 тыс кл/см³ – роллерном культивировании. При таких параметрах посева суспензии трипсинизированных клеток монослой сохраняется без отслоения в течение 5-6 суток в матрасах и 4-6 суток в круговых сосудах.

Заключение. Эффективной посевной концентрацией фибробластов куриных эмбрионов, позволяющей поддерживать жизнеспособным в состоянии суспензии наибольшее количество живых клеток в течение 5 суток, в проведенных исследованиях является $1,5 \times 10^6 - 2 \times 10^6$ кл/см³.

Сроки сохранения монослоя клеток продолжительностью в 4-6 суток и выживания клеток в течение 5 суток в суспензии дает возможность использовать описанную технологию для продукции вируса герпеса индеек.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бочарников А.В. Разработка средств специфической профилактики Ньюкаслской болезни, инфекционного ларинготрахеита и оспы птиц: автореф.... докт. вет. наук. - Владимир, 2004. - С.49.
2. Игудин Л.И., Соломина А.А., Лысенко Т.П. и др. Оптимизация условий репродукции вирусов в культурах клеток // Культивирование клеток животных и человека. 2-е Всесоюз. совещание. - Пушино, 1985. - С.26.
3. Куляшбекова Ш.К. Изучение иммуногенных свойств экспериментальных образцов сухой вирусвакцины из штамма вируса герпеса индеек «ВНИИЗЖ» // Современные аспекты ветеринарной патологии животных. – Владимир, 1998. - С. 152-159.
4. Адамс Р. Методы культуры клеток для биохимиков. – М.:Мир, 1983. - С. 70-71.
5. Аспанидзе Б.П. Первичные и диплоидные культуры клеток легкого плода коровы для вирусологических исследований: автореф. дис. ...канд. наук. - М., 1987.
6. Новохатский А.С., Михайлова Г.Р., Царева А.А. и др. Каталог перевиваемых клеточных линий // ВИНТИ. - М., 1979. - Т.3. - 89 с.
7. Манин Б.Л., Кузнецова Е.Г., Коропова Н.В. и др. Мониторинг микоплазменной контаминации постоянных клеточных культур // Актуальные проблемы инфекционной патологии животных. - Владимир, 2003. - С. 250-253.

Б.Ш. Мырзахметова, А.К. Наханов, Г.А. Жаппарова, Г.У. Есимова,
Б. Жолдыбаева, Л.Г. Мараховская

РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгт.
Гвардейский, Казахстан, E-mail: unots@biosafety.kz

ПОЛУЧЕНИЕ, СЕЛЕКЦИЯ И КАРИОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ДИПЛОИДНОЙ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ТЕСТИКУЛ ЯГНЕНКА

Аннотация. При исследований цитологических и кариологических характеристик культуры клеток тестикул ягненка клона 50А-11 установлено, что при росте *in vitro* до 30 пассажного уровня клетки не изменили свой хромосомный набор, и как большинство клеточных линий не утратили характерный диплоидный набор хромосом. Модальное число хромосом культуры клеток тестикул ягнят клона 50А-11 составляет 54 хромосом, 56 % клеток. Диапазон распределения числа хромосом не широкий (от 48-58), что соответствует диплоидной культуре клеток.

Ключевые слова: клетка, клон, селекция, кариология, цитоморфология, митотический индекс, субпопуляция, адгезия, пролиферация, пассаж.

Б.Ш. Мырзахметова, А.К. Наханов, Г.А. Жаппарова, Г.У. Есимова,
Б. Жолдыбаева, Л.Г. Мараховская

ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМҚ,
Гвардейский қтп., Қазақстан

ҚОЗЫ ТЕСТИКУЛАСЫНЫҢ ДИПЛОИДТТЫ ЖАСУШАСЫН АЛУ, СУРЫПТАУ ЖӘНЕ КАРИОЛОГИЯЛЫҚ СИПАТТАМАСЫ

Аннотация. Қозы тестикуласының 50А-11 клонының жасушалық өсіндісінің цитологиялық және кариологиялық сипаттамаларын зерттегенде, *in vitro* 30 пассажды деңгейге көтерілгенде, клеткалар өздерінің хромосома жиынтығын өзгертпейтіні және көптеген жасушалық сызықтар сияқты сипаттамалы диплоидты хромосомалар жиынтығын жоғалтпағаны анықталды. 50А-11 клонының қозы тестикуласының жасушалық өсіндісінің модальды саны – 54 хромосома, жасушалардың 56 % құрайды. Хромосомалар санының таралу ауқымы кең емес (48-58 аралығында), бұл диплоидты жасуша өсіндісіне сәйкес келеді.

Түйін сөздер: жасуша, клон, селекция, кариология, цитоморфология, митоздық индекс, субпопуляция, адгезия, пролиферация, пассаж.

B.Sh. Myrzakhmetova, A.K. Nakhanov, G.A. Zhapparova, G.U. Yessimova,
B. Zholdybaeva, L.G. Marakhovskaya

RGE “Research Institute for Biological Safety Problems” CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan

OBTAINING, SELECTION AND KARIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF DIPLOID CULTURE OF CELLS LAMB TESTICLES

Abstract. When studying the cytological and karyological characteristics of the cell culture of testicles of lamb of clone 50A-11, it was found that when *in vitro* increased to 30 passive levels, the cells did not change their chromosome set, and like most cell lines did not lose their characteristic diploid set of chromosomes. The modal number of chromosomes of the TL cell culture of clone 50A-11 is 54 chromosomes, 56 % of the cells. The distribution range of the number of chromosomes is not wide (from 48-58), which corresponds to a diploid cell culture.

Keywords: cell, clone, selection, karyology, cytomorphology, mitotic index, subpopulation, adhesion, proliferation, passage.

Введение. В клеточной биотехнологии первичные и перевиваемые культуры клеток применяются в технологиях приготовления вакцин и диагностикумов, необходимых при специфической профилактике и диагностике инфекционных болезней [1, 2, 3]. Однако первичные культуры клеток используются одноразово сразу после приготовления и нет возможности их стандартизировать по чистоте от бактериальных, вирусных и грибковых контаминантов, чувствительности и производительности [4]. В связи, с чем получение культур клеток, которых можно поддерживать в лабораторных условиях путем пересевов и криоконсервации и подвергать стандартизации по цитоморфологическим параметрам, является актуальной задачей в производстве биологических препаратов ветеринарного назначения.

Целью данной работы явилось получение, селекция и кариологическая характеристика диплоидной культуры клеток тестикул ягненка.

Методика исследований. Для проведения цитоморфологического анализа готовили цитологические препараты. Культуру клеток выращивали в пенициллиновых флакончиках со стеклами. Использовали 1-2 суточную культуру клеток. Из флакончиков выливали среду и трехкратно промывали покровные стекла

теплым раствором Хенкса. Затем клетки фиксировали в течение 20 мин фиксатором Карнуа. После фиксации стекла просушивали фильтровальной бумагой и заливали 70 %-ным этиловым спиртом. После этого стекла ополаскивали дистиллированной водой и помещали в гематоксилин на 20 мин. Затем ополаскивали несколько раз дистиллированной водой, слегка просушивали и помещали на 1-2 мин в аммиачную воду. В аммиачной воде препараты синели. Для окраски цитоплазмы стекла помещали в 0,1 % раствор эозина на 30-60 секунд. При этом цитоплазма приобретает розовый оттенок. После эозина стекла промокали фильтровальной бумагой, и препарат последовательно выдерживали в следующих растворах:

1. 96 % этиловый спирт (C_2H_5OH)
2. 96 % этиловый спирт (C_2H_5OH)
3. 96 % этиловый спирт (C_2H_5OH) + ксилол
4. ксилол

В первых трех растворах препараты держали не более 1 мин. После этого препараты оставляли в ксилоле на 20-30 мин. После стекла просушивали с помощью груши, помещали на предметное стекло, а затем заключали в балласт. Митотическую активность определяли анализом состояния не менее чем 1000 клеток.

Для замораживания культуры клетки снимали с матраса диспергирующей смесью версена и трипсина. Полученную клеточную суспензию центрифугировали при 1000 об/мин в течение 5 минут. Надосадок сливали, затем клетки ресуспендировали в небольшом количестве питательной среды. От объема полученной клеточной суспензии добавить 20 % нативной сыворотки крупного рогатого скота и 10 % диметилсульфоксида (ДМСО). Полученную суспензию клеток помещают на 1,5-2 часа при температуре 4-6 °С, для эквilibрации криогенного вещества в клетки. После охлажденные клетки помещали в низкотемпературный холодильник на минус 70 °С, затем на длительное хранение в сосуды Дьюара с жидким азотом.

Для определения модального класса клеточных культур использовали метод кариологического анализа. Разнообразные методики приготовления препаратов метафазных пластинок хромосом, существующие в настоящее время и является модификациями метода Мурхеда [5, 6]. При этом методе необходимо осуществить накопление метафазных пластинок с помощью колхицина, обработку гипотоническим раствором, фиксирование препаратов и их окраску. В матрас с растущей культурой клеток стерильно добавляли колхицин, время экспозиции устанавливали эмпирически. Через 2-17 часов среду с колхицином выливали и клетки снимали диспергирующей смесью в соотношении 1:1. Полученную суспензию равномерно распределяли в 4 центрифужные пробирки и центрифугировали в течение 6 мин при 1000 об/мин. Надосадочную жидкость сливали, в осадок по 1-2 капли добавили гипотонический раствор комнатной температуры (0,56 % раствор хлористого калия и 1 % раствор цитрата натрия в соотношении 1:1). Гипотоническим раствором клетки обрабатывали от 15 до 30 мин. Затем центрифугировали в течение 5 мин при 1000 об/мин. Надосадочную жидкость сливали и к осадку добавляли по каплям 2 мл раствора фиксатора (9 мл абсолютный метиловый спирт + 3 мл ледяная уксусная кислота). В фиксаторе выдерживали 10 мин, затем дважды центрифугировали. После фиксации клетки раскапывали по 3 капли на мокрое охлажденное стекло, сушили на воздухе затем над спиртовкой. Препараты красили раствором Гимза.

Для определения оптимального соотношения диспергирующей смеси, необходимого для снятия клеточного монослоя с подложки культуральной посуды использовали трипсин и версен. С этой целью монослойную культуру клеток обрабатывали версеном и смесью трипсина-версена в различных соотношениях. По образованию клеточного монослоя через 24 часа после посева и по количеству мертвых клеток после снятия, судили об оптимальности соотношения диспергирующей смеси.

Культуру клеток сеяли в чашках Карреля, после образования монослоя их снимали диспергирующей смесью в различных соотношениях и засекали время экспозиции. Затем подсчитывали количество живых и мертвых клеток. Полученную суспензию сеяли в пробирки для характеристики монослоя через сутки культивирования.

Основные результаты исследований. Для цитологического изучения клона 50А-11 диплоидной культуры клеток тестикул ягнят (ТЯ) готовили препараты с окраской клеток гематоксилин-эозином. Препараты микроскопировали, описывали и подсчитывали митотический индекс, а также с помощью цифровой микроскопической камеры ZEISS фотографировали окрашенные клетки (рисунки 1, 2).

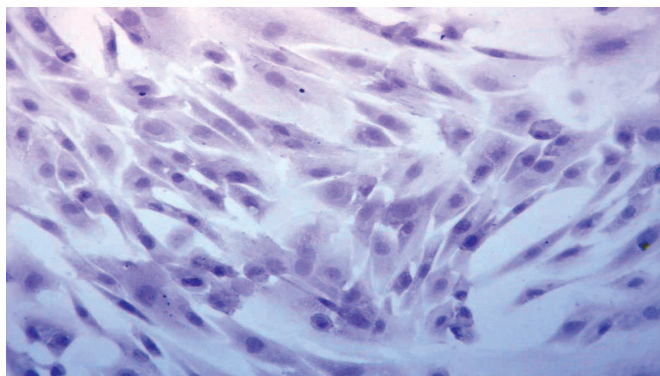


Рисунок 1 – Диплоидная культура клеток ТЯ 50А-11 (увх20), окраска на гематоксилин-эозин

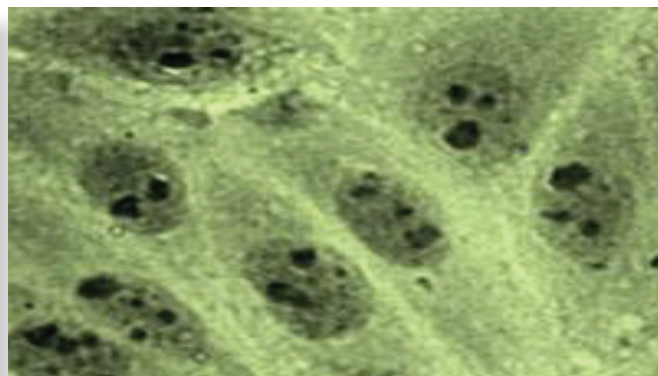


Рисунок 2 – Клон 50А-11 диплоидной культуры клеток ТЯ, окраска на гематоксилин-эозин

При цитоморфологическом изучении культуры клеток ТЯ 50А-11 установлено, что клетки относятся к фибробластоподобному типу. Ядра крупные овальной формы, число ядрышек насчитывает 1-2, встречаются 3. Соотношение размеров диаметра ядра и цитоплазмы 1:2, 1:3. Цитоплазма зернистая. Митотический индекс составляет 10 % (рисунок 3).

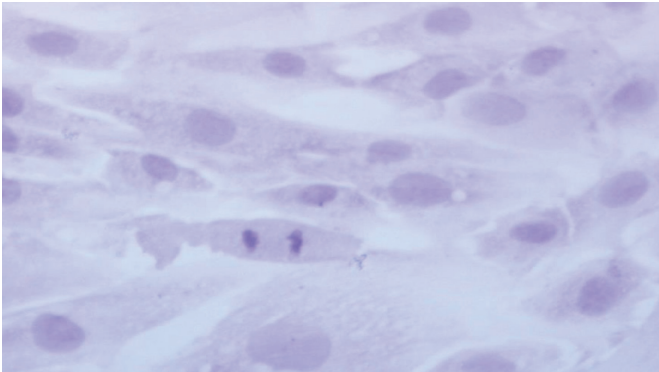


Рисунок 3 – Культура клеток ТЯ клон 50А-11

Когда клетки занимают все пространство культурального матраса (это видно невооруженным глазом или при помощи бинокля (рисунок 4), их пересевают. Пересевы производят для получения количества клеток, достаточного для цитогенетического или биохимического исследования, а также для криоконсервации.

Для определения модального числа хромосом клонa 50А-11 культуры клеток ТЯ готовили препараты метафазных хромосом.

Остановка митоза на стадии метафазы время действия цитостатика (колхицин), длительность воздействия гипотонического раствора и сам раствор подбирали эмпирически. Результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Определение времени экспозиции в колхицине для получения метафазных пластинок

Название культуры	Культура клеток, сут	Концентрация колхицина, мкг/мл	Время экспозиции, накопление метафазных пластинок		
			2 ч	4 ч	18 ч
ТЯ	3 сут	0,1мкг/мл	-	-	-
		0,7мкг/мл	++	++	+
	4 сут	0,1мкг/мл	-	-	+
		0,7мкг/мл	+++	+++	++
	5 сут	0,1мкг/мл	-	-	+
		0,7мкг/мл	+	+	+

Как видно из данных таблицы 1, у диплоидной культуры клеток ТЯ при экспозиции 0,1 мкг/мл колхицина в течение 2 ч, 4 ч и 18 ч остановка митоза не наблюдалась, что говорит о низкой концентрации колхицина. После обработки колхицином в дозе 0,7 мкг/мл уже через 2 ч вызвал остановку митоза на стадии метафазы. Самое большее накопление метафазных клеток было получено на 4-е сутки культивирования. На 5-е сутки культивирования отмечалось снижение митотического индекса. Через 18 ч обработки колхицином число метафазных пластинок снижается, что видимо, связано с повреждающим действием цитостатика.

Для получения качественной метафазной пластинки необходимо отработать оптимальное время обработки клеток в гипотоническом растворе. В данном этапе клетки набухают, ядерная оболочка и межхромосомные связи разрываются, наблюдается свободный разброс хромосом в цитоплазме. Для набухания клеток использовали 0,56 %-ный раствор хлористого калия и смесь 0,56 %-го раствора хлористого калия и 1 %-го раствора трехзамещенного цитрата натрия. Результаты показаны в таблице 2.

Таблица 2 – Обработка диплоидных клеток в гипотоническом растворе

Название культуры	Гипотонизация клеток, время		Характеристика культуры
	Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ +KCl	KCl	

ТЯ	30 мин	30 мин	набухание клеток
	40 мин	40 мин	набухание клеток
	60 мин	60 мин	хромосомы не разбросаны
	70 мин	70 мин	разброс хромосом хороший
	80 мин	80 мин	разброс хромосом хороший
	90 мин	90 мин	хромосомы за пределами цитоплазмы
	120 мин	120 мин	хромосомы за пределами цитоплазмы

Как видно из данных таблицы 2, установлено оптимальное время гипотонизации диплоидных клеток в растворах цитрата натрия и хлористого калия. Лучший разброс хромосом в метафазной пластинке отмечалось при инкубации в гипотоническом растворе в течение 70 и 80 минут. При инкубации от 30 до 40 мин набухания клеток не было, гипотонизация более 90 мин разрушает целостность метафазных пластинок. Полученные хромосомные препараты окрашивали красителем Гимза и фотографировали цифровой камерой «Zeiss» (рисунок 5).

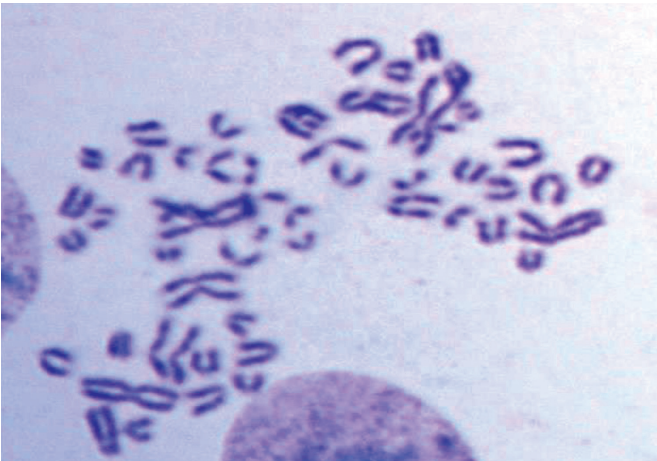


Рисунок 5 – Метафазная пластинка из диплоидной клетки ТЯ

Как видно из рисунка 6 модальное число хромосом культуры клеток ТЯ составляет 54 хромосом, 56 % клеток. Диапазон распределения числа хромосом не широкий от 48-58, что соответствует диплоидной культуре клеток.

При обработке условия диспергирования клеточного монослоя клона культуры клеток ТЯ использовали диспергирующие смеси 0.02 % версена и 0.25 % трипсина фирмы «Sigma» в соотношениях 1:1, 1:3, 1:5, 1:7, 1:9, 1:12, 1:15, 1:17. Результаты опыта представлены в таблице 3.

Модальный класс хромосом и интервал изменчивости числа хромосом определяли путем посчитывания 100 шт метафазных пластинок. После подсчета строили диаграмму распределения числа хромосом (рисунок 6).

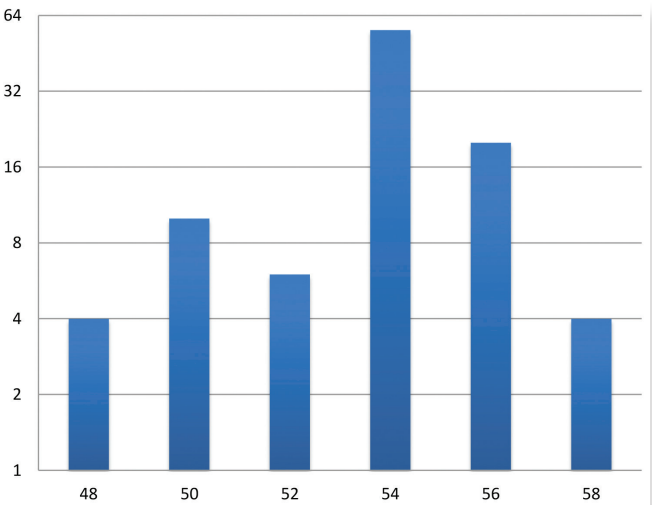


Рисунок 6 – Диаграмма распределения числа хромосом клона 50А-11 культуры клеток ТЯ

Таблица 3 – Обработка монослоя диплоидной клеточной культуры ТЯ клон 50А-11 различными соотношениями диспергирующей смеси

Диспергирующая смесь	Время экспозиции, мин	Концентрация клеток в суспензии, млн	Количество мертвых клеток, %	Характеристика клеточного монослоя
1:1	3	0,800	0,01	монослой ровный
1:3	4	1,2	0,8	монослой с «окнами»
1:5	4	0,860	0,001	монослой редкий
1:7	7	0,850	0,004	монослой редкий
1:9	7	0,750	0,001	монослой с «окнами»
1:12	5	1,3	0,003	монослой редкий
1:15	6	0,840	0,01	монослой с «окнами»
1:17	9	0,40	0,04	монослой с «окнами»

Как видно из данных таблицы 3, для клона 50А-11 культуры клеток ТЯ применима диспергирующая смесь в соотношении 1:1. Так как культура снимается со стекла в течение 3 минут и при этом количество мертвых клеток невысокая. На первые сутки культивирования образовал равномерный монослой по сравнению с другими соотношениями диспергирующей смеси.

Обсуждение полученных данных. В настоящее время существуют методы кариологических исследований, которые позволяют контролировать генетическое постоянство клеток по хромосомному набору. Известно, что такие факторы культивирования, как длительное пассирование клеток, нестандартность питательных сред и сыворотки крови, вирусы, микоплазмы, могут явиться причиной дестабилизации кариологических и цитоморфологических характеристик. При исследовании цитологических и кариологических характеристик культуры клеток ТЯ клона 50А-11 установлено, что при росте *in vitro* до 30 пассажного уровня клетки не изменили свой хромосомный набор, и как большинство клеточных линий не утратили характерный диплоидный набор хромосом. Модальное число хромосом культуры клеток ТЯ клона 50А-11 составляет 54 хромосом, 56 % клеток. Диапазон распределения числа хромосом не широкий (от 48-58), что соответствует диплоидной культуре клеток.

Закключение. При цитологическом изучении клона ТЯ 50А-11 морфология клеток была фибробластоподобного типа. Ядра крупные, овальной формы, число ядрышек насчитывает 1-2, иногда встречаются 3. Соотношение размеров диаметра ядра и цитоплазмы 1:2, 1:3. Цитоплазма зернистая. Митотический индекс составляет 10 %. Установлено, что цитоморфологическая характеристика клона ТЯ 50А-11 соответствует исходной линии культуры клеток ТЯ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аспанидзе Б.П. Первичные и диплоидные культуры клеток легкого плода коровы для вирусологических исследований: автореф. дис. ...канд. наук. - М., 1987.
2. Новохацкий А.С., Михайлова Г.Р., Царева А.А. и др. Каталог перевиваемых клеточных линий // ВИНТИ. - М., 1979. - Т.3., - 89 с.
3. OIE. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals, 7-th ed // - 2017. - Vol. 2.
4. Манин Б.Л., Кузнецова Е.Г., Коропова Н.В. и др. Мониторинг микоплазменной контаминации постоянных клеточных культур // Актуальные проблемы инфекционной патологии животных. - Владимир, 2003. - С. 250-253.
5. Moorhead P.S., Nowell P.C., Mellman W.J., Battips D.M., Hungerford D.A., Chromosome preparations of leukocytes culture from human peripheral blood // Exptl. Cell Res. - 1960. - 20. - P. 613-616.
6. Di Meo G.P., Goldammer T., Perucatti A., Genuardo V., Iannuzzi A., Incarnato D., Rebl A., Di Berardino D., Iannuzzi L. Extended Cytogenetic Maps of Sheep Chromosome 1 and Their Cattle and River Buffalo Homoeologues: Comparison with the OAR1 RH Map and Human Chromosomes 2, 3, 21 and 1q // Genome Res. - 2011. - 133. - P. 16-24.

УДК 576.895.421, 616.995.421

М.Б. Орынбаев, Р.А. Рыстаева, З.Д. Омарова, А.А. Керимбаев, Г.Ж. Сарсенбаева, С.К. Копеев, А.К. Наханов, В.М. Строчков, К.Т. Султанкулова

РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК пгт. Гвардейский, Казахстан
E-mail: unots@biosafety.kz

ВЫДЕЛЕНИЕ *COXIELLA BURNETII* ИЗ КЛЕЩЕЙ В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН

Аннотация. В последние годы в Европе отмечается рост числа зарегистрированных случаев Ку лихорадки. Одним из резервуаров возбудителя Ку-лихорадки *Coxiella burnetii* считаются клещи. Однако роль клещей в распространении Ку-лихорадки рассматривается неоднозначно. Поэтому в данной работе показано исследование 4753 взрослых клещей из разных регионов Республики Казахстан на наличие *Coxiella burnetii* с помощью полимеразной цепной реакции, электронной микроскопии и выделения на монослой клеточной линии Vero. В общей сложности *C. burnetii* был выявлен в 4 % клещей, которые принадлежали к двум видам - *Hyalomma asiaticum* и *Dermacentor marginatus*. Анализ MST показал, что генотипы *C. burnetii* от клещей схожи с последовательностью типа 20 (MST20), за исключением *Cox20* и *Cox51*. Сочетание аллелей генерируется в уникальный MST. Эти результаты показывают активную роль клещей в поддержании *C. burnetii*, как предполагаемых переносчиков и резервуаров Ку-лихорадки.

Ключевые слова: *Coxiella burnetii*, клещи, природный резервуар.

М.Б. Орынбаев, Р.А. Рыстаева, З.Д. Омарова, А.А. Керимбаев, Г.Ж. Сарсенбаева, С.К. Копеев, А.К. Наханов, В.М. Строчков, К.Т. Султанкулова

ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМҚ,
Гвардейский қтп., Қазақстан

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНДАҒЫ КЕНЕЛЕРДЕН *COXIELLA BURNETII* БӨЛІП АЛУ

Аннотация. Соңғы жылдары Еуропада Ку безгегі ауруының тіркелген жағдайлары алаңдата бастады. Ку-безгегінің *Coxiella burnetii* қоздырғышының резервуарларының бірі - кенелер. Алайда Ку безгегінің таралуындағы кенелердің рөлі даулы. Сондықтан, бұл жұмыста полимеразды тізбекті реакциясы, электронды

микроскоп және Веро жасушасының монокабатты оқшаулауды қолдана отырып, *Coxiella burnetii*-нің болуына Қазақстан Республикасының әртүрлі аймақтарынан 4753 ересектерге арналған кенелер зерттелген. Жалпы, *C. burnetii* кенелердің 4 %-ында анықталды, олар екі түрге - *Hyalomma asiaticum* және *Dermacentor marginatus*. MST талдауы көрсеткендей, кенелерден алынған *C. burnetii* генотиптері *Cox20* және *Cox51* қоспағанда, 20 реттілікке (MST20) ұқсас. Аллельдердің тіркесімі бірегей MST-де жасалады. Бұл нәтижелер Ку безгегінің қоздырғышы және резервуары ретінде *C. burnetii*-ді сақтауда кенелердің белсенді рөлін көрсетеді.

Түйін сөздер: *Coxiella burnetii*, кенелер, табиғи резервуар.

M.B. Orynbaev, R.A. Rystaeva, Z.D. Omarova, A.A. Kerimbaev, G.Zh. Sarsenbayeva, S.K. Kopeev, A.K. Nakhanov, V.M. Strochkov, K.T. Sultankulova

RGE "Research Institute for Biological Safety Problems" CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan

ISOLATION OF COXIELLA BURNETII FROM TICKS IN THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

Abstract. In recent years, there has been an increase in the number of reported cases of Q fever in Europe. One of the reservoirs of the causative agent of Q-fever *Coxiella burnetii* are ticks. However, the role of ticks in the spread of Q fever is controversial. Therefore, in this work, a study of 4753 adult ticks from different regions of the Republic of Kazakhstan for the presence of *Coxiella burnetii* using a polymerase chain reaction, electron microscopy, and isolation of a Vero cell line on a monolayer is shown. In total, *C. burnetii* was detected in 4 % of ticks, which belonged to two species - *Hyalomma asiaticum* and *Dermacentor marginatus*. MST analysis showed that *C. burnetii* genotypes from ticks are similar to the Type 20 sequence (MST20), with the exception of *Cox20* and *Cox51*. A combination of alleles is generated in a unique MST. These results show the active role of ticks in maintaining *C. burnetii*, as putative carriers and reservoirs of Q fever.

Keywords: *Coxiella burnetii*, ticks, natural reservoir.

Введение. Ку-лихорадка (кокциеллез) – широко распространенная во всех странах мира зооантропонозная, природно-очаговая болезнь домашних, промысловых и диких животных, птиц и человека [1-3]. Существование природных очагов Ку-лихорадки установлено во всех странах мира, где проводилось изучение этой инфекции [4].

Возбудитель болезни – *Coxiella burnetii*, грамтрицательная, полиморфная, облигатная внутриклеточная бактерия [5]. Derrick E. и его коллеги исследовали эпидемиологию болезни, особенно потенциальную роль членистоногих. Они пришли к выводу, что дикие животные были естественным резервуаром Ку лихорадки, тогда как домашние животные были вторичным резервуаром, и что болезнь может передаваться клещами или другими членистоногими [1]. Среди эктопаразитов, клещи считаются естественным основным резервуаром *C. burnetii*. В природных очагах резервуаром кокциелл являются более 40 видов клещей, которые распространяют возбудитель при укусе от одного животного к другому, а также при аэрогенном попадании сухих фекалий клещей, инфицированных *C. burnetii*, что благоприятствует циркуляции возбудителя кокциеллеза в природных очагах. Инфекция у них протекает бессимптомно и длительно, так как у клещей установлена трансфазная и трансовариальная передача возбудителя [6-8]. Фекалии зараженных клещей чрезвычайно богаты бактериями и могут достигать концентрации 10^{12} организмов на грамм. Несмотря на все эти факторы, клещи как указывают некоторые исследователи, не вносят существенный вклад в поддержание кокциеллеза в эндемичных районах [9, 10]. Тем не менее, клещи играют значительную роль в передаче *C. burnetii* среди диких позвоночных животных, особенно грызунов и диких птиц [11, 12] и при передаче от зараженных диких животных домашним животным [13]. Кроме того, повышение температуры на земле может быть причиной расширения ареала этого вектора в будущем и вместе с ним *C. burnetii*.

Целью данной работы было определение возбудителя Ку-лихорадки (кокциеллез) у клещей, доставленных из разных регионов Республики Казахстан.

Методика исследований. В 2013 году в Кызылординской, Жамбылской, Акмолинской, Южно-Казахстанской, Северо-Казахстанской, Западно-Казахстанской и Актюбинской областях Республики Казахстан были собраны 3410 взрослых клещей с растительности, используя методы сбора на флаг и на волокушу (рисунок 1). Сбор клещей на волокушу был произведен волочением хлопчатобумажного полотна размером 90x125 см по прикорневой части растений. Тогда как сбор на флаг проводили выполнением волнообразных движений флагом (90x65 см) над поверхностью растений [14, 15]. Отбор клещей проводился в одно и то же время суток (между 09:00 и 12:00 часами дня) независимо от атмосферных условий и с охватом как солнечных, так и теневых участков территории, размер которой составлял 100 м². При сборе и учете клещей работниками были соблюдены специальные меры предосторожности: ношение защитного костюма с глухим воротом и манжетами, периодическое проведение само- и взаимоосмотров для обнаружения напозвших или присосавшихся клещей. Собранные клещи до их исследования были помещены в 15 мл конические пробирки, заполненные 70 %-ным этанолом [16].

Клещи были идентифицированы в соответствии с их морфологическими особенностями, присущими каждому виду [17].

Выделение *C. burnetii* должно проводиться только в лаборатории с уровнем биобезопасности 3 [18]. Для выделения *C. burnetii* методами полимеразной цепной реакции (ПЦР) и на культуре клеток Vero, доставленных клещей размельчали в высокоскоростном настольном гомогенизаторе (FastPrep-24™ 5G MP Biomedicals USA).

Выделение дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) проводили с помощью набора *QIAamp Viral DNA and Blood Mini Kit* (QIAGEN, Германия) в соответствии с протоколом производителя. Для обнаружения *C. burnetii* использовали праймеры ОТ-ПЦР 1 раунд-Trans 1 (TAT GTA TCC ACC GTA GCC AGT C), Trans2 (CCC AAC AAC ACC TCC TTA TTC), 2 раунд - Trans 3 (GTA ACG ATG CGC AGG CGA T), Trans 4 (CCA CCG CTT CGC TCG CTA). Постановку ОТ-ПЦР проводили при помощи набора Tag DNA polymerase (Invitrogen, США) в амплификаторе «Master Cycler» (Eppendorf, Германия) при следующих температурных режимах: 95 °C - 2 мин, 94 °C – 30 сек, 65 °C – 1 мин, 72 °C – 1 мин (5 циклов амплификации), 94 °C – 30 сек, 61 °C – 30 сек, 72 °C – 1 мин, 72 °C – 10 мин (40 циклов амплификации). Все полученные последовательности сравнивали с таковыми в GenBank. Электрофорез продуктов амплификации проводили в аппарате для горизонтального электрофореза «BioRad», при напряжении 10 В/см. Для электрофореза использовали 2 % (вес/объем) суспензию агарозы с 0,5 мкг/мл бромистого этидия. Разделение продуктов амплификации проводили в ТАЕ-буфере. В качестве маркера молекулярных масс использовали 100 bp DNA Ladder (Sigma, США). Документирование полученных результатов проводили при помощи системы фотодокументирования с трансиллюминатором и цифровой фотокамерой (BioRad, США).

Для выделения *C. burnetii* на монослой клеток Vero (ATCC CCL-81) инокулировали 1 мл суспензии клещей в среде EMEM (Invitrogen, США) с добавлением 4 % бычьей эмбриональной сыворотки (Invitrogen, США) и 1 % L-глутамина (Invitrogen, США). Инфицированные клетки культивировали при 35 °C в атмосфере с 5 % CO₂. Рост *C. burnetii* наблюдали микроскопированием клеток, окрашенных по Gimenez и электронным микроскопированием [1, 19, 20].

Полученные последовательности сравнивали с аллельными профилями для выбранных межгенных последовательностей, доступных в IFR 48, с использованием алгоритма BLAST (<http://ifr48.timone.univ-mrs.fr/blast/blastMSTCoxiella.html>). Филогенетический анализ проводили с использованием программного обеспечения MEGA6.

Полученные результаты исследований. Согласно морфологическим признакам из 3410 клещей, собранных в 7 областях РК 1010 особей из Шиелинского, 341 - из Сырдарьинского и 787 из Жанакорганского районов Кызылординской области отнесены к виду *Hyalomma asiaticum*, кроме того, 515, 150 и 350 клещей из тех же местностей причислены к виду *Dermacentor marginatus*. 1410 клещей, доставленных из Байзакского, Жамбылского, Мойынкумского, Таласского, Кордайского и Т. Рыскуловского районов Жамбылской области были отнесены к виду *Ixodes*. Регионы отбора клещей представлены на рисунке 1.

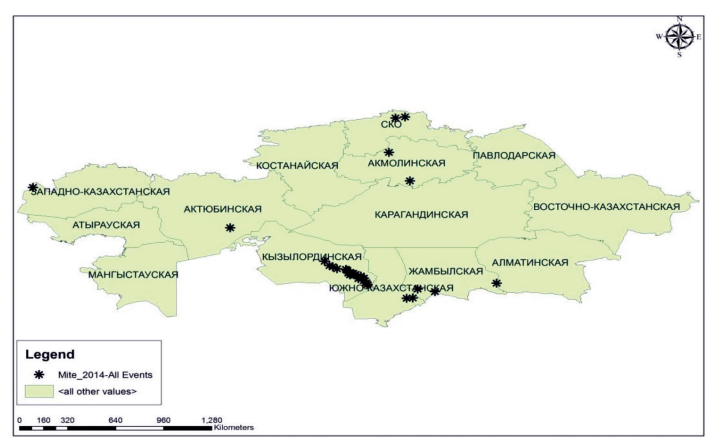


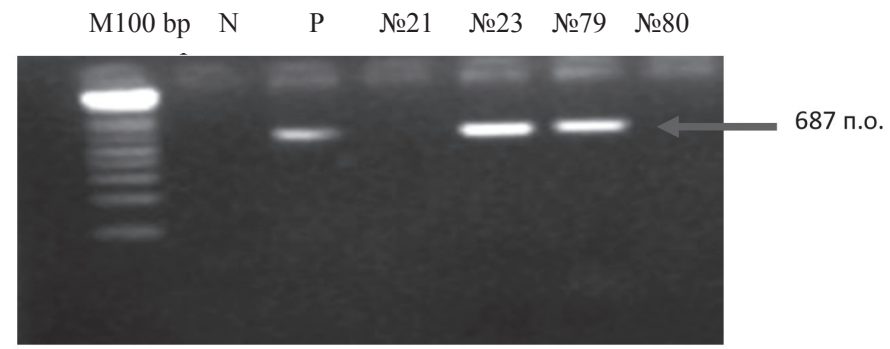
Рисунок 1 – Места отбора клещей в Республике Казахстан

Исследованием клещей методом ПЦР установлено, что в трех регионах Кызылординской области клещи вида *Hyalomma asiaticum* (4 %; 85 из 2138) и *Dermacentor marginatus* (2,3 %; 50 из 2138) были инфицированы *C. burnetii* (таблица 1, рисунки 2, 3).

Таблица 1 – Виды и местность отбора клещей, положительные на наличие *C. burnetii* методом ОТ-ПЦР

Место отбора клещей		Виды и количество клещей			
Область	Район	<i>Hyalomma asiaticum</i>	<i>Dermacentor marginatus</i>	<i>Ixodes</i>	Не установленные виды
КызылоОрдинская	Шиелинский	1010	515	-	-
	Сырдаринский	341	150	-	-
	Жанакоргански	787	350	-	-
Жамбылская	Байзакский	-	-	450	-
	Жамбылский	-	-	250	-
	Мойынкумский	-	-	180	-
	Таласский	-	-	400	-
	Кордайский	-	-	120	-
	Т. Рыскуловский	-	-	10	-
Туркестанская (Южно-Казахстанская)	Тулькибасский	-	-	-	20
	Толебийский	-	-	-	30
Северо-Казахстанская	Кызылжарский	-	-	-	40

Акмолинская	Сандыктауский	-	-	-	20
	Коргалжынский	-	-	-	20
Западно-Казахстанская	Жанибекский	-	-	-	40
Актюбинская	Шалкарский	-	-	-	20



М – маркер, Р – положительный контроль, N – отрицательный контроль (вода), 23, 79 – *Hyalomma asiaticum*, 80 – *Dermacentor marginatus*

Рисунок 2 – Электрофореграмма продуктов амплификации

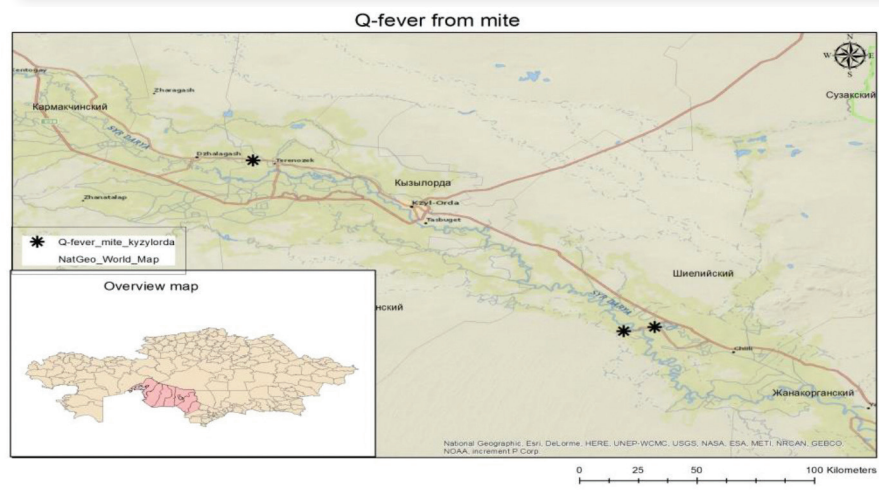


Рисунок 3 – Очаги Ку-лихорадки, выявленные от клещей

Электронно-микроскопические исследования бактериальных культур, выделенных, культивированием суспензий клещей на монослой клеток Vero позволили обнаружить бактерии, по морфологии и структуре относящиеся к роду *Coxiella* виду *burnetii* (рисунки 4, 5).



Рисунок 4 – Бактериальная клетка *Coxiella burnetii*, негативное контрастирование 2 % ФВК



Рисунок 5 – Оболочка бактериальных клеток *Coxiella burnetii*, негативное контрастирование 2 ФВК

В препаратах методом негативного контрастирования выявлены округлые, овальные палочковидные формы бактерий, с шероховатисто-бугристой поверхностью. Размеры округлых форм варьировали в пределах 400-600 нм, овальных 450-650 нм в диаметре и длиной 800-1000 нм, палочковидные имели размеры 600-1000 нм в диаметре и длиной до 1100-1500 нм. Бактерии имеют трехслойную оболочку, присутствуют бактерии, содержащие округлые включения и волокнистый материал.

Чтобы охарактеризовать выделенные изоляты *C.burnetii* на молекулярном уровне, мы выполнили многослойное типирование последовательностей (MST). MST анализ основан на секвенировании межгенной области. Для анализа MST выделенных изолятов были отобраны шесть (*Cox18*, *Cox20*, *Cox37*, *Cox51*, *Cox57*, *Cox61*) из десяти спейсеров описанных Глазуновой и др. [19]. MST анализ показал, что генотипы *C.burnetii* от клещей схожи с последовательностью типа 20 (MST20), за исключением *Cox20* и *Cox51*. Различные аллели не были найдены в *C. burnetii* от клещей. Однако, сочетание аллелей генерируется уникальный MST (таблица 2, рисунок

6). Дерево составлено с использованием метода Neighbor-Joining с моделью максимального правдоподобия с 500 повторами. Значения начальной загрузки > 60. Масштабная линейка показывает количество замен на сайте.

Таблица 2 – Сравнение последовательностей эталонного и новых генотипов, приведенных в настоящем исследовании

Sample	Spacers					
	Cox18	Cox20	Cox37	Cox51	Cox57	Cox61
MST20	6	1	4	4	6	5
QKZ79	6	6	4	10	6	5
QKZ23	6	6	4	10	6	5

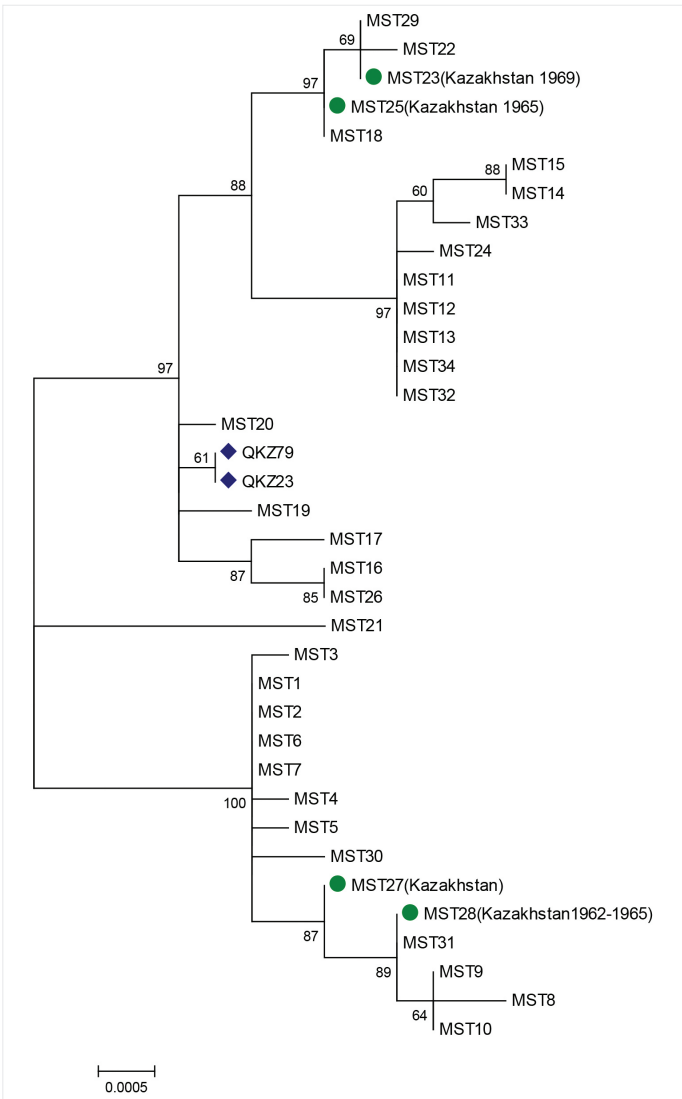


Рисунок 6 – Филогенетический анализ с использованием программного обеспечения MEGA 6.0.

Обсуждение полученных данных. *Coxiella burnetii*, этиологический агент Ку лихорадки, является очень заразной зоонозной бактерией. В некоторых районах, Ку лихорадка может быть серьезной проблемой общественного здравоохранения. Беспрецедентная вспышка Ку лихорадки с тысячами пострадавшими с 2007 по 2010 год в Нидерландах является тому примером. Тем не менее, знания о *C. burnetii* остаются ограниченными и по сей день.

Важность клещей в эпидемиологии Ку лихорадки остается спорным, хотя основные пионерские исследования были сосредоточены на *C. burnetii* клещей [21, 22]. Стоит отметить, что высоко вирулентный эталонный штамм Девятая Миля, был выделен из морской свинки, на котором кормились клещи *Dermacentor andersoni* [23]. Кроме того, ранние морфологические наблюдения с помощью микроскопии предполагали, что более 40 видов клещей содержат *C. burnetii* [11]. В настоящее время, клещи все еще в центре внимания многих полевых исследований эпидемиологии Ку лихорадки. Отдельные сообщения о высоких уровнях *C. burnetii* инфекции в клещах [24, 25] оставляют открытым вопрос: играют ли клещи важную роль в передаче Ку лихорадки?

Недавние исследования показывают, что многие виды клещей являются векторами Ку лихорадки. Другие же виды клещей имеют возможность передачи возбудителя, но их векторная способность не была полностью продемонстрирована (например, транс-стадиальная передача). Из всех исследованных видов клещей, только у двух было показано, что они не являются векторами для Ку лихорадки. Следовательно, в экспериментальных системах, большинство видов клещей, способны передавать *C. burnetii* неинфицированным животным. Интересно то, что в пределах или в непосредственной близости от ферм, где известна циркуляция Ку лихорадки, превалентность *C.*

burnetii среди клещей может быть низким или совсем отсутствует. С другой стороны, сообщалось существование корреляции между серопозитивностью у домашних жвачных и их зараженностью с *C. burnetii* инфицированными клещами [26]. Таким образом, способность клещей передавать *C. burnetii* остается не совсем ясным.

В 2013 году нами проведены исследования по изучению естественной инфицированности клещей, собранных в 7 областях Республики Казахстан возбудителем коксиеллеза (Ку лихорадки) – *C. burnetii*. Всего исследованию были подвергнуты 4753 клещей, собранных в 7 областях Казахстана. Методом ПЦР геном *C. burnetii* был обнаружен в клещах, собранных в трех населенных пунктах Кызыл-Ординской области. Электронно-микроскопическими исследованиями в образцах были обнаружены бактерии, по морфологии и структуре относящиеся к *C. burnetii*. Из положительных образцов на культуре клеток Vero были выделены *C. burnetii*. Исследования показали, что зараженность *C. burnetii* клещей вида *Hyalomma asiaticum* составляет 4 % клещей и клещей вида *Dermacentor*

marginatus 2,3%. Генетические исследования показали, что последовательность генома *C.burnetii* выделенных от клещей в Казахстане генерируются в уникальный MST.

В республике Казахстан вспышка Ку лихорадки впервые описывается в 1954 году в северных областях. При этом возбудитель выделяли также из личинок, нимф и взрослых форм клеща *Ixodes crenulatus* обитающих на хорьках из той же области [27]. С тех пор отсутствует упоминание о выявлении Ку лихорадки в Казахстане. Вероятно, имеет место гиподиагностика, не распознавание истинного диагноза Ку-лихорадки, и как следствие, официальные данные по заболеваемости не отражают действительности. Случаи заболевания Ку-лихорадкой нередко скрываются за диагнозами - лихорадка неясной этиологии, грипп, пневмония, гепатит и др.

Заключение. Выявление *C.burnetii* среди клещей ставит серьезный вопрос о всестороннем и глубоком изучении природных очагов коксиеллеза. Так же полученные нами результаты привели к выводу, что возникает необходимость контроля вышеприведенных видов клещей как предполагаемых переносчиков и резервуаров *C.burnetii*.

ЛИТЕРАТУРА

1. Maurin M., Raoult D. Q fever // Clin Microbiol Rev. – 1999. – Vol. 12. – P.518-553.
2. Mcquiston J., Childs J. Q fever in Humans and Animals in the United States // Vector-borne and zoonotic diseases. – 2002. – Vol. 2.3. – P.179-191.
3. Guatteo R., Seegers H., Taurel A., Joly A., Beaudeau F. Prevalence of Coxiella burnetii infection in domestic ruminants: a critical review // Veterinary Microbiology. – 2011. – Vol. 149. - P. 1-16.
4. Woldehiwet Z. Q fever (coxiellosis): epidemiology and pathogenesis // J. Res. Vet. Sci. –2004. – Vol. 77. – P. 93-100.
5. A.D. Loftis, W.K. Reeves, M.M. Miller, R.F. Massung Coxiella burnetii, the Agent of Q Fever, in Domestic Sheep Flocks from Wyoming // Vector Borne Zoonotic Dis. – 2012. – Vol. 12 (3). – P.189-191.
6. Kazar J. Coxiella burnetii infection // Ann NY Acad Sci. – 2005. – Vol. 1063. – P. 105-114.
7. Daiter A. Transovarial and transspermal transmission of Coxiella burnetii by the tick Hyalomma asiaticum and its role in the ecology of Q-rickettsiosis // Parazitologiya. –1977. – Vol. 11. –P.403-411.
8. Klyachko O., Stein B., Grindle N., Clay K., Fuqua C. Localization and visualization of a coxiella-type symbiont within the lone star tick // Amblyomma americanum. Appl. Environ. Microbiol. – 2007. – Vol.73. – P.6584-6594.
9. Rousset E., Duquesne V., Russo P. Fièvre Q: problématiques et risques sanitaires // Bulletin de l'Académie Vétérinaire de France. – 2007. – Vol. 160. – P. 107-114.
10. Sprong H., Tjisse-Klasen E., Langelaar M., De Bruin A., Fonville M., Gassner F., Takken W., Wieren V., Nijhof A., Jongejan F., Maassen C., Scholte E., Hovius J., Emil Hovius K. Prevalence of Coxiella Burnetii in Ticks After a Large Outbreak of Q Fever // Zoonoses Public Health. – 2012. – Vol. 59. – P. 69-75.
11. Babudieri B. Q fever: a zoonosis // Advances in Veterinary Science. – 1959. – Vol. 5. – P. 82-154.
12. Lang G. H. Coxiellosis in animals in Q Fever // The Disease. – 1990. – Vol. 1. – P. 23-48.
13. Marrie T. J., Williams J. C., Schlech W. F., Yates L. Q fever pneumonia associated with exposure to wild rabbits // The Lancet. – 1986. – Vol. 1 (8478). – P. 427-429.
14. Hirai K., To H. Advances in the understanding of Coxiella burnetii infection in Japan // Journal of Veterinary Medical Science. – 1998. – Vol. 60 (7). – P. 781-790.
15. Dantas-Torres F., Paolo Lia R., Capelli G., Otranto D. Efficiency of flagging and dragging for tick collection // Exp Appl Acarol. – 2013. – Vol. 61. – P.119-127.
16. Ginsberg H., Ewing C. Comparison of Flagging, Walking, Trapping, and Collecting from Hosts as Sampling Methods for Northern Deer Ticks // Experimental & Applied Acarology. – 1989. – Vol. 7. – P. 313-322.
17. Schulz M., Mahling M., Pfister K. Abundance and Seasonal Activity of Questing Ixodes ricinus Ticks in their Natural Habitats in Southern Germany in 2011 // J Vector Ecol. – 2014. –Vol. 39 (1). – P. 56-65.
18. Guglielmone A., Robbins R., Apanaskevich D., Petney T., Estrada-Pena A., Horak I., Shao R., Barker S The Argasidae, Ixodidae and Nuttalliellidae (Acari: Ixodida) of the world: a list of valid species name // Zootaxa. – 2010. – Vol. 2528. – P.1-28.
19. Scola B.L. Current laboratory diagnosis of Q fever // Semin Pediatr Infect Dis. – 2002. –Vol. 13 (4). – P. 257-262.
20. Glazunova O., Roux V., Freylikman O., Sekeyova Z. Coxiella burnetii Genotyping // Emerg Infect Dis. – 2005. – Vol. 11 (8). – P. 135-141.
21. Voth D., Heinzen R. Lounging in a lysosome: the intracellular lifestyle of Coxiella burnetii // Cellular Microbiology. – 2007. – Vol. 9 (4). – P.829-840.
22. Lang G.H. Coxiellosis (Q fever) in animals. In Q FEVER // The Disease. – 1990. – Vol. 1. – P. 23-48.
23. Khavkin T. Q fever studies in the U.S.S.R. In Q fever: The Biology of Coxiella burnetii // CRC Press. – 1991. – Vol. 1. – P. 311-326.
24. Pacheco R.C. et al. Coxiella burnetii in ticks, Argentina. Emerg. Infect // Dis. – 2013. –Vol. 19. – P.344-346.
25. Loftis A.D. et al. Rickettsial agents in Egyptian ticks collected from domestic animals // Exp. Appl. Acarol. – 2006. – Vol. 40. – P. 67-81.
26. Duron O., Sidi-Boumedine K., Rousset E., Moutailler S., Jourdain E. The Importance of Ticks in Q Fever Transmission: What Has (and Has Not) Been Demonstrated? // Trends Parasitol. – 2015. – Vol. 31 (11). – P.536-552.
27. Pchelkina A.A., Zhmabva Z.M., Zubkova R.I. Q Fever in Northern Kazakhstan // Zhurnal Mikrobiologii, Epidemiologii i Immunobiologii. – 1956. – Vol. 11. – P. 32-35.

М.М. Сенгирбаева, М.Д. Алмежанова, Н.Т. Туменбаева, А.А. Тлепов
М.Х. Дулати атындағы Тараз мемлекеттік университеті, Тараз қ., Қазақстан
E-mail: oljas9494@mail.ru

ЖАМБЫЛ ОБЛЫСЫНДАҒЫ БРУЦЕЛЛЕЗ АУРУЫНЫҢ ЭПИЗООТОЛОГИЯЛЫҚ ЖАҒДАЙЫ

Аннотация. Мақалада Жамбыл облысындағы ұсақ және ірі мүйізді малдардың бруцеллез ауруы бойынша статистикалық деректердің талдау нәтижелері жалпы республика және аудан көлемінде келтірілген. Жамбыл облысы бруцеллез ауруы бойынша әлі күнге дейін алдыңғы қатарда тұр. Адамдар мен жануарлардың бруцеллез ауруына шалдығуы арасында өзара қарым-қатынасы бар екені байқалды. Шаруашылықтарда ірі қара малмен ұсақ қара мал арасында бруцеллез инфекциясы айналымда жүргенде адамдар жиі ауырады.

Елімізде мал шаруашылығы негізінен жеке және кооперативтік шаруашылықтар дамып келеді, дегенмен, бұл құрылымдар мал шаруашылығының технологиясының өзгеруіне алып келеді. Осы тұрғыда бруцеллезге қарсы жүргізетін іс-шараларды ветеринариялық-санитарлық талаптар тұрғысынан қайта қарастыру қажеттігі туындады.

Кейбір ТМД елдерінде жануарларды бруцеллезден сауықтыруға қол жеткізген біршама жетістіктеріне қарамастан, республикамыз әлі де өте маңызды проблемалардың бірі - осы аурудың эпидемиологиялық және эпизоотологиялық проблемалары бар.

Түйін сөздер: бруцеллез, эпидемиология, эпизоотология, инфекция, Жамбыл облысы.

М.М. Сенгирбаева, М.Д. Алмежанова, Н.Т. Туменбаева, А.А. Тлепов
Таразский государственный университет имени М.Х. Дулати, г. Тараз, Казахстан

ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО БРУЦЕЛЛЕЗУ В ЖАМБЫЛСКОЙ ОБЛАСТИ

Аннотация. В статье представлены результаты анализа статистических данных по бруцеллезу мелкого и крупного рогатого скота в Жамбылской области на общегосударственном и районном уровнях. Жамбылская область по-прежнему находится на передовых местах по бруцеллезу в стране. Наблюдалось, что существует корреляция между заболеваемостью бруцеллезом у людей и животных. Когда бруцеллез циркулирует на фермах между скотом и мелким скотом люди часто болеют.

Животноводство в стране в основном развивается частными и корпоративными хозяйствами, однако эти структуры меняют технологию животноводства. В этом контексте необходимо пересмотреть меры против бруцеллеза с точки зрения ветеринарных и санитарных требований.

Несмотря на некоторый прогресс в восстановлении животных от бруцеллеза в некоторых странах СНГ, наша страна по-прежнему имеет одну из наиболее важных проблем – эпидемиологическую и эпизоотологическую проблему по данному заболеванию.

Ключевые слова: бруцеллез, эпидемиология, эпизоотология, инфекция, Жамбылская область.

M.M. Sengirbayev, M.D. Almezhanova, N.T. Tumenbayeva, A.A. Tleпов
Taraz State University named after M.Kh. Dulaty, Taraz, Kazakhstan

EPIZOOTOLOGICAL SITUATION ON BRUCELLOSIS IN THE ZHAMBYL REGION

Abstract. The article presents the results of the analysis of statistical data on brucellosis of cattle in the Zhambyl region at the national and district levels. Zhambyl region is still at the forefront of brucellosis in the country. It has been observed that there is a correlation between the incidence of brucellosis in humans and animals. When brucellosis circulates on farms between livestock and small livestock, people often get sick.

Animal husbandry in the country is mainly developed by private and corporate farms; however, these structures are changing the technology of animal husbandry. In this context, it is necessary to revise measures against brucellosis in terms of veterinary and sanitary requirements.

Despite some progress in the recovery of animals from brucellosis in some CIS countries, our country still has one of the most important problems – the epidemiological and epizootological problems of this disease.

Keywords: brucellosis, epidemiology, epizootology, infection, Zhambyl region.

Кіріспе. Қазақстан Республикасының алғашқы Президенті Н.А.Назарбаевтың халыққа айтылып кеткен жолдауында «КазАгро»-ның негізгі мәселесі: ауыл шаруашылығы өндірісін өнім деңгейінің жоғарылауын, барлық саланы сапалы талдау жасау қандай тағамды дамыту қажет екенін, яғни Қазақстан ауыл шаруашылығы әлемдік нарығындағы жаңалығы – ол экологиялық таза өнім мен шикізат. Оның кепілі Қазақстанның экологиялық таза аймақтарында табиғи азықтармен азықталған малдар болып табылады» – деп атап көрсетті [1].

Малдың бруцеллез індетіне қарсы бөлім Республика көлемінде мал арасында бруцеллез ауруының пайда болу жолдарын тексеру, таралуын анықтайды, олармен жоспарлы түрде шаруашылықтардың мал өсіру бағытына сәйкес, күрес жүргізілу шаралары ветеринария ғылымының өзекті мәселесінің бірі болып табылады.

Қазақстан бойынша мемлекеттік мал дәрігерлік қызмет салалары заман талабына сай жетіліп, қоғам дамуына елеулі күрес қосып келеді. Бүгінгі таңда Жамбыл облысының Жуалы ауданындағы және оған қарасты мал дәрігерлік учаскелер бар. Соның ішінде бруцеллезге қарсы құрылған аудандық экспедицияда 12 мал дәрігері қызмет жасайды. Бұл аудан аймағында жыл сайын тіркеліп отыр. Сондықтан бруцеллезді болдырмау үшін аудандық аумақтақ басқарма бар күшін салады [1].

Бруцеллез – ұзақ ағыммен айқандалатын, бактериялар тудыратын, жүйке, зәр шығару және жүрек-қантамыр жүйелерін, тірек-қимыл аппаратының зақымдалуымен, ұзаққа созылған дене қызбасымен көрінетін жұқпалы ауру. Бруцеллез – адамдар мен жануарлардың созылмалы, өткір инфекциялық-аллергиялық ауруы. Ол өкпенің қабынуы, лимфа түйіндерінің, жүйке жүйесінің және тірек-қимыл аппаратының зақымдалуымен сипатталады, барлық жерде таралған зоонозды ауру.

Бруцеллездің негізгі қоздырғышы бруцелла (*Brucella*) туыстастығындағы бактериялар тобы. Қоздырғыш туыстастығының атауы 1886 жылы бруцеллез қоздырғышын алғаш рет ашқан ғалым Д. Брюс атымен байланысты. Бөлімі – *Gracilicutes*, тұқымдастығы – *Brucellaceae*, туыстығы – *Brucella*, түрлері – *Brucella melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. canis*, *B. ovis*, *B. neotomae*. Бруцеллалардың 3 түрі адам үшін патогенді болып табылады: 1. *B. melitensis* – қой бруцеллезінің қоздырғышы; 2. *B. abortus* – ірі қара мал бруцеллезінің қоздырғышы; 3. *B. suis* – доңыз бруцеллезінің қоздырғышы. Қазақстанда негізінен бруцеллездің жұқтыру көзі *B. melitensis* пен *B. abortus* болып табылады.

Бруцеллаларға теңіз шошқалары, ор-қояндар, ақ тышқандар өте сезімтал болып келеді. Бруцеллез – зоонозды инфекция болғандықтан, жұқтыру көзі – ірі және ұсақ қара мал, доңыз, сирек жағдайда еліктер, жылқылар, иттер, мысықтар және тағы басқалар. Қазақстанда негізінен бруцеллездің жұқтыру көзі *B. melitensis* пен *B. abortus* болып табылады. Бруцеллезбен зақымдану ет, сүт, мал терілері оның тағамдарын қолданғанда пайда болады. Көбінесе бруцеллезбен жануарлармен көп қатынаста болатын малшылар, сауыншылар мен мал, ет, сүт өнімдерін сатушылар ауырады. Бруцеллездің адамға жұғу жолдары: 1. Ауру малмен айналысқанда (контакт-жанасын латын сөзі) микробтар адам денесіне қолдың кесілген, жарылған жерлері арқылы түседі. 2. Қой қырыққанда, жүн түткенде, тағы басқадай жағдайларда, шаң-тозаң арқылы микробтар кісінің көзіне, аузына, дем алу жолдарына түседі. 3. Ауру мал сүтін, етін шикідей, не шала пісіріп, ішіп жегенде, (тамақ қорыту жолы). 4. Лабораторияда бруцелла микробтарымен жұмыс істегенде де ауру жұғуы мүмкін. Бруцеллез ауруы жазғытұрым, жазды күні болып отырады. Бруцеллез бүкіл мемлекетте таралған. Бүкіл әлемдегі бруцеллездің ең көп тараған кезі 1961-1980 жж. арасында болды (Еуропа (60 %), Америка (20 %), Африка (10 %), Азия (10 %)). Науқас адам инфекция көзі болмайды.

Бруцеллез қоздырушысының бүгінгі күнде өңірімізде ҚР АШМ РМК «Республикалық ветеринариялық зертханасы» Жамбыл өңірлік филиалы ұсақ малдардың бруцеллезі бар екенін анықтап отыр.

Бруцеллезбен күрес шараларының басты буыны малды мерзімінен кешіктірмей зертханалық зерттеулерден өткізу. Осыған орай, бүгінгі күнде ҒӨК ЖШС «Антиген», ЖШС «Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» қой мен ешкінің бруцеллезіне қарсы диагностикумдар жасау жұмыстары өндіріске және ветеринариялық зертханаларда қолданысқа енгізілді.

Эпидемиологиялық тексеру – эпидемиялық ошақты зерттеу әдісінің ең алғашқы жалпы маңызды бөлігі болып саналады. Бұл әдіс ошақтың пайда болу жағдайы мен себебін, инфекция қоздырғышының көзін, берілу факторлары мен жолдарын, сонымен қатар жұқтыру қауіп-қатеріне ұшыраған адамдарды анықтау үшін пайдаланылады. Осы аталғандарға байланысты республика облыстарының жағдайға мониторинг жасап, бруцеллез ауруының таралуының негізгі себептерін анықтау өзекті мәселелердің бірі болып табылады.

Облыстық ветеринариялық зертханалары мал дәрігерлерінің есеп беру, аудандық зертханалардың сараптамалары және өзіміздің жүргізген зерттеулеріміздің деректерлер бойынша бруцеллездік іш тастау Түркістан, Жамбыл, Алматы және Шығыс Қазақстан облыстары шаруашылықтары мал басында кездесетіндігі және бұл ауру тіркелген ошақтарда аурушандылық 48 және одан көп %-ды құрайтыны мәлім болып отыр [2].

Жамбыл облысы Ветеринария басқармасының өңірдегі эпизоотиялық жағдайдың жай-күйіне қатысты ақпаратына сүйенсек, облыс бойынша уақ малда бруцеллез ауруы біршама азайған [3].

Материалдар мен әдістер. Жамбыл облысының Жуалы ауданында жануарлардың бруцеллезі бойынша эпизоотиялық жағдайына мониторинг жүргізу жұмыстары «Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» жауапкершілігі шектеулі серіктестігінің «Жамбыл ветеринария ғылыми-зерттеу стансасы» филиалының зертханасында жүргізілді.

Жануарлар бруцеллезіне мониторинг жүргізу үшін ҚР АШМ ВБҚ Комитетінің «Жамбыл облыстық аймақтық инспекция» ММ-нің, аудандар мен қалалардығы «Ветеринарная станциясы» КМК, «Республикалық ветеринариялық зертхана» РМК-ның Жамбыл облыстық филиалының соңғы жылдар аралығындағы есептерінде келтірілген деректер жоспарлы түрде сараланып топтастырылды. «Қазақ ҒЗВИ» ЖШС мен Жамбыл облыстық филиалы қызметкерлерінің іс-сапар кезінде жергілікті жерлерден жинаған деректері мен жануарлар бруцеллезінен эпизоотиялық жағдайы әртүрлі шаруашылықтардан келіп түскен қан сынамаларын зерттеу нәтижелері қолданылды. Индеттанулық сараптау және жануарларды бруцеллезге зерттеу мақсатында арнайы әдістемелер қолданылды [4]. Адамдардың бруцеллезбен ауруы жөніндегі деректер ҚР ДСМ қоғамдық денсаулық сақтау Комитетіне қарасты «Санитариялық эпидемиологиялық сараптау және мониторинг ғылыми-практикалық орталығы» мәліметтерінен алынды [5].

Зерттеу нәтижелері. Статистикалық деректерді талдау нәтижелері бойынша соңғы жылда, бруцеллез бойынша ІҚМ эпизоотиялық жағдайы облыста тұрақсыз екенін көрсетті.

Инфекцияның берілу жолы негізгі жанау арқылы 78,1 % болып табылатыны және алиментарлы жолмен 15,1 % анықталды. Қалған 6,8 % жағдайдың берілу жолдары мен факторлары анықталған жоқ.

Бруцеллез ауруының Жамбыл облысы бойынша эпизоотологиялық ахуалы шамалы азайғанымен, күрт өсіп кету мүмкіндігі әлі де бар.

Жамбыл облысы Жуалы ауданындағы ІҚМ бруцеллезінің статистикалық деректерін зерттей отырып, эпизоотиялық жағдайды зерттеу кезінде 3 жыл ішінде: 2017 жылы 19857 бас зерттеліп, оның 333-і оң нәтиже берді. 2018 жылы 26133 бастан оң нәтиже бергені 128 бас, 2019 жылы бұл көрсеткіш – 26248 және оң нәтиже бергені 132 бас екендігін көрсетті (1-кесте).

1-кесте – Жамбыл облысының Жуалы ауданындағы ІҚМ бруцеллезі бойынша эпизоотиялық жағдайдағы аймақтар

№	Аймақ	2017 жыл			2018 жыл			2019 жыл		
		Зерттелді	Оң нәтиже берген	Пайыз	Зерттелді	Оң нәтиже берген	Пайыз	Зерттелді	Оң нәтиже берген	Пайыз
1	Ақсай	1623	16	0,08	2623	13	0,04	4623	15	0,03
2	Ақтөбе	933	44	0,21	1933	2	0,01	3933	4	0,007
3	Бауыржан Момышұлы	2360	3	0,02	3360	3	0,01	5360	8	0,02
4	Билікөл	1398	13	0,06	4398	33	0,9	4680	34	0,06
5	Боралдай	1356	4	0,02	2356	4	0,011	3358	9	0,02
6	Жетітөбе	1457	47	0,3	1457	37	0,10	1457	40	0,1
7	Көкбастау	3115	8	0,04	5115	8	0,02	6125	6	0,01
8	Күреңбел	2345	178	0,9	6345	78	0,21	6305	141	0,3
9	Қарасаз	375	-	-	2345	-	-	3385	-	-
10	Қошқарата	546	3	0,02	4546	3	0,008	4126	5	0,01
11	Қызыларық	245	-	-	3245	-	-	3128	-	-
12	Мыңбұлақ	985	5	0,03	4985	5	0,014	3112	8	0,014
13	Нұрлыкент	728	233	1,2	3728	33	0,09	2725	35	0,1
14	Шакпақ ата	2670	-	-	3889	-	-	3240	-	-
Б/ғы	110986	20136	554	2,88	36750	219	0,603	54100	305	0,671

Сондай-ақ, Жамбыл облысы Жуалы ауданында 3 жыл бойғы статистикалық деректерге сүйенсек, ҰҚМ-дың бруцеллезге қарсы эпизоотиялық жағдайы бойынша 2017 жылы зерттелген малдың саны 20136, оның ішінде оң нәтиже бергені 554 бас, 2018 жылы – 36750, оң нәтиже бергені 219 бас, 2019 жылы 54100 бас – оң нәтиже бергені 305.

Жамбыл облысында алдыңғы жылмен салыстырғанда, бруцеллезге шалдығу жоғары деңгейде көрсетті. Бруцеллез ауруы пайда болған көптеген елді мекендерде ветеринариялық-санитариялық пункттер құрылған, бірақ іс-шаралар сақталмайтындығы мен ағынды сулар дезинфекцияланбайтындығы анықталып отыр.

Сондай-ақ, облыс бойынша адамдардың бруцеллез ауруына шалдығуы 2010 жылмен салыстырғанда 255 адамға кеміді (2010 жылы – 402 адам, 2019 жылдың 9 айында – 147 адам) Бруцеллезге шалдыққан ауыл шаруашылығы жануарлары дер кезінде оқшауланып, ветеринариялық талаптарға сәйкес уақытылы санитарлық союға жіберіліп, мемлекеттік ветеринариялық дәрігердің қадағалауымен өңдеу орындарына жіберілуде.

Жалпы облыста республикалық бюджет есебінен жыл санап эпизоотиялық іс-шараларға қарастырылатын қаражаттың көлемі де артып келеді. Өткен жыл бұл мақсатқа 1 миллиард 300 миллион теңге қаралған болса, биыл өңірдегі эпизоотиялық ахуалды тұрақтандыруға 1 миллиард 500 миллион теңге бөлініп отыр. Мұнан бөлек жергілікті қазына есебінен мал ауруларына қарсы күресті жүйелі жүргізуге 388 миллион теңге бөлінді. Бұл қаржыға қарсы егілетін вакциналар сатып алынды.

Жамбыл облысында ветеринариялық іс-шараларды 160 ветеринариялық пунктері бар 11 коммуналдық мемлекеттік кәсіпорындар атқаруда, кәсіпорындарда арнайы орта және жоғарғы білімді 887 ветеринар мамандар жұмыс жасауда.

Қорытынды. Республикада жануарлардың бруцеллез ауруының эпизоотологиялық жағдайы облыстар аумақтарының жақын орналасуы және мал шаруашылығы өнімдері мен объектілерінің және қоршаған ортаның ластануы бруцеллез ауруының қоздырғыштарының кең таралуына әкеліп отыр. Республиканың оңтүстік аудандарындағы эпизоотологиялық жағдай бойынша деректерге сәйкес адамдар мен жануарлар арасындағы бруцеллез бойынша эпидемиялық жағдай қарқынды өсуде. Республика бойынша адамдардың 75,8 % (1060) құрап, 5 облыстың үлесіне (Алматы, Шығыс Қазақстан, Жамбыл, Қызылорда, Оңтүстік Қазақстан) тиеді. Қоршаған ортаны ластану және ветеринарлық ережелерді сақтамау салдарынан үш жыл бойғы Жамбыл облысының Жуалы ауданында мал бруцеллезінің эпизоотиялық жағдайы статистикасына сәйкес 2017 жылы ластану пайызы зерттелгендердің жалпы санының 1,67 %-ы бруцеллез ауруымен ауыратын жануарлар, 2018 жылы – 0,65 %, ал 2019 жылы бұл көрсеткіш – 0,86 % құрады.

Эпизоотиялық ошақтарда жүргізілген зерттеулер барысында анықталғандай аурудың таралуына көбінесе адами факторлар себеп болуда. Мал иелері тарапынан ҚР «Ветеринария туралы» Заңының 25 бабымен белгіленген міндеттері мен «Ветеринариялық (ветеринариялық-санитариялық) қағидаларымен» белгіленген талаптардың орындалмауы себебінен жануарлардың аса қауіпті аурулары таралуда. Атап айтқанда, әрбір мал иесі басқа жақтан мал әкелгенде немесе сатқанда жергілікті мал дәрігерлерін ескертпейді, сырттан құжатсыз әкелген малды карантинге қоймай жұқпалы ауруларға қанын алып зерттеместен ауылдың жалпы табынына (отарға) немесе шаруа қожалығының малына қосады. Көбінесе мал иелері ауруға анықталған сиырдың бұзауын (козы, лағын) етке өткізбей алып қалады. Қора-жайға көктемде мал қорадан шығарда және күзде қораға кірерде дезинфекция жұмыстары жүргізілмейді. Бруцеллезге анықталған малын уақтылы етке өткізбей, ветеринариялық зертханаға сенімсіздік білдіреді.

Қазіргі уақытта Жамбыл облысындағы кейбір жұқпалы ауруларды толық жоюға қол жеткізу мүмкін емес, өйткені алдын алу бойынша халық арасында ағарту жұмысы ауылшаруашылық жануарларының жұқпалы ауруларына жүргізілмейді. Дегенмен, ең көп таралған эпизоотиялық процесті басқару және ескерту кезінде ауылшаруашылық жануарларының инфекциясының қарқындылығын төмендетуге мүмкіндік бар.

Қорыта айтқанда, «сақтансаң, сақтаймын дегендей» дер уақытында ветеринариялық мамандар тарапынан тиісті ветеринариялық іс шаралардың атқарылып, мал иелері тарапынан өз міндеттерін жауапкершілікпен орындаған жағдайда бруцеллезді жеңуге болады.

ӘДЕБИЕТ

1. Абсатиров Ф., Боранбаева Т. Ветеринариялық микробиология. – Астана: «Фолиант», 2012. – 156 б.
2. «Қазақстан Республикасындағы 2015 жылға арналған санитарлық-эпидемиологиялық жағдай» [Мәтін]: Астана. ҚР ҰЭМ Тұтынушылардың құқықтарын қорғау комитеті, РВП «ПВХ» ғылыми-практикалық орталығы санитарлық-эпидемиологиялық сараптама және мониторинг «ҚР ҰЭМ ҚР ТЖМ. – 2015. – 251 б.
3. <https://www.zakon.kz/4994313-zhambyl-oblysynda-ua-malda-brutsellez.html>
4. Дудников С.А. Количественная эпизоотология: основы прикладной эпидемиологии и биостатистики. – Владимир, 2005. – 459 с.
5. Методические указания по лабораторной диагностике бруцеллеза: ветеринарное законодательство Республики Казахстан. – Астана, 2005. – 23 с.

УДК 619:616.981.42 (574)

Ж.Қ. Тоганаев¹, А.М. Қалаубаев¹, Ә. Әбутәліп¹, А. Адамбаева¹, А. Айтқұлова²

¹Қазақ ғылыми зерттеу ветеринария институты ЖШС, Алматы, Қазақстан

²Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Алматы, Қазақстан
dog01@bk.ru, aspen_vet@mail.ru, aaakmaral@mail.ru, ayauka89@mail.ru

ТҮРКІСТАН ОБЛЫСЫНДАҒЫ СОҢҒЫ ЖЫЛДАРДАҒЫ БРУЦЕЛЛЕЗ АУРУЫНАН ИНДЕТТІК ЖАҒДАЙ

Аннотация. Жұмыстың мақсаты Түркістан облысы мал шаруашылығындағы соңғы жылдары бруцеллезден қалыптасқан эпизоотологиялық жағдайға мониторинг өткізу арқылы аурудың таралуының негізгі себептерін анықтап, онымен күрес жолдарының негізгі бағытын айқындау болып табылады. Мақалада облыс аумағындағы соңғы жылдардағы жануарлар және адам бруцеллезінің таралуы, эпизоотологиялық және эпидемиологиялық процестердің өзара байланысы туралы баяндалады. Индеттанулық мониторинг кезінде тек жануарлардың ауруға шалдығу деңгейі ғана емес, сонымен қатар бруцеллездің аудандар мен ауыл округ территориясында таралу жағдайы ескеру қажет. Облыс аумағын жануарлардың бруцеллезбен залалдану деңгейі бойынша зоналарға бөліп, олардың әр қайсысында бруцеллезге қарсы тиісті арнайы шаралар өткізу ұсынылады.

Түйін сөздер: бруцеллез, залалдану, серологиялық зерттеу, сауықтыру.

Ж.Қ. Тоганаев¹, А.М. Қалаубаев¹, А. Абуталип¹, А. Адамбаева¹, А. Айтқұлова²

¹ТОО «Казахский научно исследовательский ветеринарный институт», Алматы, Казахстан

²Казахский национальный аграрный университет, Алматы, Казахстан

ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО БРУЦЕЛЛЕЗУ В ТУРКЕСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ ЗА ПОСЛЕДНИЕ ГОДЫ

Аннотация. Целью данной работы является выявление основных причин распространения заболевания путем мониторинга эпизоотологической ситуации с бруцеллезом в Туркестанской области за последние годы и определение основных способов борьбы с ним. В статье описана распространенность бруцеллеза животных и человека в области за последние годы, взаимосвязь между эпизоотологическими и эпидемиологическими процессами. Эпизоотологический мониторинг должен учитывать не только уровень заболеваемости животных, но и распространенность бруцеллеза в районах и сельских округах. Рекомендуется разделить территорию

области на зоны по уровню бруцеллеза у животных, а в каждой из них провести соответствующие специальные меры против бруцеллеза.

Ключевые слова: бруцеллез, инфекция, серологическое тестирование, оздоровление.

Zh.K. Toganaev¹, A.M. Kalaubaev¹, A. Abutalip¹, A. Adambaeva¹, A. Aitkulova²

¹Kazakh Research Veterinary Institute Ltd, Almaty, Kazakhstan

²Kazakh National Agrarian University, Almaty, Kazakhstan

ЕPIZOOTIC SITUATION OF BRUCELLOSIS IN THE TURKESTAN REGION IN RECENT YEARS

Abstract. The aim of this work is to identify the main causes of disease spread by monitoring the epizootological situation with brucellosis in the Turkestan region in recent years and determine the main ways to combat it. The article describes the prevalence of brucellosis in animals and humans in the region in recent years, the relationship between epizootic and epidemiological processes. Epizootological monitoring should take into account not only the incidence of animals, but also the prevalence of brucellosis in areas and rural districts. It is recommended to divide territory of the region into zones according to the level of brucellosis in animals, and take appropriate special measures against brucellosis in each of it.

Keywords: brucellosis, infection, serological testing, reinvigorating.

Кіріспе. Бруцеллез – жануарлар мен адамдарға ортақ, созылмалы түрде өтетін аса қауіпті инфекциялық ауру. Бұл ауру, малдан алынатын төл санын, өнімдердің сапасын төмендетіп, экономикаға үлкен зиянын келтірумен қатар, адамдарға да жұғатын болғандықтан маңызды әлеуметтік мәселелер қатарына жағады [1, 2]. Бруцеллез ауруы қазіргі кезде республикамызда көптеп кездесіп отыр. Соңғы жылдары республика бойынша жыл сайын бруцеллезбен ауырған ірі қара мал саны 40-50 мың, ұсақ мүйізді мал 30-35 шамасында болса, 800-ден 1000-ға дейін ауру жұқтырған адамдар анықталынған [3]. Бруцеллезбен күрес жөніндегі қол жеткен біршама жетістіктерге қарамастан, бұл індет ҚР әлі де өте маңызды эпизоотологиялық және эпидемиологиялық мәселелердің бірі болып қалуда [4]. Түркістан облысында да бруцеллез ауруы жануарлар мен адамдар арасында жиі кездесетіндіктен, онымен күрес шараларын ұйымдастыру ветеринария және медицина мамандарының басты міндеттерінің бірі болып есептелінеді. Қазіргі кезде мал шаруашылығы негізінен жеке фермерлік, кооперативтік шаруашылықтар негізінде дамуда, ал мұның өзі мал өсіру, күтіп бағу технологиясының өзгеруіне әкелді, осыған байланысты бруцеллезге қарсы жүргізілетін іс-шаралар сипаты мен мазмұнын да қайта қарастыру қажеттігі туындайды [5]. Бруцеллезді балау және онымен күрес шараларын ұйымдастыру үшін қажет мәліметтер, індеттанулық зерттеулерге сүйене отырып алынады. Сондықтанда бруцеллез эпизоотологиясы жөніндегі мониторинг өткізудің осы індетке қарсы шаралар ұйымдастырғандағы маңызы зор. Осы айтылғандарға байланысты облыстарының мал шаруашылығында бруцеллезден қазіргі қалыптасқан эпизоотиялық жағдайға мониторинг жасап, бруцеллез таралуының негізгі себептерін анықтау өзекті мәселелердің бірі болып табылады.

Материалдар мен зерттеу әдістері. Жануарлар бруцеллезіне мониторинг жүргізу үшін ҚР АШМ ВБК Комитетінің «Түркістан облыстық аймақтық инспекция» ММ-нің, аудандар мен қалалардығы «Ветеринарная станция» КМК- орындарының, «Республикалық ветеринариялық зертхана» РМК-ның Түркістан облыстық филиалының 2015-2018 жылдар аралығындағы есептерінде келтірілген деректер жоспарлы түрде сараланып топтастырылды. Онымен қатар «Қазақ ҒЗВИ» ЖШС мен Түркістан облыстық филиалы ғылыми қызметкерлерінің, арнайы іс-сапар кезінде жергілікті жерлерден жинаған деректері мен жануарлар бруцеллезінен эпизоотиялық жағдайы әртүрлі шаруашылықтардан келіп түскен қан сынамаларын зерттеу нәтижелері қолданылды. Індеттанулық сараптау және жануарларды бруцеллезге зерттеу мақсатында арнайы әдістемелер қолданылды [6, 7].

Зерттеудің негізгі нәтижелері. Түркістан облысында әртүрлі жануарлар бруцеллезінің 2014-2018 жылдары таралуын толығырақ талдау үшін індеттанулық зерттеу жүргізілді. Зерттеу нәтижелері кестеде көрсетілген (1-кесте).

1-кесте – 2014-2018 жж. облысында жануарлардың бруцеллезбен залалдануы

Жылдар	ІҚМ		ҰММ		түйе		жылқы		шошқа		ит	
	залалдану% аурулар	саны	залалдану% аурулар	саны	залалдану% аурулар	саны	залалдану% аурулар	саны	залалдану% аурулар	саны	залалдану% аурулар	саны
2014	0,05	538	0,07	2983	0	0	0	0	0	0	0,2	6
2015	0,05	557	0,04	1454	0	0	0,18	3	0,03	2	0,1	8
2016	0,06	633	0,04	1415	0,01	1	0	0	0	0	0,8	45
2017	0,08	691	0,06	979	4,5	1	0	0	0	0	1,7	11
2018	0,04	491	0,01	799	0,4	6	0	0	0	0	2,8	7

5 жылғы орташа көрсеткіш		582		1526		1,6		0,6		0,4		15,4
5 жылда, барлығы	0,05		0,04		0,9		0,03		0,01		1,1	
		2910		7630		8		3		2		77

1-кестенің мәліметтерінен Түркістан облысында 2014-2018 жылдары ІҚМ бруцеллезбен залалдануының орташа көрсеткіші 0,05 %, ал ҰММ 0,04 % болғандығы белгілі болды. Облыс шаруашылықтарында 5 жылда бруцеллезге оң нәтиже берген жануарлар саны бойынша, бірінші орында ҰММ – 7630 бас. содан кейін ІҚМ – 2910 бас, ал үшінші орында иттер (77 бас) болды. Осы жылдар ішінде, басқа жануарлардан – 8 түйе, 3 жылқы және 2 шошқа бруцеллезге оң нәтиже берді, облыс аймағында жануарлардың түсік тастауы немесе өлі тууы тіркелген жоқ. Жалпы, облыста ірі қара малдың бруцеллезден қолайсыз 1 ғана пункті болды, ол 2016 жылы сауықтырылды. Талдау көрсеткендей, Түркістан облысында 2014-2018 жылдар аралығында ірі қара мен ұсақ мүйізді малдардың бруцеллез ауруы жоғары және орташа деңгейде таралған аудандар болған жоқ. алайда облыстың 5 ауданында осы жануарлардың бруцеллезбен залалдануы айтарлықтай, ал 8 ауданында төменгі дәрежеде болды. Жалпы, Түркістан облысында ірі қара мен ұсақ мал бруцеллезінен таза аймақтар жоқ, бруцеллез індеті облыстың барлық 13 ауданы 2 қаласында да тіркелген.

5 жыл ішінде облыста ІҚМ бруцеллезбен залалдану деңгейі бойынша, сәйкесінше Сайрам – 0,09 %, Ордабасы және Түлкібас – 0,07 %, Түркістан – 0,06 % аудандарын және Шымкент қаласын – 0,05 % атауға болады.

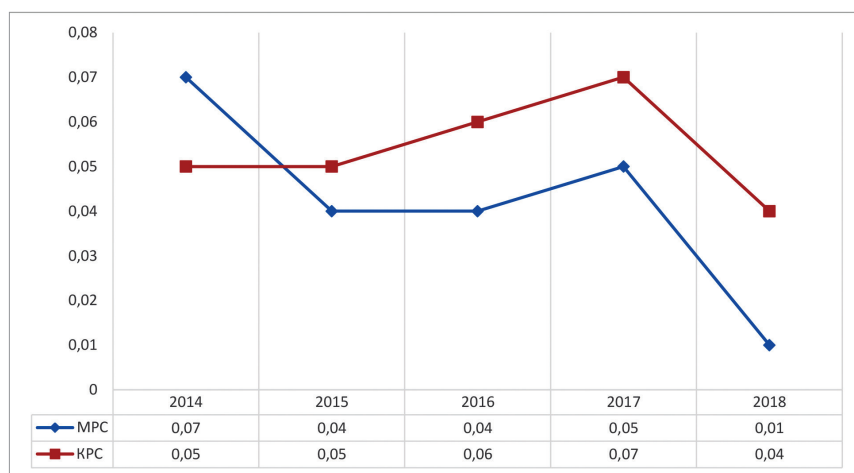
Ал ҰММ бруцеллезіне келетін болсақ, залалдану деңгейі бойынша, сәйкесінше, Төлеби – 0,08 %, Сайрам – 0,07 %, Түлкібас, Созақ – 0,07 % және Түркістан қаласы – 0,06 % орналасты.

Түйе бруцеллезі Арыс (0,6 %), Шардара (0,6 %) және Мақтаарал аудандарында (0,2 %) тіркелді.

5 жыл ішінде өңірде иттер арасында бруцеллез ауруының жоғары деңгейі – Түлкібас ауданында – 0,9 %, Отырар – 0,8 %, Қазығұрт және Сайрам ауданында – 0,7 % шамасында байқалды. Ит бруцеллезі бруцеллезге оң нәтиже берген ірі қара мен ұсақ малдар көп шыққан аудандарда және көбінесе отар маңындағы иттерде кездесті.

Осылайша, талдау көрсеткендей, Түркістан облысында жануарлар бруцеллезінің эпизоотологиясында басты рөлге ірі қара мен ұсақ мүйізді мал ие, ал қалған жануарлар бруцеллездің таралуында ерекше эпизоотологиялық рөл атқармайды. Ал отар маңындағы иттер бруцеллез қоздырушысын механикалық таратушылары болуы мүмкін.

Түркістан облысында 2014-2018 жылдар аралығында ірі қара мен ұсақ мүйізді малдардың бруцеллезбен залалдану динамикасы суретте көрсетілген (1-сурет).



1-сурет – Түркістан облысындағы ІҚМ мен ҰММ 2014-2018 жылдары бруцеллезбен залалдану динамикасы

1-ші суреттен, 2014 жылдан бастап 2016 жылға дейін ҰММ бруцеллезбен залалдануының біртіндеп төмендеуі, 2017 жылы аздап өскені байқалды, ал 2018 жылы ауру деңгейі күрт 0,01 % дейін төмендеді. Керісінше, ІҚМ бруцеллезі 2014 жылдан бастап 2017 жылға дейін үнемі өсіп, тек 2018 жылы 0,04 % дейін азайғанын көруге болады.

Түркістан облысының аймақтары бойынша 2014-2018 жылдары әр түрлі жануарлар арасында бруцеллездің таралуын талдау, ІҚМ бруцеллезі көбінесе Сайрам ауданында анықталғанын, ал қалған барлық аудандарда бруцеллезге оң реакция берген ҰММ көп болғанын көрсетті. Бруцеллезге оң реакция беретін иттердің көп саны Түлкібас, Отырар, Сайрам және Қазығұрт аудандарында тіркелген.

5 жыл ішінде жануарлардың басқа түрлерінің арасында бруцеллез ауруы сирек жағдайда ғана кездесті.

Жануарлардың жекелеген түрлеріндегі бруцеллездің таралуын зерттеумен қатар, бруцеллез инфекциясының территориялық таралуын талдадық, ол үшін кестеде (2-кесте) көрсетілгендей, Түркістан облысының ауылдық округтері (а/о) мен эпизоотологиялық бірліктерінде (ЭБ) бруцеллез ауруының орын алуы туралы мәліметтер жинақталды.

2-кесте – 2018 жылы Түркістан облысының а/о мен ЭБ бруцеллездің таралу көрсеткіштері

Аудан атауы	Аудан дағы а/о саны	Оның қаншасында бруцеллез тіркелді	Бруцел лез тіркелген а/о, %	Аудан дағы ЭБ саны	Оның қаншасында бруцеллез тіркелді	Бруцел лез тіркелген ЭБ, %
Бәйдібек	11	11	100	21	10	47,6
Созақ	12	11	91,6	21	4	19,04
Арыс	7	6	85,7	26	3	11,5

Мақтарал	24	12	50	179	23	12,8
Ордабасы	10	8	80	119	39	32,7
Түлкібас	15	11	73,3	114	22	19,3
Шардара	11	9	81,8	39	9	23,1
Қазығұрт	13	9	69,2	79	24	30,4
Отырар	13	6	46,2	188	17	9,04
Сайрам	11	11	100	21	12	57,14
Төлеби	13	13	100	64	32	50
Түркістан	12	12	100	203	72	35,5
Сарыағаш	26	12	46,2	53	24	45,3
Кентау қ.	5	3	60	36	10	27,7
Барлығы	183	134	73,2	1163	301	25,8

2-ші кестеден көрінгендей, Түркістан облысының барлық 183 ауылдық округтердің 134-інде (73,2 %) бруцеллез ауруына шалдыққан жануарлар бар, яғни осы а/о бруцеллезден таза емес деп есептелінеді. Бәйдібек, Сайрам, Төлеби және Түркістан аудандарының ауылдық округтері 100 % бруцеллез инфекциясынан таза емес болып саналады.

Облыс аумағындағы 1163 ЭБ-тің 301-інде (25,8 %) бруцеллез ауруына шалдыққан жануарлар бар. Яғни бруцеллез, аурудан таза емес ауылдық округтардағы барлық эпизоотологиялық бірліктердің бәрінен бірдей анықталмайды, тек оның шамамен 25 % -ында ғана кездеседі.

Бұл мәліметтер профилактикалық және дифференциаланған бруцеллезге қарсы іс-шараларды жоспарлау және ұйымдастыру кезінде ескерілуі керек. Аймақтың едәуір бөлігінде бруцеллездің кең таралғанына қарамастан, облыс аумағында ресми тіркелген бруцеллезден таза емес пункттер сирек кездеседі.

Жалпы алғанда, облыста 1 ғана ІҚМ бруцеллезінен таза емес пункт тіркелген, ол 2016 індеттен сауықтырылды. 2017 жылдан бастап Түркістан облысында ресми тіркелген бруцеллезден таза емес пункттер жоқ. Облыс шаруашылықтарында жануарлардың бруцеллез себебінен іш тастауы немесе олардың арасында аурудың жаппай анықталынуы тіркелмеген. Аймақтағы бруцеллезден сауықтыру жұмыстары, індетке қарсы вакциналарды немесе табындағы (отардағы) малды түгелдей етке тапсыру тәсілін қолданбай, жүйелі түрде диагностикалық зерттеулер өткізіп, ауру малды окшаулап, союға жіберу арқылы жүзеге асырылады.

Бруцеллез – бұл адамдарға жануарлардан жұғатын зооантропонозды инфекция, сондықтан бруцеллездің эпизоотиялық жағдайын зерттеу, аймақтағы эпидемиологиялық жағдайды да анықтаумен қатар жүргізілуі керек. Ол үшін біз Түркістан облысындағы соңғы 5 жылдағы осы аурудың эпидемиологиялық жағдайына талдау жасадық. Зерттеу нәтижелері кестеде көрсетілген (3-кесте).

3-кесте – Түркістан облысы бойынша 2014-2018 жылдары адамдардың бруцеллезге шалдығу көрсеткіштері

Аудандар атауы	2014 ж		2015 ж		2016 ж		2017 ж		2018 ж		5 жылда ауырған адамдар
	Сан.	Көрс.	Сан.	Көрс.	Сан.	Көрс.	Сан.	Көрс.	Сан.	Көрс.	
Арыс	10	14,16	2	2,74	4	5,44	10	13,44	5	6,76	31
Бәйдібек	48	90,91	29	52,82	19	36,40	16	31,01	14	27,51	126
Қазығұрт	55	48,72	25	23,00	17	16,07	13	12,08	10	9,19	120
Мақтаарал	3	1,00	2	0,66	0	0	1	0,33	7	2,29	13
Отырар	23	46,37	13	24,03	11	23,55	11	22,96	17	36,27	75
Ордабасы	67	58,67	22	18,92	22	18,50	14	11,81	17	14,29	142
Сайрам	35	17,53	12	6,11	8	3,88	12	5,70	7	3,26	74
Сарыағаш	25	8,16	14	4,41	6	1,93	11	3,53	5	1,56	61
Созақ	28	48,36	10	16,69	7	12,61	10	18,01	7	12,30	62
Төлеби	28	24,14	15	12,96	9	7,73	5	4,27	3	2,55	60
Түлкібас	15	14,16	11	10,08	2	1,88	5	4,85	2	1,93	35
Шардара	21	26,48	9	11,35	7	8,79	14	17,63	9	11,46	60
Түркістан	56	22,94	34	13,39	25	9,75	32	12,37	30	11,44	177
Кентау қ.	18	19,89	11	11,85	1	1,22	1	1,23	6	7,33	37
Абай ауылы	25	7,82	12	4,16	7	2,42	9	3,10	11	3,75	64
Әл-Фараби ауылы	9	3,51	3	1,17	3	1,57	2	1,02	8	3,98	25
Еңбекші ауылы	16	5,07	7	2,18	3	1,29	11	4,75	11	4,95	48
Облыс бойынша	482	17,27	231	12,7	160	9	174	8,82	169	9,46	1216
Белгілеулер Сан – ауырған адамдар саны; Көрс. – 100 мың адамдарға шаққандағы көрсеткіш											

3-ші кестеде бруцеллезбен ауыратын адамдар жануарлардағы бруцеллездің таралу дәрежесіне қарамастан барлық аудандар да тіркелгендігі көрсетілген. 5 жыл ішінде облыс аумағында бруцеллезге бастапқы диагноз 1216 адамға қойылды, осы кезеңде бруцеллезбен ауырған адамдар көбінесе Түркістан (177), Ордабасы (142), Бәйдібек (126) және Қазығұрт (120) аудандарында тіркелді, бұл жағдай аталған аудандардағы жануарлардың бруцеллез ауруына шалдығу деңгейімен сәйкес келеді.

Талдау көрсеткендей, соңғы жылдары адамдардың бруцеллезбен ауруы азайғандығы байқалады. Мәселен, 2014 жылы облыста бруцеллезбен 482 адам, 2015 жылы – 231, 2016 жылы – 160, 2017 жылы – 174 адам ауырса, 2018 жылы ауырғандар саны 169 адамға дейін төмендеді.

Дәл осындай тенденция жануарлардың бруцеллезге шалдығу динамикасында да байқалады, бұл жағдай бруцеллездің эпизоотологиялық және эпидемиологиялық процестерінің өзара байланысы бар екендігін көрсетеді.

Жұмысымыздың келесі кезеңінде, жануарлардың бруцеллезге шалдығуы жөніндегі мәліметтерді талдай отырып, 2014-2018 жылдардағы облыс аумақтарын ІҚМ мен ҰММ бруцеллезінің таралу деңгейі бойынша аудандарға бөлдік.

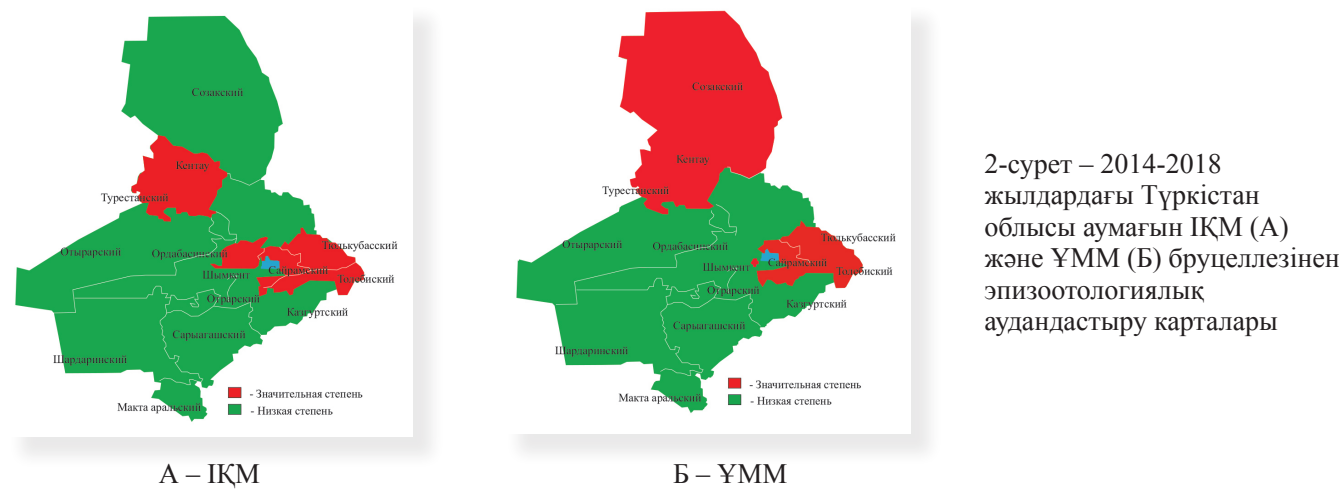
Ірі қара және ұсақ малдардағы бруцеллез ауруының таралу аумағын саралау нәтижелері кестеде көрсетілген (4-кесте).

4-кесте – 2014-2018 жылдары Түркістан облысы аудандарын ІҚМ және ҰММ бруцеллезге шалдығу деңгейі бойынша аудандарға бөлу

ІҚМ бруцеллезге шалдығуы (5 жылда, орташа – 0,05 %)	Аудан атауы және жануарлардың бруцеллезге шалдығу деңгейі, %	ҰММ бруцеллезге шалдығуы (5 жылда, орташа – 0,04 %)	Аудан атауы және жануарлардың бруцеллезге шалдығу деңгейі, %
Айтарлықтай (0,05 % - 0,1 %) – 5 аудан, бұл 38,5 % құрайды	Төлеби - 0,1 % Сайрам - 0,09 % Ордабасы - 0,07 % Түлкібас - 0,07 % Түркестан - 0,06 %	Айтарлықтай (0,04 % - 0,08 %) – 5 аудан, бұл 38,5 % құрайды	Төлеби - 0,08 % Сайрам - 0,07 % Түлкібас - 0,07 % Созақ - 0,07 % Түркестан - 0,06 % Шымкент қ. - 0,08 %
Төмен (0,01 - 0,05 %) – 8 аудан, бұл 61,5 % құрайды	Арыс - 0,04 % Сарыағаш - 0,04 % Шардара - 0,03 % Бәйдібек - 0,02 % Қазығұрт - 0,02 % Отырар - 0,02 % Мақтарал - 0,01 % Созақ - 0,01 % Кентау қ. - 0,03 % Шымкент қ. - 0,03 %	Төмен (0,01 - 0,04 %) – 8 аудан, бұл 61,5 % құрайды	Бәйдібек - 0,04 % Қазығұрт - 0,04 % Ордабасы - 0,03 % Сарыағаш - 0,03 % Арыс - 0,02 % Отырар - 0,02 % Мақтарал - 0,01 % Шардара - 0,01 % Кентау қ. - 0,04 %
Бруцеллезден таза	жоқ	Бруцеллезден таза	жоқ

4-ші кестеден, ІҚМ және ҰММ бруцеллезі облыстың 5 ауданында айтарлықтай, ал 8 ауданында төмен деңгейде таралғаны көрінеді. Кентау және Шымкент қалалары ІҚМ бруцеллезбен ауруы жөнінен төмен деңгейде (0,03 %). Шымкент қаласы ҰММ бруцеллезге шалдығуы жөнінен айтарлықтай (0,08 %), ал Кентау қаласы (0,04 %) төмен деңгейге жатады.

Одан әрі, осы кестедегі мәліметтерді пайдаланып, Түркістан облысы аумағын эпизоотологиялық аудандастыру карталары жасалды. Бұл карталар төмендегі суретте көрсетілген (сурет 2).



2-ші суреттен көрінгендей, бұл жылдары ІҚМ бруцеллезі облыстың Төлеби, Сайрам, Ордабасы, Түлкібас және Түркестан аудандарында айтарлықтай деңгейде етек жайды. Осы деңгейде ҰММ бруцеллезі Төлеби, Сайрам, Түлкібас, Созақ, Түркестан аудандары мен Шымкент қаласында орын алды.

Ал облыстың қалған 8 аудандарында жануарлардың бруцеллезге шалдығуы төмен деңгейде болды. Бұл аудандастыру карталары облыс аумағында бруцеллезге қарсы күресті ғылыми тұрғыдан негіздеп, әрбір зонаның өзіне қажетті арнайы іс-шараларды ұйымдастырып және өткізуге мүмкіндік береді.

Жұмысымыздың соңғы кезеңінде, облыс аумағындағы мал бруцеллезінің індеттік жағдайын талдай отырып, облыстың кейбір аудандарындағы эпизоотиялық жағдайдың нашарлауының негізгі себептерін анықтадық, оларға төмендегілерді жатқызуға болады: кейбір себептермен ауылшаруашылық жануарларының бәрі, толықтай бруцеллезге диагностикалық зерттеулермен қамтылмауы; мал фермаларының ветеринариялық-санитариялық жағдайының төмен болуы; шаруашылық ішінде немесе аудан арасында бруцеллезбен ауырған малдардың бақылаусыз орын ауыстыру фактілерінің кездесуі; ауру анықталғаннан кейін жануарларды уақтылы оқшаулап, сою орнына жіберу тәртібінің сақталмауы; бір ферма немесе аулада әр түрлі жастағы және әр түлік жануарларды бірге ұстап бағу, олардың арасында індеттің тез таралуына септігін тигізеді; ауру және сау жануар топтарының жайылым немесе суаттарда жанасуы; індет ошақтарында ветеринариялық-санитариялық, дезинфекциялық шараларды толық орындамау; ірі қара мен ұсақ малды бруцеллезге қарсы иммундау үшін арнайы профилактика шараларын қолданбау және т.б.

Осы айтылғандарға байланысты облыс аумағында жануарлардың бруцеллезіне тұрақты түрде эпизоотологиялық бақылау жүргізіп, оның нәтижелері бойынша атқарылатын індетке қарсы шараларға түзету енгізіп отыру қажет.

Алынған мәліметтерді талқылау. Жүргізілген зерттеулер, облыс аумағындағы жануарлар бруцеллезінің эпизоотологиясында жетекші рөлді ІҚМ, содан кейін ҰММ алатынын көрсетті. Облыста, 5 жыл ішінде бруцеллезбен ауырған 2910 бас ІҚМ және 7630 бас ҰММ анықталды. Қалған басқа жануарлар, мал арасында бруцеллездің таралуына айтарлықтай эпизоотологиялық рөл атқармайды. Осы жылдары ІҚМ бруцеллезі Төлеби, Сайрам, Ордабасы, Түлкібас және Түркестан аудандарында, ал ҰММ бруцеллезі Төлеби, Сайрам, Түлкібас, Созақ, Түркестан аудандары айтарлықтай деңгейде орын алды. Осы, 5 жыл ішінде бруцеллезге оң реакция берген иттер саны Түлкібас, Отырар, Қазығұрт және Сайрам ауданында көп болды, бұны осы аудандардағы ІҚМ мен ҰММ бруцеллезінің көптеп кездесетіндігімен байланыстыруға болады.

Қорытынды. Талдау көрсеткендей, соңғы жылдары облыста адам бруцеллезінің азайғаны байқалады. Дәл осындай тенденция жануарлардың бруцеллезге шалдығу динамикасында да байқалады, бұл бруцеллездің эпизоотологиялық және эпидемиологиялық процестерінің өзара байланысын көрсетеді.

Жануарлар арасында бруцеллездің пайда болуы мен таралуының негізгі себептері - жануарлар бруцеллезінің алдын алу және сауықтыру туралы ережелерді сақтамау, ұйымдастыру, ветеринариялық-санитариялық және арнайы шаралар кешенін толық орындамау деп пайымдауға болады.

Түркістан облысында жануарлар бруцеллезі жөніндегі қалыптасқан эпизоотиялық жағдайда бруцеллездің алдын алу және одан сауықтыру үшін, жүйелі түрде індеттанулық мониторинг және диагностикалық зерттеулер өткізу, бруцеллезге оң реакция берген жануарларды тез арада оқшаулап союға жіберу және ветеринариялық-санитариялық шаралар толық кешенін жүргізу ұсынылады.

ӘДЕБИЕТ

1. Искандаров М.И., Гулюкин М.И., Гулюкин А.М., Искандарова С.С., Альбертян М.П., Федоров А.И., Слепцов Е.С., Винокуров Н.В., Федоров В.И. Бруцеллез животных в России. – Новосибирск: Изд. АНС «СибАК», 2017. – 286 с.
2. Базарбаев М., Тен В.Б., Канатбаев С.Г. Бруцеллез животных (эпизоотология, диагностика и профилактика). – Караганда, 2018. – 461 с.
3. K. Tabynob, B. Yespembetov, N. Matikhan First evaluation of an influenza viral vector based Brucella abortus vaccine in sheep and goats: Assessment of safety, immunogenic-city and protective efficacy against Brucella melitensis infection // Veterinary Microbiology. – 2017. – 197. – P. 15-20.
4. A. Abutalip, N. Matikhan, S. Kanatbayev, M. Bazarbayev, V. Vorobyov Analysis of efficiency of vaccines against brucellosis in cattle in the republic of Kazakhstan // Asian journal of Pharmaceutical and Clinical Research. – 2017. – Vol. 10, Issue 6.
5. Жанбырбаев М., Тоғанаев Ж.К., Әбутәліп Ә., Елберген Ә.Ә., Қалаубаев А., Лесов Б. Оңтүстік Қазақстанда жануарлар бруцеллезін балау тәсілдерін өндіріске енгізу // Ветеринария ғылымының заманауи теориялық және практикалық мәселелері. – Алматы, 2018. – Том LXIV. – 97-103 б.
6. Методические указания по лабораторной диагностике бруцеллеза: ветеринарное законодательство Республики Казахстан. – Астана, 2005. – 23 с.
7. Дудников С.А. Количественная эпизоотология: основы прикладной эпидемиологии и биостатистики. – Владимир, 2005. – 459 с.

Д.Н. Кайсенов, А.Б. Алиева, Т.С. Әділ, М.М. Божбанбаева, К.Б. Баракбаев
РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгм.
Гвардейский, Казахстан, E-mail: unots@biosafety.kz

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ СОДЕРЖАНИЯ ПТИЦ В ЛИЧНЫХ ПОДВОРЬЯХ И ПРОВЕДЕНИЯ ОХОТЫ, СОПРЯЖЕННЫХ С РИСКом ИНФИЦИРОВАНИЯ ГРИППОМ ПТИЦ

Аннотация. Изучены особенности условия содержания домашней птицы и проведения охоты, сопряженные с возможным риском инфицирования возбудителем гриппа птиц. Представлены правила и рекомендации по недопущению заражения людей возбудителем гриппа птиц в личных подворьях и во время проведения охоты.

Ключевые слова: вирус, грипп птиц, заражение, факторы, оценка риска.

Д.Н. Кайсенов, А.Б. Алиева, Т.С. Әділ, М.М. Божбанбаева, К.Б. Баракбаев
ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМК, Гвардейский
қтп., Қазақстан

ҚҰС ТҰМАУЫ ИНФЕКЦИЯСЫН ЖҰҚТЫРУ ҚАУПІ БАР, ЖЕКЕ ҚҰРАМДАРДА ЖӘНЕ АҢШЫЛЫҚ ЖҮРГІЗУДЕ ҚҰСТАРДЫ ҰСТАУ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІН ЗЕРТТЕУ

Аннотация. Үй құсын ұстау шарттарының ерекшеліктерін және аң аулауды құс тұмауының қоздырғышын жұқтыру қаупімен байланысты зерттеу. Жеке үй аулаларында және аң аулау кезінде құс тұмауының қоздырғышының адамдарға жұғуына жол бермеу үшін ережелер мен ұсыныстар ұсынылды.

Түйін сөздер: вирус, құс тұмауы, жұғу, факторлар, қауіпті бағалау.

D.N. Kaisenov, A.B. Aliyeva, T.S. Adil, M.M. Bozhbanbayeva, K.B. Barakbayev
RGE "Research Institute for Biological Safety Problems" CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan

STUDY OF THE CHARACTERISTICS OF BIRD CONTENT IN PERSONAL PLANTS AND HUNTING ASSOCIATED WITH THE RISK INFECTION WITH AVIAN INFLUENZA

Abstract. The features of the conditions for keeping poultry and hunting associated with a possible risk of infection by the avian influenza pathogen were studied. The rules and recommendations are presented to prevent infection of people with the bird flu causative agent in personal farmsteads and during hunting.

Keywords: virus, avian influenza, infection, factors, risk assessment.

Введение. Грипп птиц – вирусное заболевание, поражающее диких, синантропных, сельскохозяйственных птиц. Основной переносчик вируса – дикие водоплавающие птицы. Источник инфекции – больные птицы, выделяющие вирус истечением из носа и рта, экскрементами, яйцом. Переносчиком является так же переболевшая птица (срок вирусоносительства два месяца). Факторами передачи являются корма, яйцо, тушки убитых и павших птиц, обменная тара, инвентарь, отходы инкубации и убойных цехов. Заражение происходит обычно путем фекально-оральной трансмиссии, но возможно внедрение вируса через конъюнктиву и респираторно. Основными признаками больной птицы являются: слабость, отеки подкожной клетчатки в области головы, шеи, груди, отек гортани, синюшность видимых слизистых оболочек, загрязненная экскрементами хвостовая часть, возможна частичная парализация и мышечные судороги [1, 2, 3].

Материалы и методы исследования. В качестве материалов при проведении исследований использовали: официальный веб-сайт Европейского агентства по безопасности труда и охране здоровья на работе <http://europa.osha.eu/int/>; официальный веб-сайт ВОЗ <http://who.int>; официальный веб-сайт Бюро международных информационных программ государственного департамента США <http://usinfo.state.gov/russian/>.

Для получения результатов, применяли следующие методы: обобщение информации; определение критериев значимости и выбора; системный анализ действия различных факторов; методы оценки рисков.

Результаты исследований. Согласно современным представлениям и имеющимся статистическим данным наибольший потенциал инфицирования присутствует в личных подворьях содержания домашней птицы, особенно тех, которые находятся в непосредственной близости от водоемов гнездования диких перелетных птиц. Имея непосредственный контакт в общих водоисточниках с дикой перелетной птицей домашняя птица может быть распространителем вируса до проявления клинической картины болезни не вызывая никаких опасений. Кроме того, спецификой частного сектора является то, что люди, содержащие домашнюю птицу, зачастую не имеют специальных знаний, необходимых для уменьшения риска заражения, а также средств индивидуальной защиты и дезинфекции [4, 5].

Следующие условия характерны для содержания домашней птицы в личных подворьях, которые могут быть сопряжены с риском инфицирования людей:

- ✓ Выпуск приобретенной птицы в вольер подразумевает близкий контакт с птицей, сопряженный с риском получения царапин, зацепов, проколов кожных покровов и инфицирование через них. Так же вероятно попадание возбудителя на кожу рук и дальнейшее инфицирование фекально-оральным способом.

- ✓ Кормление и поение птицы связано с риском вдыхания пыли, загрязненной инфицированными фекалиями птицы, так же не исключены мелкие ранения кожных покровов и заражение через них.

- ✓ Чистка вольеров и помещений содержания опасна вдыханием пыли и трухи, загрязненной вирусосодержащими фекалиями птиц.

- ✓ Сбор яиц может послужить причиной заражения фекально-оральным способом по причине загрязнения скорлупы пометом, контаминированным вирусом.

- ✓ Игры и другой близкий контакт детей с птицей потенциально опасен, так как в данном случае любой из вышеперечисленных путей заражения весьма вероятен.

- ✓ Забой, ощипывание, потрошение птицы, разделка тушек подразумевают прямой контакт с кровью, органами, фекалиями птицы.

Заражение может произойти при попадании брызг на слизистые глаз и рта, при случайном занесении патогена в рот или глаза грязными руками, так же возможно заражение через мелкие раны и порезы при неосторожном использовании колюще-режущих инструментов.

Охота – вид специального пользования животным миром, при котором осуществляется изъятие видов животных, являющихся объектом охоты, из среды обитания. Поиск, отслеживание и преследование с целью добывания, попытка добывания объектов животного мира, нахождение в охотничьих угодьях лиц с расчехленным охотничьим огнестрельным оружием и другими орудиями охоты или добытой продукцией охоты, с охотничьими собаками, спущенными с поводка, и ловчими птицами приравняются к охоте [6].

Обсуждение полученных данных. Занимая промежуточное положение между государствами Восточной Европы и Центральной Азии, Республика Казахстан может иметь ключевое значение в распространении гриппа птиц, имея протяженную территорию с большим количеством водоисточников где скрещиваются важные миграционные пути диких перелетных птиц. Большинство из них являются привлекательными охотничьими угодьями. С открытием сезона в эти угодья выезжает большое количество охотников на дикую водоплавающую птицу.

При этом наиболее подвержены к опасности заражения следующие действия и обстоятельства, сопровождающие охоту:

- ✓ Отстрел вялой и больной дичи, складирование ее вместе с остальными отстреленными птицами.
- ✓ Недостаточная тепловая обработка мяса дичи, прежде всего в полевых условиях.
- ✓ Ощипывание и потрошение дичи, особенно дома или рядом с местом содержания домашней птицы.
- ✓ Использование пуха и пера дикой птицы в хозяйственных целях.
- ✓ Скармливание внутренних органов потрошенной дичи и яиц дикой птицы охотничьим собакам и любым другим домашним животным.

- ✓ Ношение охотничьей одежды и обуви без предварительной чистки и мытья.

- ✓ Изготовление чучел, украшений, сувениров из перьев диких птиц.

- ✓ Близкий контакт детей с охотничьими трофеями, присутствие детей на охоте.

В Республике Казахстан разработаны правила охоты в соответствии с Законом Республики Казахстан от 9 июля 2004 года «Об охране, воспроизводстве и использовании животного мира» и регламентируют порядок организации и проведения охоты на территории Республики Казахстан [6].

Из которой следующие Правила, следует выполнять во время, и после охоты на водоплавающую дичь.

- 1 Отстреливать только здоровую птицу.

- 2 Недопустимо привозить необработанную птицу домой.

- 3 Во время потрошения работать только в резиновой обуви и перчатках, марлевой повязке.

- 4 Перед ощипыванием и потрошением птицу опустить на несколько минут в кипяток или обработать открытым огнем (костер, паяльная лампа).

- 5 При ощипывании и потрошении птицы не прикасаться лицу и избегать загрязнения окружающих предметов и почвы кровью и внутренним содержимым птицы.

- 6 После обработки птицы все биологические отходы захоронить на возможно большую глубину или сжечь. Недопустимо скармливать внутренние органы птицы другим животным.

- 7 Как можно чаще мыть руки с мылом.

- 8 Обработать разделочный инвентарь дезинфицирующими средствами.

- 9 После охоты обувь тщательно помыть, одежду выстирать и просушить на солнце.

- 10 Не рекомендуется потреблять в пищу охотничьи трофеи. В противном случае при кулинарной обработке птицы соблюдать правила гигиены, птицу хорошо проваривать или прожаривать до прозрачного мясного сока. Кухонный инвентарь тщательно промыть с мылом, обдать кипятком.

- 11 Не рекомендуется изготавливать чучела, сувениры, украшения, сувениры из перьев диких птиц.

- 12 Не рекомендуется допускать к охотничьим трофеям детей.

- 13 В течение 7-10 дней после контакта с дикой птицей при появлении симптомов гриппа или инфекции глаз немедленно обращаться за медицинской помощью.

При обнаружении или отстреле птиц с признаками заболевания гриппа птиц охотнику необходимо сообщить об этом специалистам Комитета ветеринарного контроля и надзора, и предоставить птицу, упакованную в целлофан, в ближайший орган ветеринарной службы. В случае отсутствия такой возможности, охотник обязан уничтожить тушу методом сжигания. При контакте с птицей, имеющей симптомы данного заболевания, необходимо соблюдать правила санитарной безопасности и гигиены.

Таким образом, изучены особенности условия содержания домашней птицы и охоты на водоплавающую дичь, сопряженные с возможным риском инфицирования возбудителем заболевания. Выделены те процедуры и условия, которые представляют наибольшую опасность для людей.

Заключение. В связи с этим, необходимо отметить, что следует избегать контакта с домашней и дикой птицей в домашних хозяйствах, рынках и местах массового скопления птицы на открытых водоемах. Выгул домашней птицы должен проводиться только на домашних подворьях граждан. Не рекомендуется покупать для питания мясо птиц и яйца в местах несанкционированной торговли. Для питья необходимо использовать только бутилированную или кипяченую воду. Для дезинфекции в местах массового скопления людей и на транспорте можно использовать дезинфицирующие препараты, которые обладают активностью против вирусов.

ЛИТЕРАТУРА

- 1, Официальный веб-сайт Всемирной Организации Здравоохранения // <http://who.int>.
- 2, Официальный веб-сайт Всемирной Продовольственной Организации // <http://www.FAO.int>
- 3, Лобанова Т.П., Кихтенко Н.В. Птичий грипп // ОНТИ ГНЦ ВБ «Вектор», сентябрь 2005.
- 4, .com. «Что грипп грядущий нам готовит».
- 5, МР №0100/12294-06-34 «Организация мониторинга заносов и распространения гриппа птиц в природных условиях на территории Российской Федерации».
- 6, Правила охоты на территории Республики Казахстан. Постановление Правительства Республики Казахстан утвержденные 31.12.2004 года, №1458.

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

УДК 619:616-07

М.Д. Алмежанова², К.А. Шораева¹, Н.Н. Мухами¹, Н.Т. Туменбаева²,
Е.Д. Бурашев¹, К.Т. Султанкулова¹

¹РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгм.
Гвардейский, Казахстан, E-mail: unots@biosafety.kz

²Таразский государственный университет имени М.Х. Дулати, г. Тараз, Казахстан

ИСПЫТАНИЯ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА И ПРОВЕРКА ОПЫТНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СЕРИИ ТЕСТ-СИСТЕМЫ ДЛЯ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ НОДУЛЯРНОГО ДЕРМАТИТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА МЕТОДОМ ПЦР

Аннотация. В данной статье представлены результаты испытания технологии производства и проверки опытно-производственной серии тест-системы для лабораторной диагностики нодулярного дерматита крупного рогатого скота методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

На основе проведенных работ было установлено, что опытно-производственные серии диагностической тест-системы, разработанные в РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, соответствуют инструкции по изготовлению и контролю стандарта организации № 405-1919-04 ГП-111-2018.

Производство отечественной тест-системы для диагностики нодулярного дерматита крупного рогатого скота позволит повысить ветеринарную безопасность страны, снижает зависимость от импорта, обеспечивает внутренний рынок легкодоступной и недорогой тест-системой.

Ключевые слова: нодулярный дерматит, крупный рогатый скот, тест-система, диагностика, опытно-производственная серия, технология производства.

МҮЙІЗДІ ІРІ ҚАРАНЫҢ ТҮЙІНДІ ДЕРМАТИТІН ПТР ӘДІСІМЕН ЗЕРТХАНАЛЫҚ БАЛАУҒА АРНАЛҒАН СЫНАҚ ЖҮЙЕСІНІҢ ӨНДІРІСТІК ТЕХНОЛОГИЯСЫН СЫНАУ ЖӘНЕ ТӘЖІРИБЕЛІК-ӨНДІРІСТІК СЕРИЯСЫН ТЕКСЕРУ

Анотация. Мақалада ПТР әдісі арқылы ірі қара малдың түйінді дерматитін зертханалық диагностикалауға арналған сынақ-жүйесінің өндіріс технологиясын сынау және тәжірибелік сериясын бақылау нәтижелері келтірілген.

Жүргізілген жұмыстардың негізінде, Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі Ғылым комитетінің «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларын ғылыми-зерттеу институты» РМК-да жасалған диагностикалық сынақ-жүйесінің тәжірибелік-өндірістік сериялары ұйым стандартының № 405-1919-04 ГП-111-2018 өндіру және бақылау жөніндегі нұсқаулыққа сәйкес келеді.

Ірі қара малдың түйінді дерматитін диагностикалауға арналған отандық сынақ-жүйесін өндіру елдің ветеринариялық қауіпсіздігін арттыруға мүмкіндік береді, импортқа тәуелділікті азайтады, ішкі нарықты қол жетімді және арзан сынақ-жүйесімен қамтамасыз етеді.

Түйін сөздер: түйінді дерматит, ірі қара мал, сынақ-жүйе, диагностика, тәжірибелік-өндірістік сериясы, өндіріс технологиясы.

M.D. Almezhanova², R.A. Shorayeva¹, N.N. Mukhami¹, N.T. Tumenbayeva², E.D. Burashev¹, K.T. Sultankulova¹

¹RGE “Research Institute for Biological Safety Problems” CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan

²Taraz State Dulaty University, Taraz city, Kazakhstan

TESTS OF PRODUCTION TECHNOLOGY AND CONTROL OF THE EXPERIMENTAL AND PRODUCTION SERIES OF TEST-SYSTEMS FOR LABORATORY DIAGNOSTICS OF LUMPY SKIN DISEASE OF CATTLE BY PCR

Abstract. This article presents the results of testing production technology and an experimental-production series of a test-system for laboratory diagnosing the lumpy skin disease of cattle by PCR.

Based on the work carried out, it was found that the experimental-production series of the diagnostic test-system developed at the RSE “Research Institute for Biological Safety Problems” of the Committee of Science of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan comply with the instructions for the production and control of organization standard No. 405-1919 -04 GP-111-2018.

The production of a domestic test-system for diagnosing the lumpy skin disease in cattle allow to increase the country’s veterinary safety, reduces dependence on imports, and provides the domestic market with an easily accessible and inexpensive test-system.

Keywords: lumpy skin disease, cattle, test-system, diagnostics, experimental and production series, production technology.

Введение. Нодулярный дерматит (НД) – это трансграничное вирусное инфекционное заболевание, вызванное возбудителем рода *Capripoxvirus*. Бугорчатка поражает не только коров, также она опасна для коз и овец. В антигенном отношении он является родственным вирусу оспы овец [1].

Согласно данным представленным Международным эпизоотическим бюро в 2015 году заболеванию нодулярным дерматитом подвержен только крупный рогатый скот и азиатские буйволы. Однако, ряд исследований считают, что наряду с крупным рогатым скотом нодулярным дерматитом болеют овцы и козы [2].

На сегодняшний день нодулярный дерматит крупного рогатого скота (КРС) является актуальной проблемой в стране. С каждым годом разработка диагностикумов приобретает все большую популярность для предотвращения заболеваний.

Однако, в отечественном рынке биопрепаратов почти отсутствуют диагностические наборы и тест-системы для выявления вируса НД КРС. В основном в рамках Государственного заказа закупаются импортные тест-системы для диагностики нодулярного дерматита КРС [6].

Диагностические тест-системы зарубежных производителей выделяются своей дороговизной, что является проблематичной для животноводческих хозяйств страны. Тем самым нашей задачей является обеспечение животноводческого сектора Казахстана качественной и эффективной диагностической тест-системой в необходимом объеме и по доступным ценам.

Сотрудниками Института разработана «Тест-система для лабораторной диагностики нодулярного дерматита крупного рогатого скота методом ПЦР», которая прошла производственную апробацию на базе РГП на ПХВ «Национальный референтный центр по ветеринарии» КВКН МСХ РК и получено свидетельство о

государственной регистрации в Государственном реестре ветеринарных препаратов и кормовых добавок, номер регистрационного удостоверения № РК-ВП-23985-19 от 18 июня 2019 года.

Преимуществами разработанной тест-системы являются высокая чувствительность и специфичность ПЦР-метода для диагностики нодулярного дерматита [3]. ПЦР анализ позволяет гарантированно обнаруживать единичных возбудителей в биологическом материале за короткий промежуток времени, что позволяет поставить точный диагноз, назначить адекватное лечение и разработать профилактические мероприятия.

Приказом Генерального директора института была создана Комиссия для проведения испытаний по изготовлению и контролю опытно-производственной серии тест-системы для лабораторной диагностики нодулярного дерматита КРС методом ПЦР. Испытания проводились на базе «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК согласно инструкции по изготовлению и контролю тест-системы стандарта организации № 405-1919-04 ГП-111-2018.

Учитывая вышеуказанное, была поставлена цель – проверка опытно-производственной серии тест-системы на соответствие техническим параметрам при изготовлении согласно стандарту организации. Поставленная цель была достигнута путем решения следующих задач – определение комплектности, внешнего вида, цвета, наличия посторонней примеси, формы фасовки, целостности упаковки, соответствия маркировки, стерильности, чувствительности, специфичности «Тест-система для лабораторной диагностики нодулярного дерматита крупного рогатого скота методом полимеразной цепной реакции».

Методика исследований. Структура системы испытания технологии производства и проверка опытно-производственной серии тест-системы включает в себя следующие элементы: изготовление наборов тест-системы; проведение контроля тест-системы; выделение дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК); проведение ПЦР; определение специфичности тест-системы; определение чувствительности тест-системы; определение стерильности тест-системы [3, 4].

Образцы. В качестве объекта исследований в работе были использованы биопробы, выделенные от КРС с подозрением на нодулярный дерматит, а также ДНК вируса нодулярного дерматита «Dermatitis nodulares/Atyray/KZ/2016» и других представителей поксвирусов (таблица 1).

Таблица 1 – Образцы, использованные в данных исследованиях

№	Наименование образца
ДНК вируса нодулярного дерматита и поксвирусов	
1	ДНК вируса нодулярного дерматита «Dermatitis nodulares/Atyray/KZ/2016»
2	ДНК вируса оспы овец «НИСХИ» от 11.01.2013 г.
3	ДНК вируса оспы овец «RM-65» от 16.04.2003 г.
4	ДНК вируса оспы коз «Казахстанский» от 19.04.2005 г.
5	ДНК вируса оспы коз «Pellor» от 14.03.1996 г.
Биопробы	
6	Проба № 1 (кровь, КРС)
7	Проба № 2 (бугорчатка, КРС)
8	Проба № 3 (бугорчатка, КРС)
9	Проба № 4 (бугорчатка, КРС)

Изготовление наборов тест-системы. Наборы тест-системы для лабораторной диагностики нодулярного дерматита крупного рогатого скота методом ПЦР изготовили согласно инструкции по изготовлению и контролю тест-системы для диагностики нодулярного дерматита крупного рогатого скота методом полимеразной цепной реакции.

В состав тест-системы для выявления нодулярного дерматита крупного рогатого скота методом полимеразной цепной реакции, рассчитанной на проведение 55 анализов, включая контрольные пробы, входят три набора для проведения этапов ПЦР-анализа:

- набор № 1 для выделения ДНК;
- набор № 2 для проведения ПЦР - амплификации участка ДНК;
- набор № 3 для электрофоретической детекции продуктов амплификации в агарозном геле.

Набор № 1 для выделения ДНК состоит из следующих компонентов:

- Буфер для выделения ДНК (лизирующий буфер, промывочный буфер);
- Сорбент;
- ДНК-элюент – деионизированная вода;

Набор № 2 для проведения ПЦР - амплификации участка ДНК состоит из следующих компонентов:

- ПЦР-смесь для проведения ПЦР;
- Положительный контрольный образец – плазмидная ДНК, содержащая фрагмент гена вируса нодулярного дерматита (K⁺);
- Отрицательный контрольный образец - деионизированная вода (K⁻).

Набор № 3 для электрофоретической детекции продуктов амплификации в агарозном геле состоит из следующих компонентов:

- Трис-ацетатный буфер (ТАЕ);

- Бромистый этидий;
- Агароза для электрофореза ДНК;
- Буфер для нанесения проб.

Проведение контроля тест-системы. Комплектность набора реагентов проверяли путем сопоставления маркировочных данных каждой коробки, пробирки и флаконов с перечнем упаковочного листа и данными документа о качестве на указанные серии набора реагентов.

Выделение ДНК. ДНК контрольных штаммов выделены набором № 1 для выделения ДНК тест-системы для лабораторной диагностики НД КРС методом ПЦР.

Проведение ПЦР. Для постановки ПЦР применены готовые реакционные ПЦР-смеси (мастер-миксы) в объеме 22 мкл, в 0,2 мл пробирках. Испытание проведено с использованием положительного (K^+) и отрицательного (K^-) контролей набора № 2, предназначенные для проведения ПЦР, согласно инструкции.

Для амплификации ПЦР продукта разработаны индивидуальные температурно-временные параметры на каждый амплификатор (таблица 2).

Таблица 2 – Программа для амплификации ДНК вируса нодулярного дерматита КРС

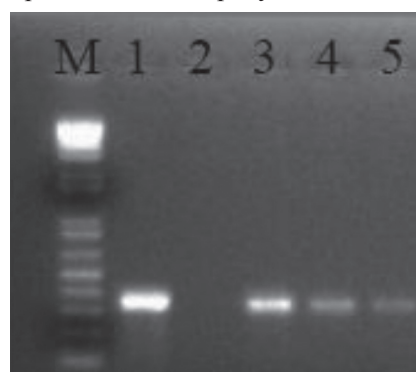
Название амплификатора	Температурно-временной режим амплификации					
	Пре-денатурация	Денатурация	Отжиг	Элонгация	Заключ. элонгация	Хранение
Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler	94 °C – 3 мин	94 °C – 20 сек	58 °C – 20 сек	72 °C – 40 сек	72 °C – 7 мин	4 °C-∞
SimpliAmp™ Thermal Cycler	94 °C – 3 мин	94 °C – 20 сек	58 °C – 20 сек	72 °C – 40 сек	72 °C – 7 мин	4 °C-∞
GeneAmp PCR System 9700	94 °C – 3 мин	94 °C – 20 сек	59 °C – 20 сек	72 °C – 40 сек	72 °C – 7 мин	4 °C-∞
Число циклов	1	35			1	

После окончания реакции пробирки с продуктами амплификации отправили для электрофоретического анализа, который провели разделением фрагментов ДНК в агарозном геле. Работу с амплифицированными ДНК провели в отдельном помещении.

Полученные результаты исследований. Для проверки работоспособности набора № 1 были выделены ДНК вируса нодулярного дерматита «Dermatitis nodulares/Atyray/KZ/2016», ДНК бугорчатки и крови КРС.

Далее набором № 2 была произведена постановка ПЦР на амплификаторе GeneAmp PCR System 9700 с применением готовых реакционных смесей в объеме 22 мкл с последующим добавлением 3 мкл выделенных ДНК согласно параметрам температурно-временного режима, указанные в таблице 1. Для детекции продуктов амплификации использовали 1,5 %-ный агарозный гель, исходя из длины фрагмента (347 п.о.).

Результаты работ по определению активности положительного и отрицательного контролей набора № 2 представлены на рисунке 1.



М – 1 kb маркер ДНК; 1 – K^+ (положительный контроль – плазмидная ДНК вируса нодулярного дерматита «Dermatitis nodulares/Atyray/KZ/2016»); 2 – K^- (отрицательный контроль – деионизированная вода); 3 – ДНК вируса нодулярного дерматита «Dermatitis nodulares/Atyray/KZ/2016»; 4 – ДНК, выделенная от бугорчатки КРС (проба № 2); 5 – ДНК, выделенная из крови КРС (проба № 1)

Рисунок 1 – Определение активности положительного и отрицательного контролей тест-системы

Продукт амплификации положительного контрольного образца, входящий в состав тест-системы, соответствовал размеру для фрагмента ДНК вируса НД КРС 347 п.о. (рисунок 1).

Определение специфичности тест-системы. Для определения специфичности ПЦР тест-системы для диагностики НД методом ПЦР в опытах в качестве гетерологичных поксвирусов использованы ДНК вирусов оспы овец, оспы коз. В качестве положительного контроля при постановке ПЦР использована плазмидная ДНК фрагмента гена штамма «Dermatitis nodulares/Atyray/KZ/2016» вируса нодулярного дерматита, а в качестве отрицательного контроля использована деионизированная вода. ПЦР тест-система способна реагировать только со специфической ДНК вируса нодулярного дерматита.

Контроль специфичности тест-системы проведен с использованием специфического положительного контроля – плазмидной ДНК, содержащей фрагмент гена вируса нодулярного дерматита КРС. Специфичность тест-системы составила 100 %.

Постановку ПЦР для определения специфичности проводили согласно рекомендациям, наставлению по постановке ПЦР для диагностики вируса нодулярного дерматита КРС.

При определении специфичности ПЦР были получены положительные результаты в пробах № 6 (ДНК, выделенная из бугорчатки КРС), 7 (ДНК, выделенная из крови КРС), 9 (ДНК, выделенная из патологического материала от мухи (№ 2), зараженной вирусом НД КРС), 10 (ДНК штамма «Dermatitis nodulares/Atyray/KZ/2016»), соответствующие к исследуемому размеру ПЦР фрагмента положительного контроля тест-системы (347 п.о.). Отрицательные результаты были получены в пробах № 1, 2, 3, 4, 5, 8. Результаты представлены на рисунке 2.

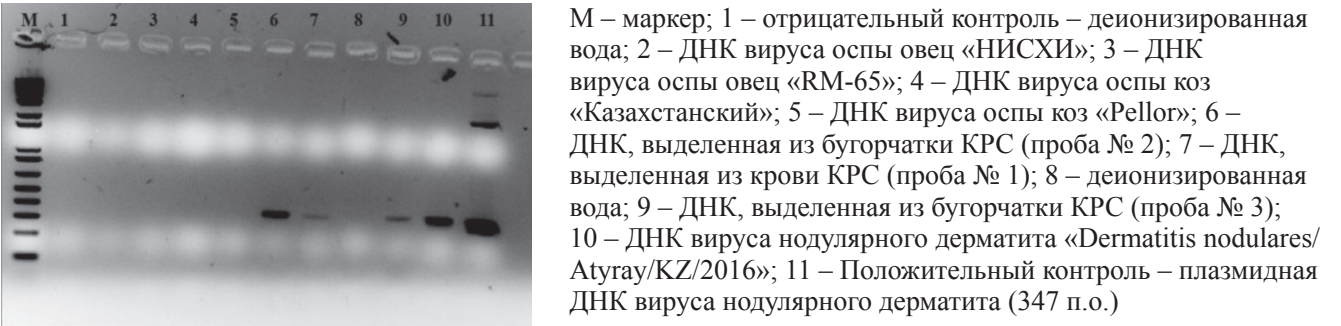
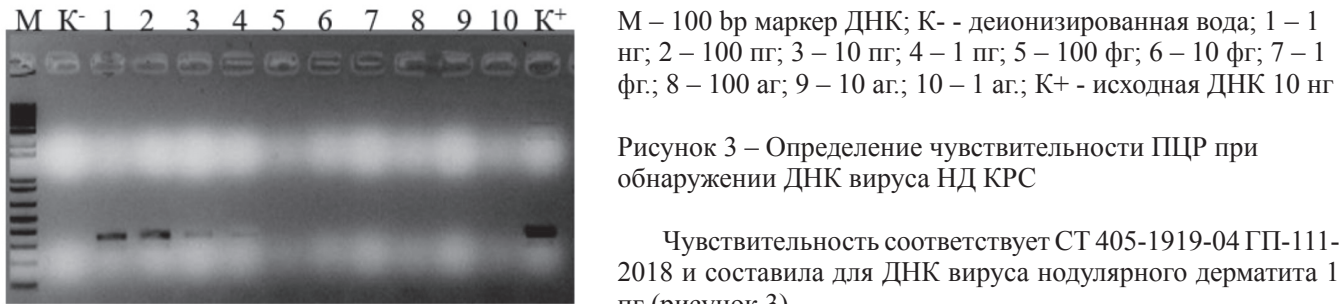


Рисунок 2 – Определение специфичности ПЦР тест-системы при обнаружении ДНК вируса НД КРС

Определение чувствительности тест-системы. Для определения чувствительности тест-системы были использованы образцы ДНК вируса нодулярного дерматита «Dermatitis nodulares/Atyray/KZ/2016» с десятикратной степенью разведения исходной ДНК вируса НД от 10 нг до 1 аг (таблица 3).

Таблица 3 – Концентрация ДНК вируса нодулярного дерматита «Dermatitis nodulares/Atyray/KZ/2016»		
№ опыта	Степень разведения	Концентрация (нг, пг, фг, аг)
K ⁺	Исходная ДНК	10 нг
1	10 ⁻¹	1нг
2	10 ⁻²	100 пг
3	10 ⁻³	10 пг
4	10 ⁻⁴	1 пг
5	10 ⁻⁵	100 фг
6	10 ⁻⁶	10 фг
7	10 ⁻⁷	1 фг
8	10 ⁻⁸	100 аг
9	10 ⁻⁹	10 аг
10	10 ⁻¹⁰	1 аг

Постановку ПЦР проводили согласно инструкции по изготовлению и контролю «Тест-система для лабораторной диагностики нодулярного дерматита КРС методом ПЦР». Результаты представлены на рисунке 3.



Определение стерильности тест-системы. Для проведения анализа было взято три флакона из набора № 1 (Лизирующий буфер, Промывочный буфер, ДНК-элюент).

Согласно ГОСТу 28085-2013 [5] для определения стерильности растворов тест-системы приготовили бульон Сабуро и тиогликолевую среду. Разливали в пробирки по 5-6 см³ вместимостью 15 см³, закрывали ватно-марлевыми пробками и стерилизовали в автоклаве при температуре (115 ± 1) °С в течение 30 минут.

Полученную суспензию каждого испытуемого образца перемешивали и высевали на жидкие питательные среды: три пробирки среды Сабуро, три пробирки тиогликолевой среды (в том числе по одной пробирке с каждой питательной средой для контроля). На жидкие питательные среды высевали по 1 мл суспензии. Пробирки с посевами (тиогликолевая среда) инкубировали в термостате при 37 °С, на среде Сабуро – при температуре (22 ± 0,2) °С, в течение 14 суток. Для контроля стерильности использовали по одной пробирке с каждой питательной средой без испытуемого образца.

По истечении 14 суток изымают из термостата пробирки с посевами (в том числе контрольные пробирки). При осмотре в проходящем и подающем дневном свете, не обнаружено роста аэробной, анаэробной и грибковой микрофлоры. А также на контрольных пробирках в течение инкубирования не обнаружен рост микроорганизмов (стерильные).

В результате проведенных испытаний по определению стерильности «Тест-система для лабораторной диагностики нодулярного дерматита крупного рогатого скота методом полимеразной цепной реакции» набора № 1 для выделения ДНК (Лизирующий буфер, Промывочный буфер, ДНК-элюент), установлено, что в тест-системе отсутствие бактериального и грибкового загрязнения соответствует стандарту организации - СТ 405-1919-04 ГП-111-2018.

При проверке комплектности набора реагентов путем сопоставления маркировочных данных каждой коробки, пробирки и флаконов с перечнем упаковочного листа и данными документа о качестве на указанные серии набора реагентов комплектность набора соответствовало стандарту СТ 405-1919-04 ГП-111-2018.

Компоненты набора № 1 для выделения ДНК: лизирующий буфер, промывочный буфер, ДНК-элюент – прозрачная бесцветная жидкость; сорбент - суспензия белого цвета, все компоненты без посторонней примеси, трещины и другие деформации упаковок не обнаружены. Компоненты набора № 2 для проведения ПЦР: 55 пробирок с прозрачной жидкостью, без посторонней примеси. В наборе № 2 не обнаружены трещины. Компоненты набора № 3 для электрофоретической детекции продуктов амплификации в агарозном геле – 50хТрис-ацетатный буфер (ТАЕ) – прозрачная бесцветная жидкость; агароза для электрофореза – порошок белого цвета; буфер для нанесения проб – жидкость синего цвета; бромид этидия – жидкость красного цвета, без посторонней примеси. В наборе № 3 не обнаружены трещины.

Флаконы и пробирки укупорены, все компоненты этикетированы и соответствовали нормативно-технической документации.

Тем самым, важно отметить, что комплектованный набор тест-системы пригоден для использования в исследовательских целях по выявлению вируса НД КРС (рисунок 4).

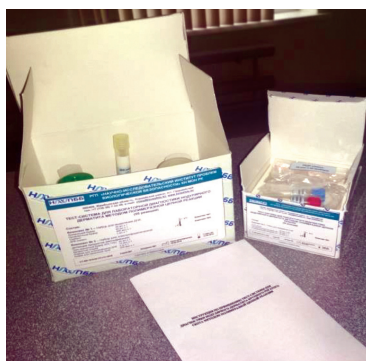


Рисунок 4 – Комплектность «Тест-система для лабораторной диагностики нодулярного дерматита крупного рогатого скота методом полимеразной цепной реакции»

По результатам проведенных испытаний по контролю опытно-производственной серии тест-системы для лабораторной диагностики нодулярного

дерматита КРС методом ПЦР были составлены следующие организационные документы: программа проведения комиссионных испытаний технологии производства и проверки опытно-производственной серии тест-системы; акт и протокол комиссионного испытания технологии производства и проверки опытно-производственной серии тест-системы; акт о вводе в эксплуатацию диагностической тест-системы для лабораторной диагностики нодулярного дерматита методом ПЦР; паспорт качества «Тест-система для лабораторной диагностики нодулярного дерматита КРС методом полимеразной цепной реакции».

Обсуждение результатов. На рубеже XX-XXI веков в мире произошел всплеск интереса к биопрепаратам. Отраслью, где использование различных биопрепаратов имеет рациональный смысл и большие перспективы, является сельское хозяйство. Применение биологических и биотехнологических достижений признано одним из эффективных путей развития биотехнологий и решения проблем, возникающих в процессе современного сельскохозяйственного производства. Производство диагностикумов – одно из главных направлений биотехнологической и сельскохозяйственной отраслей научной и коммерческой деятельности, нацеленной на профилактику инфекционных заболеваний.

По данным Министерства сельского хозяйства РК по состоянию на 03 февраля 2020 года в Государственном реестре ветеринарных препаратов и кормовых добавок насчитывается около 121 диагностических средств, из них 80 – зарубежного производства [6]. Эти данные указывают, что спрос Казахстана на импортные диагностические средства по-прежнему остается велик. Однако радует тот факт, что согласно сделанному анализу зарегистрированных ветеринарных препаратов и кормовых добавок в Республике Казахстан с 2017 по 2019 годы возрастает число диагностических средств по годам [6].

Результаты работ, полученные нами при разработке, а также при проверке опытно-производственной серии диагностической тест-системы, убедительно показывают, что наука Казахстана конкурентоспособна и может вносить достойный вклад в развитие экономики страны. Подтверждением этого может послужить заключение, данное Комиссией в рамках проведенных испытаний, что разработанная диагностическая тест-система на основе метода ПЦР считается надежной, чувствительной (до 1 пг ДНК вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота) и специфичной (100 %) для детекции вируса нодулярного дерматита в пробах от крупного рогатого скота, что не уступает диагностикумам зарубежных производителей.

Заключение. Таким образом, в целом оценивая результаты выполненных испытаний, можно отметить, что все задачи, вытекающие из поставленной цели, были выполнены. Проведен контроль, определены специфичность, чувствительность, стерильность тест-системы для диагностики нодулярного дерматита КРС. Экспресс-метод на основе ПЦР прошел успешную апробацию в условиях производства и зарекомендовал себя как достаточно точный, удобный и недорогой диагностический препарат.

Изготовлена опытно-производственная серия ПЦР тест-системы для диагностики нодулярного дерматита КРС. Проведено комиссионное испытание технологии производства и проверки опытно-производственной серии тест-системы в соответствии с требованиями Стандарта организации № 405-1919-04 ГП-111-2018. Утвержден Акт о вводе в эксплуатацию ПЦР тест-системы для диагностики нодулярного дерматита КРС.

Тест-система для лабораторной диагностики НД методом ПЦР, производства РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК является конкурентоспособной зарубежным аналогам по параметрам чувствительности, специфичности, а главное – доступной по цене, что немаловажно для сельского хозяйства Казахстана. Для реализации данной тест-системы необходимо усилить маркетинговую политику продвижения тест-системы как на отечественном, так и зарубежном рынке.

Тест-система методом полимеразной цепной реакции для выявления вируса нодулярного дерматита КРС доступна для широкого применения как в научно-исследовательских учреждениях, так и в ветеринарной сфере сельского хозяйства.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках программно-целевого финансирования О.0878 «Ветеринарная безопасность территории Республики Казахстан: эпизоотологический мониторинг, испытание, внедрение и коммерциализация средств специфической профилактики и диагностики особо опасных инфекционных заболеваний» (ИРН BR06249226) при финансировании Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан договор № 28 от 10 сентября 2018 года.

ЛИТЕРАТУРА

1. Capstick P.B., Coackley W. Protection of cattle against lumpy skin disease // Research in Veterinary Science. – 1961. – Vol. 2. – P. 362-375.
2. Черных О.Ю. Патоморфологические изменения при нодулярном дерматите крупного рогатого скота // Ветеринария Кубани. – 2017. – № 3. – С. 3-9.
3. Алмежанова М.Д., Шораева К.А., Шыныбекова Г.О., Червякова О.В., Султанкулова К.Т. Определение специфичности и чувствительности метода ПЦР для лабораторной диагностики нодулярного дерматита КРС // Вестник Государственного университета имени Шакарима города Семей. – 2019. – № 2 (86). – С. 387-391.
4. Almezhanova M.D., Tlepov A.A., Shorayeva K.A., Burashev Ye.D., Mukhami N.N., Sultankulova K.T. Design of primers for diagnosing lumpy skin disease of cattle by PCR // Al-farabi Kazakh National University Eurasian Journal of Ecology. – 2019. – 2 (60). – P. 84-91.
5. Средства лекарственные биологические для ветеринарного применения. Метод бактериологического контроля стерильности. ГОСТ 28085-2013 (<http://docs.cntd.ru/document/1200104835>)
6. Министерство сельского хозяйства Республики Казахстан Комитет Ветеринарного контроля и надзора Государственный реестр ветеринарных препаратов и кормовых добавок (по состоянию на 03 февраля 2020 года), г. Нур-Султан 2020 г. (https://moa.gov.kz/documents/1580885830449_ru.pdf).

УДК 579.222.3, 544.17, 577.112

А.У. Исабек, О.В. Червякова, С.О. Садикалиева, К.Т. Султанкулова
РГП «Научно-исследовательский институт проблем
биологической безопасности» КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Казахстан,
E-mail: unots@biosafety.kz

ЭКСПРЕССИЯ В *E. COLI* РЕКОМБИНАНТНОГО ЗА БЕЛКА ВИРУСА ЯЩУРА

Аннотация. Вирус ящура (ящур) является возбудителем заболевания, которое представляет собой одну из основных экономически важных проблем на сегодняшний день. Разработка и совершенствование средств и методов диагностики ящура напрямую связаны с проблемой обеспечения зоосанитарной и экономической безопасности страны. Геном вируса кодирует четыре структурных и восемь неструктурных белков. Обнаружение антител к неструктурным белкам вируса ящура является важным инструментом контроля за заболеванием. Этот метод позволяет дифференцировать вакцинированных животных от реконвалесцентов и выявлять бессимптомных вирусносителей среди вакцинированного поголовья.

Целью данной работы является клонирование и экспрессия в *E. coli* неструктурного 3А белка вируса ящура для дальнейшей разработки диагностико-дифференциальных тест-систем.

В результате проведенных исследований была подобрана и синтезирована пара праймеров для амплификации гена неструктурного 3А белка. Амплифицированный ген, кодирующий белок 3А клонирован в бактериальный экспрессирующий вектор pET26b(+). Отработаны оптимальные условия экспрессии целевого гена в клетках *E. coli* штамм ER2566. Полученный рекомбинантный белок будет использован для разработки профилактических препаратов против ящура животных.

Ключевые слова: вирус ящура, неструктурный белок, экспрессия, диагностика, дифференциация.

АУСЫЛ ВИРУСЫНЫҢ 3А РЕКОМБИНАНТТЫ АҚУЫЗЫН E.COLI-ДЕ ЭКСПРЕССИЯСЫ

Аннотация. Аусыл қазіргі кездегі экономикалық маңызды проблемалардың бірі болып табылады. Аусылды диагностикалаудың құралдары мен әдістерін әзірлеу және жетілдіру елдің экономикалық қауіпсіздігін қамтамасыз ету проблемасымен тікелей байланысты. Вирустың геномы төрт құрылымдық және сегіз құрылымсыз ақуыздарды кодтайды. Аусыл вирусының құрылымсыз ақуыздарына антиденелерді анықтау ауруды басқарудың маңызды құралы болып табылады. Бұл әдіс вакцина егілген малды ауру малдан ажыратуға және популяциялар арасында вирусты асимптоматикалық тасымалдаушыларды анықтауға мүмкіндік береді.

Бұл жұмыстың мақсаты диагностикалық дифференциалды тест жүйелерін өңдеу үшін аусыл вирусының құрылымсыз 3А ақуызын клондау және *E.coli* жасушаларында экспрессиялау.

Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде құрылымсыз 3А ақуызының генін амплификациялау үшін праймерлер таңдалды және синтезделді. 3А ақуызын кодтайтын ген бактериалды pET26b(+) векторына клондалды. Мақсатты генді *E.coli* жасушаларында ER2566 штаммында экспрессиялау үшін оңтайлы жағдайлар таңдалды. Нәтижесінде алынған рекомбинантты ақуыз малдардың аусылына қарсы профилактикалық препараттарды жасау үшін қолданылады.

Түйін сөздер: аусыл ауруының вирусы, құрылымсыз ақуыз, экспрессия, диагностика, саралау.

A.U. Isabek, O.V. Chervyakova, S.O. Sadikaliyeva, K.T. Sultankulova
RGE "Research Institute for Biological Safety Problems" CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan

EXPRESSION IN E.COLI OF RECOMBINANT 3A PROTEIN OF FOOT AND MOUTH DISEASE VIRUS

Abstract. The foot and mouth disease virus (foot and mouth disease) is the causative agent of the disease, which is one of the main economically important problems today. The development and improvement of tools and methods for the diagnosis of foot and mouth disease are directly related to the problem of ensuring zoosanitary and economic security of the country. The genome of the virus encodes four structural and eight non-structural proteins. Detection of antibodies to non-structural proteins of the FMD virus is an important disease control tool. This method allows us to differentiate vaccinated animals from convalescents and identify asymptomatic virus carriers among the vaccinated population.

The aim of this work is the cloning and expression of non-structural 3A protein of foot and mouth disease virus in *E. coli* for the further development of diagnostic differential test systems.

As a result of the studies, a pair of primers was selected and synthesized for amplification of the non-structural 3A protein gene. The amplified gene encoding the 3A protein is cloned into the bacterial expression vector pET26b (+). Optimal conditions for the expression of the target gene in *E. coli* cells, strain ER2566, were tested. The resulting recombinant protein will be used to develop prophylactic drugs against animal foot and mouth disease.

Keywords: foot and mouth disease virus, non-structural protein, expression, diagnosis, differentiation.

Введение. Ящур – высококонтагиозное вирусное заболевание парнокопытных, способное вызывать эпизоотии и наносить большой экономический ущерб. Таксономически, вирус ящура (FMDV) относится к семейству *Picornaviridae* [1] роду *Aphthovirus*. Ящур обладает высоким потенциалом генетической и антигенной вариации, которая привела к классификации семи серотипов вируса ящура (A, O, C, Asia1, SAT 1, SAT 2 и SAT3) [2]. Рибонуклеиновая кислота (РНК) вируса содержит около 8500 нуклеотидов, заключенных в белок капсид. Транслируемая область генома вируса ящура кодирует единственный полипротеин, который расщепляется вирусными протеазами с образованием различных вирусных белков. Область P1-2A кодирует структурные белки VP1, VP2, VP3 и VP4. Пептид 2A катализирует отщепление P1-2A от 2C. Области L, P2 и P3 кодируют 8 различных неструктурных белков [3-5]. В Великобритании в 2002 году произошла крупная разрушительная эпизоотия, которая быстро распространилась среди сельскохозяйственных животных, вызвав тысячи вспышек, главным образом у овец и крупного рогатого скота. О подобных вспышках также сообщалось в Северной Ирландии, Франции и Нидерландах и около четырех миллионов животных были убиты, и оценки из общих потерь были около 30000 миллионов евро. Важные повторные случаи эпизоотии ящура также произошли в Тайване в 1997 году, в Южной Америке в 2001 году [6-8]. Высокая способность ящура к распространению, заставляет исследователей все чаще проводить профилактические мероприятия. Контроль ящура в эндемичных районах осуществляется посредством регулярной вакцинации. В странах, свободных от ящура, борьба с болезнями осуществляется с помощью политики невакцинирования и ликвидации, подразумевающей забой зараженных и контактирующих животных, вместе с ограничениями на передвижение животных, связанными с ввозом животных и пищевых продуктов из пострадавших областей. Для стран, которые проводят регулярную вакцинацию скота наличие диагностических средств, позволяющих выявить среди вакцинированного поголовья переболевших животных и бессимптомно носителей инфекций чрезвычайно актуально.

Вакцинированные животные, как и переболевшие содержать в крови антитела к структурным белкам вируса

ящура. Отличить вирусоносителей от вакцинированных животных можно по наличию в крови неструктурных белков, которые отсутствуют у последних. Таким образом, получение неструктурных белков вируса ящура является актуальной задачей.

Целью данной работы является клонирование и экспрессия в *E.coli* неструктурного 3А белка вируса ящура для дальнейшей разработки диагностика-дифференциальных тест-систем.

Методика исследований. Конструирование праймеров. Для поиска последовательности гена белка 3А, к которому необходимо подобрать праймеры, использовали биоинформационную базу данных NCBI. Для конструирования праймеров и оптимизации условий проведения полимеразной цепной реакции (ПЦР) использовали программу «Vector NTI 10».

Конструированные праймеры синтезировали на синтезаторе олигонуклеотидов Synthesizer H-16 (производство Германия) согласно инструкции, прилагаемой к прибору. Элюирование синтезированных праймеров с колонок проводили концентрированным раствором аммиака. Затем праймеры высушивали на ротационном испарителе и очищали спиртовым переосаждением. В реакциях амплификации для наработки ПЦР продукта использовали 20 пМ концентрации праймеров.

Выделение РНК. Вирусную РНК выделяли набором «QIAprep Viral RNA kit» фирмы Qiagen. **Амплификация гена.** Амплификацию проводили на амплификаторе фирмы Applied Biosystem GenAmp 9700. Для постановки ПЦР использовали набор «SuperScript™ III One-Step RT-PCR System with Platinum Taq High Fidelity DNA Polymerase» (Invitrogen). Амплифицированные ПЦР продукты анализировали в 1,5 % агарозном геле с дальнейшей детекцией на трансиллюминаторе Gel Chemi Doc («Bio-Rad» США). Полученные результаты были визуализированы и зарегистрированы с помощью программы «Quantity One».

Конструирование экспрессирующего вектора и создание штамма-продуцента *E. coli*. Нуклеотидную последовательность, кодирующую рекомбинантный белок 3А, клонировали в экспрессирующий вектор pET26b(+) (Novagen) по сайтам NdeI – XhoI. Корректность полученной конструкции подтверждали секвенированием. Полученный рекомбинантный вектор pET26/FMD-3А трансформировали в компетентные клетки *E.coli* штамм ER2566 (NEB).

Экспрессия и очистка рекомбинантного белка. Клетки *E.coli*, штамм ER2566, трансформированные вектором pET26/FMD-3А выращивали в среде LB-кан50 (содержание канамицина 50 мкг/мл) при 37 °С на шейкере (250 об/мин) до OD600=0,6-0,8 затем добавлением изопропил-β-D-1-тиогалактопиранозид до конечной концентрации 1 мМ индуцировали экспрессию целевого гена. Электрофоретический анализ полипептидов проводили в 12 % ДСН-ПААГ в денатурирующих редуцирующих условиях по Laemmli [9]. Для визуализации белков использовали окрашивание Coomassie G-250. По интенсивности окрашивания белковых полос определяли чистоту целевого белка.

Полученные результаты исследований. Для получения нуклеотидной последовательности гена белка 3А необходимо правильно подобрать праймеры, которые содержали бы на концах последовательность ферментов рестрикции по которой в дальнейшем будет осуществляться вырезание гена и его лигирование с плазмидой. Характеристика праймеров представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Последовательность синтезированных праймеров

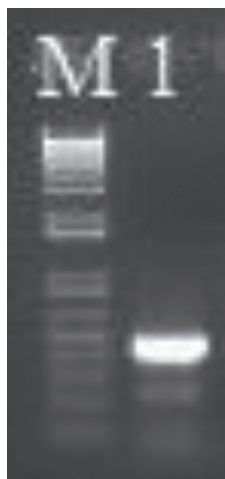
Название праймера	Последовательность	Рестриктаза	Размер продукта
3А_F	5'-CCCATATGATTCCTTCCCAAAAGTC-3'	NdeI	430 п.о.
3А_R	5'-CTCTCGAGTTCAGCTTGTGGTTG-3';	XhoI	

Таким образом, нами были выбраны рестриктазы NdeI для прямого праймера и XhoI для обратного праймера. Для оптимизации условий ПЦР нами поставлен ряд экспериментов, в ходе которых установили оптимальный вариант проведения ПЦР с подобранным праймером. В ходе экспериментов были подобраны температура отжига праймеров и время денатурации. Температурно-временной режим амплификации представлен в таблице 2.

Таблица 2 – Температурно-временной режим ПЦР

Стадии ПЦР	Температура и время	Количество циклов
Синтез кДНК	45 °С – 60 мин	30 циклов
Денатурация	94 °С – 2 мин	
Денатурация	94 °С – 20 сек	
Отжиг	45 °С – 30 сек	
Элонгация	68 °С - 3 мин	
Финальная элонгация	68 °С – 7 мин	
Удерживание температуры	4 °С	

Согласно таблице 2, начальной стадией ПЦР в данном случае является синтез кДНК так как в реакции в качестве матрицы использовали ранее выделенную РНК (таблица 1).



М – маркер (1 kb, Invitrogen); 1 – амплифицированный продукт

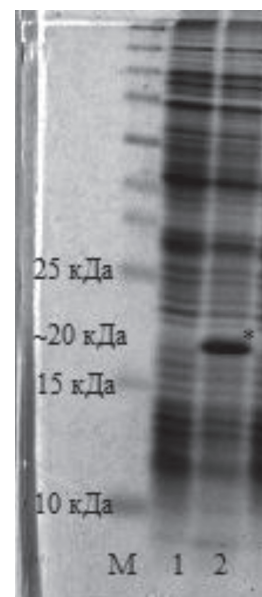
Рисунок 1 – Электрофореграмма ПЦР фрагмента гена 3А

На рисунке 1 представлен электрофоретический профиль результатов ПЦР, согласно которому размеры полученных ПЦР-продуктов соответствуют своим ранее теоритически рассчитанным размерам (таблица 1).

Полученная в результате клонирования плазида была трансформирована в клетки *E. coli* штамм ER2566. Индукция экспрессии целевого гена ИПТГ приводила к наработке белкового продукта размером около 20 кДа, что соответствовало расчетной величине молекулярного веса рекомбинантного белка (рисунок 2).

М – маркер молекулярного веса белков, 1 – лизат клеток до индукции экспрессии; 2 – лизат клеток после индукции экспрессии, рекомбинантный белок 3А обозначен звездочкой

Рисунок 2 – Электрофоретический анализ полипептидов клеточных лизатов *E. coli*



Обсуждение полученных данных. Таким образом, в результате проведенной нами работы были синтезированы специфические праймеры для амплификации гена белка 3А и оптимизированы условия для проведения ПЦР. Данные праймеры характеризуются довольно высокой чувствительностью, специфичностью и воспроизводимостью результатов.

Заключение. Создана генетическая конструкция для экспрессии белка 3А в клетках *E. coli*. Отработаны оптимальные условия экспрессии рекомбинантного белка. Полученные данные будут в дальнейшем использоваться при очистке неструктурного рекомбинантного белка 3А.

ЛИТЕРАТУРА

1. Fry E.E., Stuart D.I., Rowlands D.J. The structure of foot-and-mouth disease virus // *Microbiology and Immunology* – 2005. – Vol. 288. – P. 71-101.
2. Pereira H.G. Foot-and-mouth disease // *Virus Disease of Food Animals*, Academic Press Inc., London – 1981. – P. 333-363.
3. Beck E., Forss S., Strebel K., Cattaneo R., Feil G. Structure of the FMDV translation initiation site and of the structural proteins // *Nucl. Acids Res.* – 1983. – Vol. 11. – P. 7873-7885.
4. Belsham G.J. Distinctive features of foot-and-mouth disease virus, a member of the picornavirus family; aspects of virus protein synthesis, protein processing and structure // *Prog. Biophys. Molec. Biol.* – 1993. – Vol. 60. – P. 241-260.
5. Domingo E., Mateu M.G., Martínez M.A., Dopazo J., Moya A., Sobrino F. Genetic variability and antigenic diversity of foot-and mouth disease virus // *Virus Variation and Epidemiology, Applied Virology Research.* – 1990. – Vol. 2. – P. 233-266.
6. Knowles N.J., Samuel A.R., Davies P.R., Kitching R.P., Donaldson A.I. Outbreak of foot-and-mouth disease virus serotype O in the UK caused by a pandemic strain // *Vet. Rec.* – 2001. – Vol. 148. – P. 258-259.
7. Samuel A.R., Knowles N.J. Foot-and-mouth disease virus: cause of the recent crisis for the UK livestock industry // *Trends Genet.* – 2001. – Vol. 17. – P. 5115-5123.
8. Sobrino F., Domingo E. Foot-and-mouth disease in Europe // *EMBO Rep.* – 2001. – Vol. 2. – P. 459-461.
9. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4/U.K. Laemmli // *Nature.* – 1970. – Vol. 227. – P. 680-685.

УДК 633.16: 632.26: 632.938.1

А.С. Рсалиев, Ж.У. Пахратдинова, Г.Ш. Ыскакова

РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности»

КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Казахстан

E-mail: unots@biosafety.kz

МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ СОРТООБРАЗЦОВ ЯЧМЕНЯ ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ДОНОРОВ УСТОЙЧИВОСТИ К СЕТЧАТОЙ ПЯТНИСТОСТИ И МУЧНИСТОЙ РОСЕ

Аннотация. С помощью молекулярно-генетических подходов была охарактеризована генетическая основа устойчивости 42 сортов и линий ячменя к мучнистой росе и сетчатой пятнистости. Молекулярный скрининг показал наличие у 6 образцов ячменя отечественной и зарубежной селекции гена устойчивости *Mlg*, у 5 образцов – *Mlo-5* и у 11 образцов – *Rpt5*, соответственно. У остальных высокоустойчивых сортов и линий ячменя при постановке ПЦР маркерные компоненты изученных генов отсутствовали. Проведенные исследования позволили выбрать ценный исходный материал для селекции ярового ячменя с генетической устойчивостью к мучнистой росе и сетчатой пятнистости.

Ключевые слова: скрининг, сортобразец, ячмень, сетчатая пятнистость, мучнистая роса.

А.С. Рсалиев, Ж.У. Пахратдинова, Г.Ш. Ыскакова

ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының

ғылыми-зерттеу институты» РМҚ,

Гвардейский қтп., Қазақстан

МОЛЕКУЛАЛЫҚ-ГЕНЕТИКАЛЫҚ СКРИНИНГ КӨРСЕТКІШТЕРІНДЕ, АРПАНЫҢ ТЕҢБІЛДАҚ ЖӘНЕ АҚ ҰНТАҚҚА ТӨЗІМДІЛІГІН АНЫҚТАУ

Аннотация. Молекулалық-генетикалық тәсілдердің көмегі арқылы арпаның 42 сорты мен линияларының ақ ұнтақ және теңбіл дақ ауруларына төзімділігінің генетикалық негізі сипатталды. Молекулалық скрининг жүргізу отандық және шет елдік 6 арпа үлгісінде *Mlg* төзімділік гені, 5 үлгіде – *Mlo-5* және 11 үлгіде – *Rpt5* гендері бар екенін көрсетті. ПТР жүргізу барысында аталған гендердің маркерлік компоненттері ауруларға төзімді басқа арпа сорттары мен линияларында анықталмады. Жүргізілген зерттеу жұмыстары ақ ұнтақ және теңбіл дақ ауруларымен генетикалық күресуге бағытталған жаздық арпа селекциясы үшін аса құнды алғашқы материал жинақтауға мүмкіндік берді.

Түйін сөздер: скрининг, көсеткіш, арпа, теңбіл дақ, ақ ұнтақ.

A.S. Rsaliev, Zh.U. Pahratdinova, G.Sh. Yskakova

RGE “Research Institute for Biological Safety Problems” CS MES RK,

Gvardeiskiy, Kazakhstan

MOLECULAR GENETIC SCREENING OF BARLEY VARIETIES FOR THE DETECTION OF RESISTANCE DONORS TO NET BLOTCH AND POWDERY MILDEW

Abstract. The genetic basis of resistance of 42 barley varieties and lines to powdery mildew and net blotch was characterized using molecular genetic approaches. Molecular screening showed the presence of the *Mlg* resistance gene in 6 barley samples of domestic and foreign breeding, 5 samples were *Mlo-5* and 11 samples were *Rpt5*, respectively. During PCR production, marker components of these genes were absent in other highly resistant barley varieties and lines. The conducted studies have allowed us to create valuable source material for the breeding of spring barley with genetic resistance to powdery mildew and net blotch.

Keywords: screening, variety, barley, net blotch, powdery mildew.

Введение. Ячмень (*Hordeum vulgare* L.) – универсальная культура по распространению и использованию в сельскохозяйственном производстве. Казахстан является основным производителем зерна кормового и пивоваренного ячменя среди стран Центральной Азии и Закавказья [1, 2]. Однако эффективность возделывания ячменя в отдельные годы снижается из-за поражения его болезнями грибного происхождения, которые поражают культуру в течение всей вегетации от всходов до уборки и снижают урожайность на 20-25 %, а в годы эпифитотий – на 40-50 % и более [3]. Среди известных грибных болезней ячменя наиболее опасными и распространенными являются сетчатая пятнистость и мучнистая роса [4, 5].

Наиболее практичным и экономичным подходом в борьбе с сетчатой пятнистости и мучнистой росой ячменя является использование сортов, имеющих гены устойчивости к болезням. В настоящее время известны генетические детерминанты устойчивости и их хромосомная локализация к отмеченным заболеваниям ячменя. При этом имеются 28 генов устойчивости к мучнистой росе, которые представлены более чем 100 аллелями. Часть из них используется в селекции: *Mlg*, *Ml*, *Mia*, множественные аллели устойчивости локуса *Mlo* [6]. В отдельных странах, в т.ч. в России выявлены сорта ячменя с генами устойчивости к мучнистой росе [6]. Также интенсивно ведется работа по созданию сортов, устойчивых к болезни, в странах Западной Европы и Северной Америки, где это заболевание наносит большой вред [7].

К настоящему времени в Казахстане не проводились научные работы по выявлению доноров устойчивости ячменя к сетчатой пятнистости и мучнистой росе. Следует также признать, что в Казахстане ДНК-технологии при селекции ячменя на устойчивость к болезням не получили развития, в результате которого отсутствуют информация о генетике признака устойчивости сортообразцов ячменя к сетчатой пятнистости и мучнистой росе.

Выявление доноров устойчивости к болезням создает предпосылки для выведения и внедрения в производство новых болезнеустойчивых сортов ячменя, которые являются основой интенсификации сельского хозяйства. В связи с этим целью нашей работы было выделить сорта и линии ячменя, которые могли бы служить донорами эффективных генов устойчивости к мучнистой росе и сетчатой пятнистости.

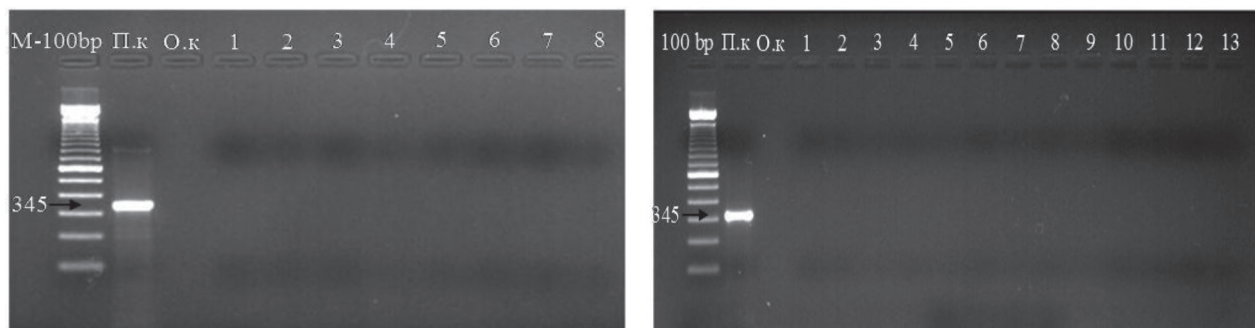
Материалы и методы. Материалом для исследований были 16 образцов ячменя казахстанской селекции и 26 линий зарубежной селекции, отобранные как устойчивые к болезням в условиях Казахстана [8, 9]. В общей сложности было тестировано 42 сорта и линий ячменя. В их геноме с помощью ДНК-маркеров на основе ПЦР определяли присутствие следующих генов устойчивости к болезням – *Mlg*, *Mlo-5* (гены устойчивости к мучнистой росе) и *Rpt5* (ген устойчивости к сетчатой пятнистости). Для выявления ДНК-маркеров, тесно сцепленных с указанными генами устойчивости к мучнистой росе и сетчатой пятнистости, проанализированы международная база данных генов (NCBI), базы данных генов зерновых культур (GrainGenesMarker) и мировой литературы [10-12].

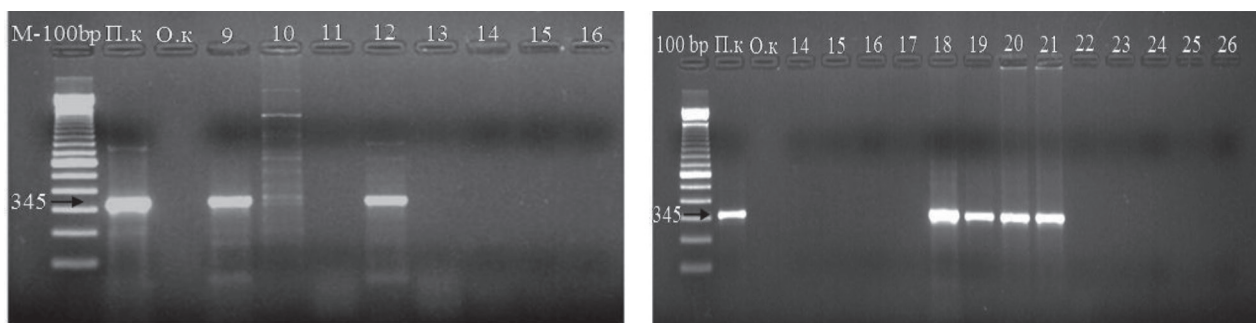
Выделение ДНК проводили с использованием набора «PureLink™ Plant Total DNA Purification Kit» фирмы Invitrogen (США), согласно протоколу производителя.

Для постановки ПЦР использованы геномная ДНК ячменя, Taq DNA polymerase (5 U/μl), 10 mM dNTP-Mix, 10x ПЦР буфер (с MgCl₂), праймеры (10 pmol) и бидистиллированная вода. Реакционный состав и температурно-временные режимы подбирали согласно аннотации, прилагаемой к ферменту и характеристикам праймеров. В качестве положительного контроля использовали источники генов устойчивости к болезням, а отрицательным контролем служила деионизированная вода. Нарботку специфических участков ДНК проводили в термоциклере «Termocycler-Pro», Германия.

Электрофоретический анализ продуктов амплификации ДНК. Выявление продукта ПЦР проводилось при помощи электрофореза в 1,5 % агарозном геле (iNtRON, Biotechnology Grade). Разделение амплифицированных фрагментов выполняли в электрофорезной камере (Scie-Plas, Великобритания) в TBE буфере с добавлением бромистого этидия в течение 1,5 часов при напряжении электрического поля 80 V. Анализ результатов электрофореза проводились с использованием гель-документирующей системы «MiniBIS Pro», Израиль с программным обеспечением Gel Capture и Gel QuantExpress. Определение длин амплифицированных фрагментов проводилось по сравнению с ДНК – маркерами «100bp DNA Ladder» (Invitrogen Corporation).

Результаты исследований. В результате анализа литературы выявлено, что в районе локализации гена *Mlg* расположено несколько ДНК-маркеров (bAL57, CDO541, MWG032, MWG2036, b4–104/1), среди которых наиболее оптимальным для выявления данного гена у *H. vulgare* является маркер MWG032 [10]. В настоящее время данный маркер успешно используется в молекулярной селекции ячменя. Маркер MWG032 надежно обнаруживал наличие аллели устойчивости *Mlg* в образцах при скрининге 30 европейских сортов ячменя [10]. В нашем случае продукт амплификации размером 345 п.н., полученный с использованием маркера MWG032 и указывающий на наличие гена *Mlg*, наблюдали только у 2 отечественных линий ячменя 79-245-97 и 36-10-15 (рисунок 1А). Молекулярный скрининг зарубежных линий с использованием данного маркера показал наличие гена *Mlg* у 4 образцов ячменя 11HBSN-4/62, 11HBSN-4/85, 11HBSN-4/89 и 11HBSN-4/96, которые являются голозерными линиями (рисунок 1Б).



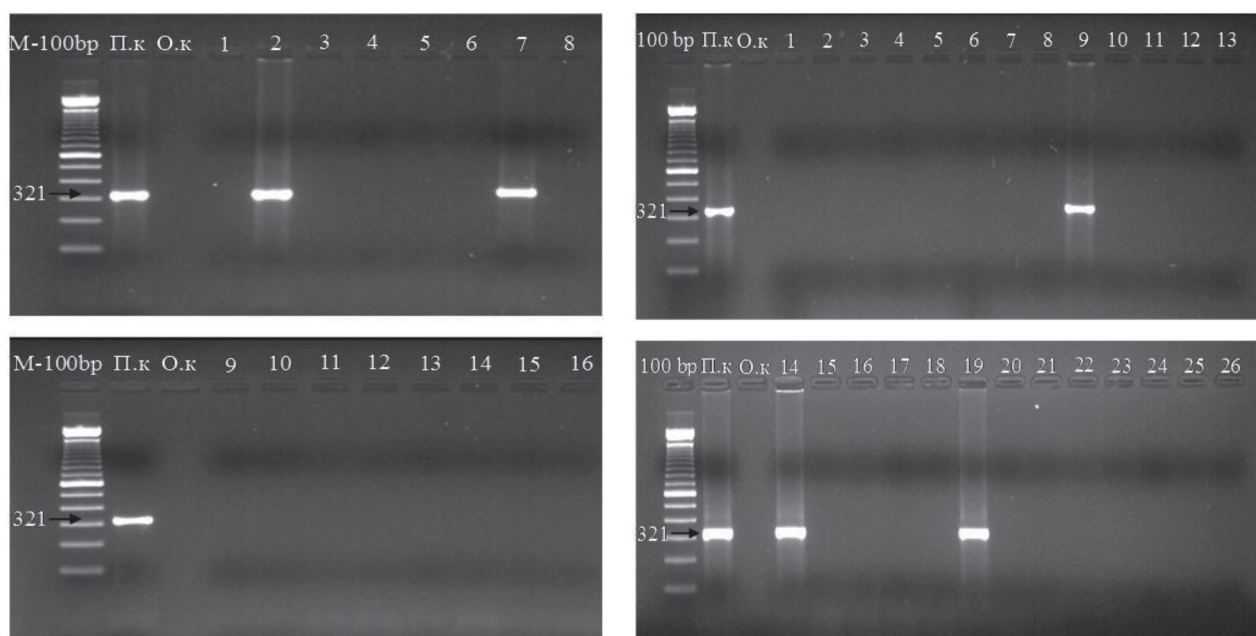


М – маркер, П.к. – положительный контроль, О.к. – отрицательный контроль, 18-11HBSN-4/62, 19-11HBSN-4/85, 20-11HBSN-4/89, 21-11HBSN-4/96

М – маркер, П.к. – положительный контроль, О.к. – отрицательный контроль, 9 – 79-245-97, 12 – 36-10-15

Рисунок 1 – Молекулярный скрининг казахстанских сортов образцов (А) и зарубежных линий (Б) ячменя для идентификации носителей гена устойчивости *Mlg*

К настоящему времени ген *Mlo* клонирован, охарактеризованы множественные его аллели устойчивости и доступны их молекулярные маркеры для ДНК анализа сортов ячменя. Для идентификации носителей аллеля устойчивости *Mlo-5* нами использован специфичный ДНК-маркер, разработанный на основе технологии CAPS [11]. С использованием маркера Y14573, тесно сцепленный с геном *Mlo-5* маркерный компонент размером 321 п.н. выявлялся у сортов ДН-26 и Туран-2 (рисунок 2А). При использовании данного маркера аллель устойчивости *Mlo-5* обнаружен также у 3 зарубежных линий 29IBON-2/178, 11HBSN-4/22 и 11HBSN-4/85 (Рисунок 2Б). Полученные результаты молекулярного скрининга согласуются с фитопатологическими данными.

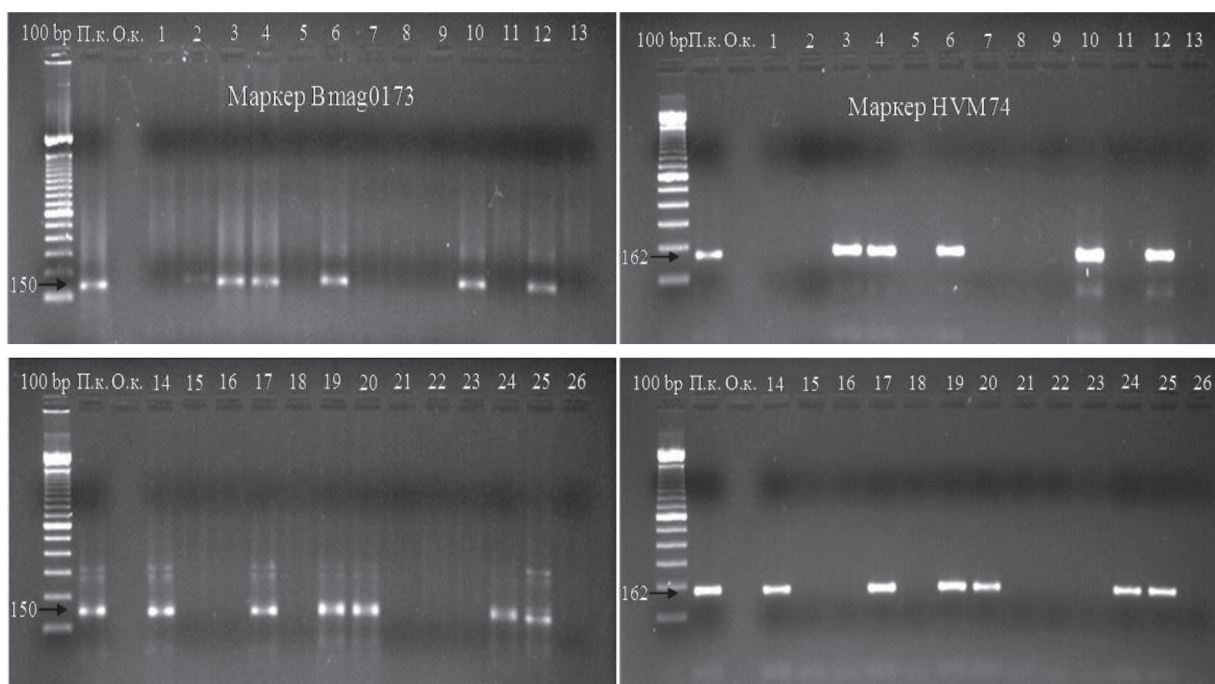


М – маркер, П.к. – положительный контроль, О.к. – отрицательный контроль, 2 – ДН-26, 7 – Туран-2

М – маркер, П.к. – положительный контроль, О.к. – отрицательный контроль, 9-29IBON-2/178, 14-11HBSN-4/22 19-11HBSN-4/85

Рисунок 2 – Молекулярный скрининг казахстанских сортов образцов (А) и зарубежных линий (Б) ячменя для идентификации носителей гена устойчивости *Mlo-5*

Далее были проведены исследования с целью определения носителей высокоэффективного гена устойчивости к сетчатой пятнистости *Rpt5*. В экспериментах использовали пары праймеров к SSR-локусам маркеров Bmag0173 и HVM74, молекулярный вес продукта амплификации которых составляет 150 и 162 п.н. [12]. Для ПЦР анализа включены только зарубежные линии, которые обладают высокой устойчивостью к болезни. Результаты анализа продуктов ПЦР по обоим маркерам совпали. Оба маркера идентифицировали ген *Rpt5* у контрольной линии C19825, а также у анализируемых линий 29IBON-2-89, 29IBON-2/102, 29IBON-2/140, 29IBON-2/181, 10EMBNS-3/28, 11HBSN-4/22, 11HBSN-4/61, 11HBSN-4/85, 11HBSN-4/89, 11HBSN-4/146 и 11HBSN-4/170, что свидетельствует о наличии у них данного гена (рисунок 3).



М – маркер, П.к. – положительный контроль (линия CI9825), О.к. – отрицательный контроль, 1-24IBYT-1/44, 2-29IBON-2/54, 3-29IBON-2-89, 4-29IBON-2/102, 5-29IBON-2/107, 6-29IBON-2/140, 7-29IBON-2/165, 8-29IBON-2/171, 9-29IBON-2/178, 10-29IBON-2/181, 11-10EMBSN-3/21, 12-10EMBSN-3/28, 13-11HBSN-4/18, 14-11HBSN-4/22, 15-11HBSN-4/33, 16-11HBSN-4/54, 17-11HBSN-4/61, 18-11HBSN-4/62, 19-11HBSN-4/85, 20-11HBSN-4/89, 21-11HBSN-4/96, 22-11HBSN-4/101, 23-11HBSN-4/130, 24-11HBSN-4/146, 25-11HBSN-4/170, 26-11HBSN-4/191

Рисунок 3 – Молекулярный скрининг зарубежных линий ячменя для идентификации носителей гена устойчивости *Rpt5*

Таким образом, молекулярный скрининг показал наличие у 6 образцов ячменя отечественной и зарубежной селекции гена устойчивости *Mlg*, у 5 образцов – *Mlo-5* и у 11 образцов – *Rpt5*, соответственно. У остальных высокоустойчивых сортов и линий ячменя при постановке ПЦР маркерные компоненты этих генов отсутствовали.

Обсуждение полученных данных. В 2015-2017 годы на базе Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности с использованием ДНК-маркеров выявлены доноры устойчивости ячменя к мучнистой росе и сетчатой пятнистости, которые являются носителями определенных генов устойчивости. При этом молекулярный скрининг показал наличие у 6 образцов ячменя отечественной и зарубежной селекции гена устойчивости *Mlg*, у 5 образцов – *Mlo-5* и у 11 образцов – *Rpt5*, соответственно. На предыдущих этапах исследований было показано, что отмеченные образцы ячменя и контрольные линии с генами *Mlg*, *Mlo-5* и *Rpt5*, имели высокую степень ювенильной устойчивости, а в полевых условиях на фоне искусственного заражения у них выявлен высокий уровень возрастной устойчивости к болезням [8, 9, 13, 14]. Необходимо отметить, ген *Mlo* широко используется в современной селекции ячменя, особенно аллель *Mlo-5* обуславливает длительную устойчивость к мучнистой росе во всем мире [11]. Низкий тип реакции на образцах ячменя с геном *Mlg* связан с быстрым восстановлением и активацией клеточной стенки растения-хозяина [10].

Нами изученные гены устойчивости изначально идентифицированы у образцов из Эфиопии [10, 15, 16], т.е. многие эфиопские сорта ячменя имеют гены устойчивости к указанным болезням. Кроме того, половина современных яровых европейских сортов ячменя несет аллели генов устойчивости к мучнистой росе [7, 11, 17]. В нашем случае носители генов устойчивости к болезням обнаружены в основном среди селекционных материалов Карабалыкской сельскохозяйственной опытной станции. А в этой организации наиболее продуктивным методом показала себя сложная ступенчатая гибридизация. В селекционном процессе кроме казахстанских и российских сортов часто используются образцы ячменя из Эфиопии, Турции, Индии, Австрии, Франции и других европейских стран [18]. На основании этих результатов можно предполагать, что наличие генов устойчивости в казахстанских образцах ячменя связано с тем, что они были получены в результате ступенчатой гибридизации с привлечением наиболее устойчивых зарубежных форм ячменя.

Заключение. Зарубежные линии с генами устойчивости к болезням были выявлены в международных питомниках ячменя, сформированных в ИКАРДА. Одним из приоритетных направлений исследований ИКАРДА является изучение динамики развития популяций патогенов, оценка и отбор образцов ячменя по устойчивости к значимым болезням и определение генов устойчивости в гермоплазме ячменя. Для решения данных вопросов и проведения инновационных исследований центр рассылает ценные формы ячменя в 6 ключевых стран мира (Эфиопия, Казахстан, Индия, Иран, Марокко и Турция) [19], которые мы использовали в своих экспериментах. В связи с этим нами полученные результаты имеют мировое значение и способствуют развитию селекции ячменя на устойчивость к болезням.

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Республики Казахстан в рамках проекта грантового финансирования на 2015-2017 годы (1233/ГФ4).

ЛИТЕРАТУРА

1. Анализ отрасли растениеводства РК // Аналитическая служба – рейтингового агентства РФЦА (главный аналитик: Тлеппаев А.М.) – Алматы, 2013. – 57 с.
2. Каталог сортов зернофуражных культур (ячмень, овес) селекции ТОО «Казахского НИИ земледелия и растениеводства». – Алматы, 2011. – 21 с.
3. Койшибаев М. Болезни зерновых культур. – Алматы: Бастау, 2002. – 368 с.
4. Тырышкин Л. Г., Гашимов М. Э., Петрова Н. С., Звейнек И. А., Ковалева О. Н., Чернов В. Е. Эффективная устойчивость ячменя к листовым грибным болезням // Труды по прикладной ботанике, генетике и селекции. СПб.: ВИР, 2013. – Т. 171. – С. 57-60.
5. Афанасенко О.С., Михайлова Л.А., Мироненко Н.В., Анисимова А.В., Коваленко Н.М., Баранова О.А., Новожилов К.В. Новые и потенциально опасные болезни зерновых культур в России // Вестник защиты растений. – 2011. – № 4. – С. 3-18.
6. Тырышкин Л.Г. Генетическое разнообразие пшеницы и ячменя по эффективной устойчивости к болезням и возможности его расширения: дис. ... док. биологических наук: 03.00.15, 06.01.11. – Санкт-Петербург, 2007. – 258 с.
7. Czembor J.H., Czembor H.J. Powdery mildew resistance in cultivars of winter barley from Polish Register // Plant Breeding and Seed Science. - 2001. – Vol. 45. – P. 19-28.
8. Рсалиев А.С., Чудинов В.А., Амирханова Н.Т. Устойчивость селекционных материалов ячменя Карабалыкской сельскохозяйственной опытной станции к сетчатой пятнистости и мучнистой росе // Доклады НАН РК. – 2016. – №4. – С.79-87.
9. Rsaliyev A.S., Pakhratdinova Zh.U. Screening of barley genotype for detection of resistance donors to barley powdery mildew. Proceedings of the 4th International conference Plant genetics, genomics, bioinformatics and biotechnology. May 29-02 June 2017. – 2017. – 62 p.
10. Kurth J., Kolsch R., Simons V., Schulze-Lefert P. A high-resolution genetic map and a diagnostic RFLP marker for the *Mlg* resistance locus to powdery mildew in barley // Theor Appl Genet. – 2001. – Vol. 102. – P.53-60.
11. Büschges R., Hollricher K., Panstruga R., Simons G., Wolter M., Frijters A., Van Daelen R., Van der Lee T., Diergaarde P., Groenendijk J., Topsch S., Vos P., Salamini F., Schulze-Lefert P. The barley *mlo* gene: A novel control element of plant pathogen resistance // Cell. – 1997. – Vol. 88. – P. 695-705.
12. Gupta S., Li C.D., Loughman R., Cakir M., Platz G., Westcott S., Brdley J., Broughton S., Lance R. Quantitative trait loci and epistatic interactions in barley conferring resistance to net type net blotch *Pyrenophora teres f. teres* isolates // Plant Breed. – 2010. – Vol. 4. – P. 268-362.
13. Rsaliyev A., Pakhratdinova Z., Rsaliyev S. Characterizing the pathotype structure of barley powdery mildew and effectiveness of resistance genes to this pathogen in Kazakhstan // BMC Plant Biology. – 2017. – Vol.17. – P.39-49.
14. Рсалиев А.С., Амирханова Ж.У., Пахратдинова Ж.У. Внутривидовая дифференциация популяций *Pyrenophora teres* в Казахстане и Омской области России // Микология и фитопатология. – 2018. – Т. 52 (1). – С.55-65.
15. Schaller C.W. Inheritance of resistance to net blotch of barley // Phytopathology. – 1955. – Vol. 45. – P. 174-176.
16. M.A., Jayasena K., Ellwood S.R., Oliver R.P. Pathotype variation of barley powdery mildew in Western Australia // Australasian Plant Pathol. – 2013. – Vol. 42. – P. 617-623.
17. Jørgensen J.H. Genetics of powdery mildew resistance in barley // Crit. Rev. Plant Sci. - 1994. – Vol. 13. – P. 97-119.
18. Чудинов В.А., Бердагулов М.А., Шпигун В.И. Результаты и перспективы селекции ячменя в условиях умеренно-засушливой степи северного Казахстана // Вестник ЦНЗ АПВ Харьковский области. – 2009. – Вып. 6. – С. 155-167.
19. Rehman S., Visoni A., El Hadi Maatougui M., Gyawali S., Verma R.P.S. Mitigating barley foliar diseases at global scale through germplasm enhancement at ICARDA // 1st International workshop on barley leaf diseases. – Salsomaggiore Terme, 03-06 June 2014. – 2014. – P. 34.

ДОСТИЖЕНИЯ ИНСТИТУТА

Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности является ведущим научным центром республики в области биологической безопасности, ветеринарной и медицинской вирусологии, иммунологии, молекулярной биологии, микологии и фитопатологии, имеющий базу, позволяющую проводить исследования и производить биопрепараты на современном уровне.

Уровень научных исследований и достижения Института известны как у нас в стране, так и за рубежом.

Институт внес огромный вклад в оздоровление территории Республики Казахстан от опасных, особо опасных инфекционных заболеваний животных, птиц и растений с использованием собственных результатов исследований и разработок по основному направлению научно-исследовательских работ.

Институтом разработаны технологии изготовления 60 наименований вакцин и диагностических тест-систем. Освоено производство 28 биопрепаратов медицинского и ветеринарного назначения.

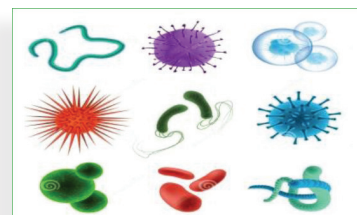


Создана уникальная коллекция микроорганизмов, где сосредоточено 1600 образцов 604 штаммов и изолятов возбудителей 61 инфекционной болезни домашних, диких животных, птиц и человека. Из вышеуказанного количества штаммов вирусов 13 нозоединиц относятся к возбудителям особо опасных болезней животных и птиц.

Создана коллекция зерновых культур и проведен скрининг образцов, устойчивых к ржавчинным и септориальным заболеваниям.



Впервые в Республике Казахстан институт вступил во Всемирную федерацию коллекций культур (WFCC).

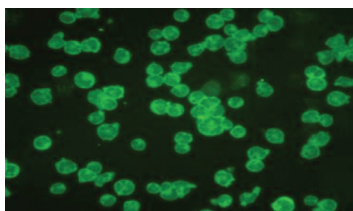


Создан собственный интродукционно-карантинный питомник по программе «Генофонд Республики Казахстан» для изучения зарубежных сортов зерновых культур, полученных по линии CIMMYT и MCX РК.



Впервые в Республике Казахстан расшифрована структура генома 29 штаммов и изолятов вирусов, разработаны 16 тест-систем для ПЦР-диагностики возбудителей особо опасных инфекционных болезней.

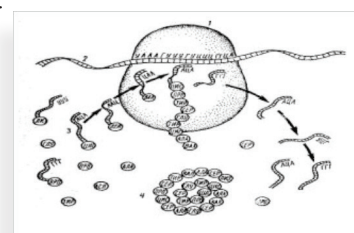
Разработаны технологии культивирования и поддержания бета-клеток, гепатоцитов и кардиомиоцитов, используемых в практической медицине для лечения больных методом трансплантации.

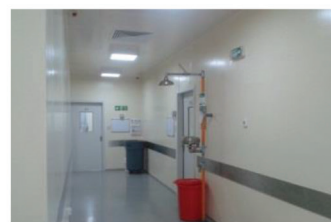


Сформирована основа Национального банка генов возбудителей особо опасных инфекционных болезней животных и человека.



Исследования с возбудителями особо опасных инфекционных болезней группы А ведутся в условиях биологической безопасности BSL-2 и BSL-3.



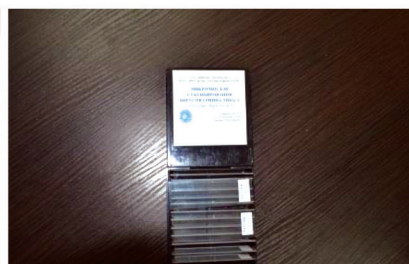


Разработана вакцина «Казахстан-15», инактивированная эмульгированная против высокопатогенного гриппа птиц. Применение данной вакцины обеспечила эпизоотическое благополучие по птичьему гриппу в Республике Казахстан.



Разработаны технологии биочиповой диагностики бруцеллеза и подтипов гриппа А.

Разработаны тест-системы РТГА, ИФА и РТ-ПЦР для индикации и типирования подтипов вируса гриппа А



Разработана живая вакцина против гриппа лошадей на основе рекомбинантного холодадаптированного штамма вируса.

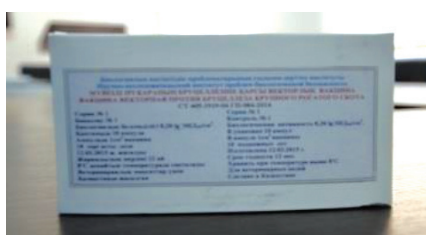
Впервые в Казахстане разработаны технологии изготовления вакцин Kazfluvac против гриппа A/H5N1 и Reflucac против гриппа A/H1N1, проведены доклинические и клинические испытания препаратов. Вакцины зарегистрированы в МЗ РК.



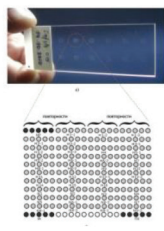
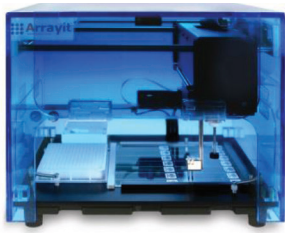
Разработана технология изготовления трехвалентной сплит-вакцины Kazfluvir против сезонного гриппа для здравоохранения с доклиническими и клиническими испытаниями. Вакцина по безопасности и иммуногенности соответствует требованиям Европейской и отечественной фармакопей.



Получены рекомбинантные конструкции и на их основе разработана векторная вакцина против бруцеллеза крупного рогатого скота.



Разработан микрочип для одновременной экспресс-диагностики гриппа птиц, болезни Ньюкасла, инфекционного бронхита и инфекционного бурсита кур.



Разработана вакцина против нодулярного дерматита крупного рогатого скота из штамма «Neethling-RIBSP».

Дезинфицирующее средство «ПОЛИФАГ» для селективной профилактической дезинфекции воздуха и поверхностей медицинских, ветеринарных, жилых и пищевых производственных помещений.



*Главный ученый секретарь,
магистр ветеринарных наук
Нурнейсова А.С.*



НИИПББ

Научно-исследовательский
институт проблем
биологической безопасности



НИИПББ

Научно-исследовательский
институт проблем
биологической безопасности



НИИПББ

Научно-исследовательский
институт проблем
биологической безопасности

НАШИ ПРОДУКЦИИ, ГОТОВЫЕ К РЕАЛИЗАЦИИ

За весь период функционирования (более 61 года) Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности внедрил в производство результаты своих НИОКР и успешно реализует более 60 наименований медико-ветеринарных биологических препаратов, в том числе как диагностические, так и лечебно-профилактические средства.

За последние 25 лет в Институте проводились научные изыскания по изучению особо опасных заболеваний, разработки современных средств диагностики (тест-системы для ПЦР и ИФА-исследований, микрочипы и др.) и профилактики (вакцины против пандемического и сезонного гриппа, бруцеллеза, туберкулеза, оспы, ящура, нодулярного дерматита коров и др.), всего более 60 наименований.

Учеными Института активно используются современные технологии, в том числе для создания новых поколений диагностикумов и вакцинных биопрепаратов. Освоены технологии получения рекомбинантных штаммов на основе генной инженерии. Получены новые штаммы и вакцины против гриппа, бруцеллеза, туберкулеза, оспы, нодулярного дерматита коров, а также многие др.

ПОЛИФАГ – СОВРЕМЕННЫЙ ПРЕПАРАТ ДЛЯ ДЕЗИНФЕКЦИИ

Многолетнее применение антибиотиков для лечения различных заболеваний привело к возникновению множественной лекарственной устойчивости штаммов возбудителей болезней.

Разработка нового препарата антибиотика, его клинические испытания и регистрация занимают многие годы и обходятся в сотни миллионов долларов США. Применение антибиотиков в клинической практике, помимо общеизвестных побочных эффектов, влечет за собой, опять же, возникновение форм бактерий, устойчивых к вновь синтезированным препаратам.

Сложившейся ситуации достойную альтернативу антибиотикам в терапии множества заболеваний бактериального происхождения способны составить бактериофаги (фаги), открытые почти столетие назад.

Бактериофаги представляют собой вирусы, избирательно поражающие бактериальные клетки. Антибактериальный эффект препаратов бактериофагов обусловлен внедрением генома фага в бактериальную клетку с последующим его размножением и лизисом инфицированной клетки. Вышедшие во внешнюю среду в результате лизиса бактериофаги повторно инфицируют и лизируют другие бактериальные клетки, действуя до полного уничтожения патогенных бактерий в очаге воспаления.

Бактериофаги – уникальные микроорганизмы, на основе которых создана особая по своим свойствам и характеристикам группа лечебно-профилактических препаратов.

В связи с вышеизложенным, РГП «НИИПББ» КН МОН РК предлагает разработанное новое дезинфицирующее средство «Полифаг», предназначенное для проведения дезинфекции объектов ветеринарно-санитарного надзора, ветеринарных и животноводческих, птицеводческих, рыбных, пищевых производств и транспорта, технологического оборудования, а также неблагополучных пунктов, угрожаемых зон, убойных пунктов, пищевых производств связанных с переработкой мясного, молочного, яичного сырья, полученных от условно-неблагополучных животных при бруцеллезе, псевдотуберкулезе, дифтерии, сальмонеллезе, колибактериозе, диарейных болезнях молодняка вызываемых условно-патогенной микрофлорой (протей, клебсиелы, псевдомонады, энтерококки, иерсинии и других инфекциях, относящихся по устойчивости к первой группе.

Препарат в своем составе содержит различные бактериофаги против бактерий: *Brucella abortus*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolitica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella infantis*, *Shigella sonnei*, *Shigella flexneri*.

Основным действующим веществом дезинфицирующего средства «Полифаг» для дезинфекции является консорциум бактериофагов Полифаг/НИИПББ/ BV-0001.

Преимущества/полезные свойства «Полифага»:

- ✓ широкий спектр действия и активность в отношении бактерий;
- ✓ экономичность растворов;
- ✓ удобны в использовании и хранении;
- ✓ имеют низкий уровень токсичности;
- ✓ не портят вкусовые качества продуктов;
- ✓ не повреждают поверхность и материалы;
- ✓ обладают дополнительным дезодорирующим и моющими свойствами.



Реализационная стоимость –
3000 тенге за 1 литр

По вопросам консультации и
приобретения звонить заведующему
лабораторией Еспембетов Болату
Аманбаевичу, кандидату ветеринарных наук;
тел. +7 (775)-093-78-10.

Заместитель генерального директора
НИИПББ
по производственной деятельности
Касенов М.М.



НИИПББ

Научно-исследовательский
институт проблем
биологической безопасности

ЖУРНАЛДА ЖАРИЯЛАУ ҮШІН ҒЫЛЫМИ МАҚАЛАЛАРҒА ҚОЙЫЛАТЫН ТАЛАПТАР

Журнал келесі ғылым бағыттары бойынша мақалаларды қабылдайды:

- Ветеринария;
- Медицина;
- Биотехнология;
- Биологиялық қауіпсіздік пен биологиялық қорғау;
- Молекулалық биология және гендік инженерия;
- Фитосанитария.

Мақаланың бастапқы бөлігіне қойылатын құрылымдық талаптар:

1. ОӘЖ
2. Автордың (-лардың) Т.А.Ә.*
3. Автордың (-лардың) жұмыс орны**
4. Мақала атауы
5. Жарияланушы материал мәтінінің тіліндегі аннотация (150 сөзден артпауы тиіс)
6. Түйін сөздер (150 сөз/сөз тіркесінен артпауы тиіс)

Мақаланың тарауларына қойылатын құрылымдық талаптар:

Мақалада келесі тараулар болуы тиіс:

1. Аннотация
2. Кіріспе
3. Зерттеу әдістемесі
4. Зерттеулерден алынған нәтижелер
5. ҒЗЖ нәтижелерін талқылау
6. Қорытынды (тұжырым)
7. Әдебиет***

Аннотация жарияланатын материал тілінен ерекшеленетін басқа екі тілде болуы тиіс (150 сөзден артпауы тиіс). Аннотация – мақалаға тәуелді емес ақпарат көзі. Оны мақаланың негізгі мәтінімен жұмыс аяқталғаннан кейін жазады. Ол негізгі тақырыптың сипаттамасын, мәселелерді, нысанды, жұмыс мақсатын және оның нәтижелерін қамтиды. Аннотацияда осы құжаттың тақырыбы мен арнайы мақсаты бойынша басқа да мәндес құжаттармен салыстыра отырып, осы құжаттың қандай жаңалық алып келетіні көрсетіледі. Аннотациялар халықаралық стандарттар бойынша ресімделуі және келесі сәттерді қамтуы тиіс:

1. Зерттеу тақырыбы бойынша алғысөз.
2. Ғылыми зерттеу мақсаты.
3. Жұмыстың ғылыми және тәжірибелік маңызын сипаттау.
4. Зерттеу әдістемесін сипаттау.
5. Зерттеу жұмыстарының негізгі нәтижелері, тұжырымдары.
6. Жүргізілген зерттеудің құндылығы (осы жұмыс тиесілі білім саласына қандай үлес қосты).
7. Жұмыс нәтижелерінің тәжірибелік мәні.

Аннотацияда мақаланың мәтіні, (мақаладан ұсыныстар алуға және оларды аннотацияға көшіруге болмайды), сондай-ақ оның атауы қайталанбауы тиіс. Онда сандар, кестелер, мәтін ішіндегі түсіндірме болмауы тиіс.

Аннотацияда зерттеу жұмысының нәтижелері мен қорытындыларының негізгі сәттері баяндалуы тиіс және мақалада жоқ материал болмауы тиіс.

Алғыс (Бұл бөлім, егер мақала грант шеңберінде дайындалса немесе жарияланатын жұмысқа жәрдемдескен, бірақ тең авторлардың қатарына кірмеген адамдарға алғыс білдіру үшін қажет). Әдетте жарияланымның соңында көрсетіледі.

*Автордың (-лардың) аты-жөні әр адамның жұмыс орнымен индекстеледі. Мысалы, **С.С. Сеитов¹, А.А. Ахметов², Б.Б. Болатов³**

**Автордың (-лардың) жұмыс орны. Мысалы: ¹Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Алматы, Қазақстан;

²Ставрополь мемлекеттік аграрлық университеті, Ставрополь, Ресей; ³Жәңгір хан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университеті, Орал, Қазақстан.

Мақаланың мазмұны туралы

Мақалада автор зерттеулерінің нәтижелерін көрсететін түпнұсқа материал ғана болуы тиіс. Мақаланың негізгі мазмұнын ашатын аннотацияда (50-ден 150-ге дейін сөз) және мақаланың қорытынды бөлімінде (50-ден 150-ге дейін сөз) зерттеу нәтижелерінің жаңалығын, олардың практикалық маңыздылығын көрсету қажет.

Ғылыми мақаланы рәсімдеудің негізгі талаптары.

Мақала қазақ, орыс немесе ағылшын тілдерінің бірінде 5-11 бет көлемінде (суреттер мен кестелерді қоса алғанда) болуы тиіс.

Мәтін Microsoft Word редакторында, Times New Roman шрифтімен, 12 өлшемде, бір интервалмен терілуі тиіс. Мәтін келесі жиектердің өлшемдерін сақтай отырып басылуы тиіс: жоғарғы және төменгі – 2 см, сол және оң – 2 см. Тегістелуі – ені бойынша (тасымалды автоматты түрде жүргізу арқылы). Жоларалық интервалы – бір. Азат жол шегінісі –1,25.

Парақтың жоғарғы сол жақ бұрышына ОӘЖ қойылады. Төменде, ортаға тегістеліп автордың (-лардың) аты-жөндерінің бірінші әріптері, фамилиялары, бір жол төменде ұйымның (-дардың) толық атауы, онан кейін, үтір қою арқылы қаланың атауы, елдің атауы (шет елдік авторлар үшін), онан кейін, бір жолдан кейін ортаға тегістеліп бас әріптермен мақала атауы көрсетілуі тиіс.

Тағы төменде, бір жолдан кейін, аннотация мәтіні (50-ден 150-ге дейінгі сөз) және жарияланатын материал мәтініндегі түйінді сөздер (10 сөзден/сөз тіркестерінен артпауы тиіс) болады. Одан әрі, бір жолдан кейін, мақаланың келесі бөлімдерден тұратын негізгі мәтіні орналастырылады:

Кіріспе. Бұл бөлім осы зерттеудің өзектілігін және автор тауып алған осы тақырып бойынша әдеби дереккөздерге (мақалалар, патенттер, есептер, Интернеттен алынған ақпараттар) шолу жасауды қамтиды. Сондай-ақ, бұл бөлімде зерттеудің мақсаттары мен міндеттері, болжанатын гипотезалар мен тұжырымдар көрсетіледі. Бұл бөлім әдетте мақаланың жалпы көлемінің 5-10 % құрайды.

Зерттеу әдістемесі. Бұл бөлімде ҒЗЖ-да пайдаланылған материалдар мен әдістер сипатталады. Егер бұл алғаш рет жарияланатын әдістеме болмаса, әдіснамалық ерекшеліктерді көрсетудің қажеті жоқ. Қажет болған жағдайда әдіснаманың негізгі сәттері сипатталады. Бұл бөлім әдетте мақаланың жалпы көлемінің 10-20 % құрайды.

Зерттеудің негізгі нәтижелері. Бұл бөлім көлемі бойынша ғылыми мақалада орталық орын алады. Бұл негізгі бөлім, оның мақсаты талдау, қорыту және деректерді түсіндіру арқылы жұмыс гипотезасын (гипотезаларын) дәлелдеу болып табылады. Нәтижелер қажет болған жағдайда бастапқы материалды немесе дәлелдемелерді тұжырылған түрде ұсынатын иллюстрациялармен - кестелермен, графиктермен, суреттермен расталады. *Суреттелген ақпарат мәтінді қайталамауы маңызды.* Мақалада ұсынылған нәтижелерді автордың және басқа зерттеушілердің осы саладағы алдыңғы жұмыстарымен салыстырылғаны дұрыс. Мұндай салыстыру жүргізілген жұмыстың жаңалығын қосымша ашады, оған объективтілік береді. Бұл бөлім әдетте мақаланың жалпы көлемінің 50-55 % құрайды.

Алынған деректерді талқылау және қорытынды. Мақаланың бұл бөліктері алынған мәліметтердің интерпретациясын қамтиды, анықталған заңдылықтар сипатталады, бір-бірін қайталамайтын кестелер мен суреттерді қамтиды. Нәтижелерді өткен уақытта баяндау ұсынылады. Талқылау зерттеу нәтижелерін сипаттауды қайталамауы тиіс. Қорытынды зерттеу нәтижелерінің қысқаша тұжырымын қамтиды. Бұл бөлімде алынған нәтижелерді жұмыстың басында белгіленген мақсатпен салыстыру қажет. Қорытындыда тақырыпты түсіну нәтижелері жинақталады, жұмыстан туындайтын қорытындылар, тұжырымдар мен ұсыныстар жасалады, олардың практикалық маңыздылығы көрсетіледі, сондай-ақ осы саладағы одан әрі зерттеу үшін негізгі бағыттар анықталады. Мақаланың қорытынды бөлігіне қаралған мәселелердің дамуын болжау әрекеттерін енгізу қажет. Мақала тақырыбындағы мәліметтер авторлық түйіндеме мәтінінде қайталанбауы тиіс. Ұсынылатын көлем – мақаланың жалпы көлемінен 10-15 %.

*****Әдебиет.** Бұл бөлім дәйексөз келтірілетін, қаралатын немесе мақаланың мәтінінде айтылған, оны сәйкестендіру, іздеу және жалпы сипаттама үшін қажетті және жеткілікті басқа құжат туралы библиографиялық мәліметтер қамтылады. Жарияланғанына 5 жылдан асқан дереккөздерге сілтеме жасау ұсынылмайды. Жақында жарияланған мақалаларға сілтемелер беру, өз мақаласынан дәйек сөз алуға ең аз мөлшерде рұқсат етіледі. Мақала берілетін БҚПҒЗИ ғылыми-практикалық журналындағы мақалаларға сілтеме жасау міндетті. Мақалада біздің журналдарда бұрын шыққан мақалаларға міндетті түрде сілтеме жасау керек. Негізгі мәтіннен (немесе ескертулердің мәтінінен) төменірек ортаға тегістеу арқылы «**ӘДЕБИЕТ**» деген атау жазылады, онан бір жолдан кейін библиографиялық сипаттамаға қойылатын қолданыстағы талаптарға сәйкес мәтін бойынша сілтеме ретінде нөмірленген деректер тізбесі орналастырылады. Тізбенің бір тармағында тек бір ақпарат көзін көрсету керек. Ақпарат көздеріне сілтемелер төртбұрышты жақша (мысалы, [1]) ішіндегі сандармен рәсімделеді.

Библиографиялық сипаттама МЕМСТ 7.1-2003 сәйкес рәсімделеді және мұқият тексеріледі. Егер ақпарат көзіне сілтеме мақала мәтінінде қайталанатын болса, онда қайта, шаршы жақшада оның тізімдегі нөмірі көрсетіледі (библиографиялық тізімде келесі реттік нөмірі мен «тағы да сонда» сілтемесі пайдаланылмай). Бір көзден алынған әр түрлі материалдарға сілтеме жасалған жағдайда, шаршы жақшадағы беттің нөмірін әр жолы көрсету қажет. Мысалы, [1, 17] немесе [1, 28-29].

Мысал ретінде неғұрлым таралған сипаттамалар – мақалалар, кәтаптар, конференция материалдары, патенттер және электрондық қорлар беріледі, мысалы:

Автор фамилиясындағы кітап

1 Максимов Н.В., Партыка Т.Л., Попов И.И. Максимов, Н.В. ЭЕМ және есептеуіш жүйелердің архитектурасы: ЖОО-ларына арналған оқу құралы. - М.: Инфра - М, 2005. - 512 б.

2 Душков Б.А., Королев А.В., Смирнов Б.А. Еңбектің, кәсіби, ақпараттық және ұйымдастырушылық қызметтің психологиясы: ЖОО-ларға арналған оқу құралы. - М.: Академический проект, 2005. - 848 б.

Атаулы кітап.

Егер, кітап төрт немесе одан көп авторлармен жазылған болса кітап сипаттамасы атауында беріледі. Атауында ұжымдық монографиялар, мақалалар жинағы және т.б. сипатталады.

1 Әлем көркем әдебиеті: 2 томда / Б.А. Эренгросс [және басқалары]. - М.: Высшая школа, 2005. - Т.2. - 511 б.

2 Экономикалық талдау бойынша бақылау тапсырмалары мен тестілерінің кешені [Мәтін]: ЖОО-ларға арналған оқу-әдістемелік құрал / А.А. Сливинская [және басқалары]. - Елец: Елецк мемлекеттік университетінің баспасы, 2003. - 73 б.

Заңнамалық материалдар

Ресей Федерациясының конституциясы [Мәтін]. - М.: Приор, 2001. - 32 б. РСФКР азаматтық процессуалдық кодексі [Мәтін]: [РСФКР алтыншы шақырылымдағы Жоғарғы Кеңесінің үшінші сессиясында 1964 жылы 11 маусымда қабылданған]: ресми мәтін: 2001 жылғы 15 қарашағағы жағдайы бойынша / Ресей Федерациясының Әділет министрлігі. - М.: Маркетинг, 2001. - 159 б.

Стандарттар

Радиоэлектронды тұрмыстық аппаратура. Кіріс және шығыс параметрлері мен байланыстыру типтері. Техникалық талаптар [Мәтін]: МЕМСТ Р 517721 - 2001. - 2002-01 -01 енгізілген. - М.: Изд-во стандартов, 2001. - IV, 27 б.: ил.

Патенттік құжаттар

Қабылдаушы-беруші құрылғы [Мәтін]: пат. 2187888 Рес. Федерациясы: МПК Н 04 В 1/38, Н 04 J 13/00/ Чугаева В.И.; өтініш беруші мен патент иесі Воронеж, Байланысты ғылыми-зерттеу институты. - № 2000131736/09; өтініш берілген 18.12.00; жарияланған 20.08.02, Бюл. № 23 (II б.). - 3 б.: ил.

Диссертациялар, диссертацилардың авторефераттары

Белозеров И.В. Алтын Орданың 13-14 ғасырлардағы Ресейдегі діни саясаты [Мәтін]: тарих ғылымдары кандидатының дис.: 07.00.02: қорғалды 22.01.02: бекітілді 15.07.02 /Белозеров Иван Валентинович. -М., 2002. -215 с. -Библиогр.: б. 202-213. -04200201565.

Internet желісінен алынған құжаттың библиографиялық сипаттамасы

1 Бычкова Л.С. Конструктивизм // 20 ғасырдағы культурология - «К». - (<http://www.philosophy.ru/edu/ref/enc/k.htm> 1).

2 Мән психологиясы: Д.А. Леонтьевтің табиғаты, құрылымы және серпіні – Бірінші басылым. - 1999. - (<http://www.smysl.ru/annot.php>).

Мақалалық әдебиетті ресімдеу кезінде жарияланымның авторларының толық тізімі берілуі тиіс (басқаларсыз).

Егер, мәтінде ескертулер бар болса, онда, негізгі мәтіннен кейін әдебиет көздерінің алдында, ортаға тегістелу арқылы **«Ескертпелер»** теріледі, және бір жолдан кейін, мәтін бойынша сілтеме ретінде жоғарғы индекс түрінде (мысалы, 1) санмен нөмірленген ескертулер мәтіні жазылады. Негізгі мәтіндегі ескертулерге сілтеме қалың емес қаріппен, жоғарғы индекс түріндегі санмен (мысалы, 1 үлгілі) ресімделеді.

Кестелер мәтін бойынша орналастырылады. Кестелердің нөмірленуі мәтін бойынша сілтемелер тәртібінде жүргізіледі. Кестенің нөмірлеу атауы қалың қаріппен, сол жаққа тегістеу арқылы жазылады (мысалы, **кесте 1**). Тақырыптық атау осы долда қалың емес қаріппен, сол жаққа тегістеу арқылы жазылады. Негізгі мәтінде кестеге сілтеме жақшада қалың қаріппен көрсетіледі – мысалы, (**Кесте 1 –**). Егер кесте үлкен көлемді болса, жеке бетте, ал ені үлкен болса - бейімі альбомдық бетте орналастырылуы мүмкін.

Суреттер мәтін бойынша орналастырылады. Суреттердің нөмірленуі мәтін бойынша сілтемелер тәртібінде жүргізіледі. Нөмірлеу атауы қалың қаріппен, сол жаққа тегістеу арқылы жазылады (мысалы, **сурет 1**). Тақырыптық атауы (бар болған жағдайда) осы жолда, нөмірлеу атаудан кейін жазылады (мысалы, **Сурет 1 – Тәуелділік...**).

Негізгі мәтінде суретке сілтеме жақшада қалың қаріппен жазылады – мысалы, (**сурет 1**). Егер сурет үлкен көлемді болса, жеке бетте, ал ені үлкен болса – бейімі альбомдық бетте орналастырылуы мүмкін. Суреттер түпнұсқадан скандау арқылы алынған (сұр түс градациясында 150 dpi) немесе компьютерлік графика құралдары арқылы орындалған болуы мүмкін. Суреттерді электрондық нұсқаның жеке файлына орналастыруға рұқсат етіледі, ал, үлкен көлемді иллюстрациялар (файл) болған жағдайда құпалады. Суреттерге қол қою тікелей суреттің астында орындалуы тиіс.

Формулалар. Қарапайым жолішілік және бір жолдық формулалар арнайы редакторларды пайдаланбай символдармен терілуі тиіс (Symbol, Greek Math Symbols, Math-PS, Math A Mathematica қаріптерінен арнайы символдарды пайдалануға рұқсат етіледі). Күрделі және көп жолды формулалар Microsoft Equation 2.0, 3.0 формула редакторларында толық терілуі тиіс. Формуланың бір бөлігін символдармен, ал бір бөлігін формула редакторында теруге жол берілмейді.

Мақалаға қосымша беріледі:

- ілеспе хат (сыртқы ұйымдар үшін)
- кемінде екі сарапшының қорытындысы:

1) Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты сараптау комиссиясынан (*ішкі сараптау*);

2) бейіні сай келетін сыртқы ұйымдардың тәуелсіз сарапшыларынан (*сыртқы сараптау*);

3) ағылшын тіліндегі мақалалар үшін – БҚПҒЗИ «Биобезопасность и Биотехнология/Биоқауіпсіздік және Биотехнология» ғылыми-тәжірибелік журналының шетелдік редакторлық-сараптау кеңесінің ішінен бағыттар бойынша тәуелсіз сарапшыларынан.

- автор туралы мәліметтер: тегі, аты және әкесінің аты (толық), ғылыми дәрежесі, лауазымы, жұмыс орны, байланыс телефондары, хат алмасу деректері (e-mail).

Төлем сараптаудан өткеннен кейін және мақалаға рецензия алынғаннан кейін жүргізілуі тиіс. 1 мақаланы жариялауға төлеу қазақстандық ғалымдар мен ғылыми қызметкерлер үшін 2 АЕК-ті, ал, шетелдік авторлар үшін АҚШ 15 \$ құрайды.

Көрсетілген талаптарға сәйкес келмейтін мақалалар жариялауға қабылданбайды.

Біздің мекен-жайымыз:

080409, Жамбыл облысы, Қордай ауданы, Гвардейский қтк., Б. Момышұлы к-сі, 15.

ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМК

Оқу ғылыми-білім беру орталығы (ОҒБО), тел. (726-36) 7-22-28, ішкі 112. e-mail: unots@biosafety.kz

Жарияланым үшін төлем жүргізу деректері:

Бенефициар: ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМК

Бенефициара банкі: «Қазақстан халық банкі» АҚ-ы

Банк БСК-ы: HSBKKZKX

ЖСК: KZ656010131000155334

КБЕ: 16

ТМК: 859

Төлем мақсаты: «Биобезопасность и Биотехнология/Биоқауіпсіздік және Биотехнология» ғылыми-тәжірибелік журналында мақала жариялау.

ТРЕБОВАНИЯ К НАУЧНЫМ СТАТЬЯМ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В ЖУРНАЛЕ «БИОБЕЗОПАСНОСТЬ И БИОТЕХНОЛОГИЯ»

Журнал принимает статьи по следующим направлениям науки:

- Ветеринария;
- Медицина;
- Биотехнология;
- Биологическая безопасность и биозащита;
- Молекулярная биология и геновая инженерия;
- Фитосанитария.

Структурные требования к начальной части статьи:

1. УДК (универсальная десятичная классификация)

В начале статьи, вверху слева следует указать УДК

2. Инициалы и фамилии автора (-ов)

Посередине страницы обычным жирным шрифтом (С.С. Сеитов¹, А.А. Ахметов², Б.Б. Болатов³)

3. Место работы автора (-ов)

Название организации (ий), в которой выполнена работа, рядом с фамилией автора индексом указать цифру организации, эту же цифру указать в названии организации, затем город, страну (¹Казахский национальный аграрный университет, Алматы, Казахстан, ²Ставропольский государственный аграрный университет, Ставрополь, Российская Федерация, ³Западно-Казахстанский аграрно-технический университет им. Жангир-хана, Уральск, Казахстан).

4. Адреса e-mail авторов

5. Название статьи

Название статьи прописными жирными буквами (около 30-40 символов)

6. Аннотация на языке текста публикуемого материала (не более 150 слов)

7. Ключевые слова (6-10 слов)

Структурные требования к разделам статьи:

Статья должна содержать следующие разделы:

1. Аннотация
2. Введение
3. Методика исследований
4. Полученные результаты исследований
5. Обсуждение результатов
6. Выводы (заключение)
7. Литература

Аннотация должна быть на двух других языках, отличающихся от языка публикуемого материала (не более 150 слов). Аннотация – это не зависимый от статьи источник информации. Ее пишут после завершения работы над основным текстом статьи. Она включает характеристику основной темы, проблемы, объекта, цели работы и ее результаты. В ней указывают, что нового несет в себе данный документ в сравнении с другими, родственными по тематике и целевому назначению. Аннотации должны быть оформлены по международным стандартам и включать следующие моменты:

8. Вступление по теме исследования.
9. Цель научного исследования.
10. Описание научной и практической значимости работы.
11. Описание методологии исследования.
12. Основные результаты, выводы исследовательской работы.
13. Ценность проведенного исследования (какой вклад данная работа внесла в соответствующую область знаний).
14. Практическое значение итогов работы.

В аннотации не должен повторяться текст самой статьи (нельзя брать предложения из статьи и переносить их в аннотацию), а также ее название. В ней не должно быть цифр, таблиц, внутри – текстовых сносок.

В аннотации должны излагаться основные моменты результатов и заключения исследовательской работы, и не должно содержать материал, который отсутствует в самой статье.

Введение включает актуальность данного исследования и обзор найденных автором литературных источников (статей, патентов, отчетов, информации из Интернета) по этой теме. Также, в этом разделе указывается цели и задачи исследования, предполагаемые гипотезы и формулировки. Этот раздел обычно составляет 5-10 % от общего объема статьи.

Методика исследований. В этом разделе описываются материалы и методы, использованные в НИР. Нет необходимости указывать методологические особенности, если это не впервые публикуемая методика. При необходимости, описываются ключевые моменты методологии. Этот раздел обычно составляет 10-20 % от общего объема статьи.

Основные результаты исследований. По объему этот раздел занимает центральное место в научной статье. Это основной раздел, цель которого заключается в том, чтобы при помощи анализа, обобщения и разъяснения данных доказать рабочую гипотезу (гипотезы). Результаты при необходимости подтверждаются иллюстрациями - таблицами, графиками, рисунками, которые представляют исходный материал или доказательства в свернутом виде. *Важно, чтобы проиллюстрированная информация не дублировала текст.* Представленные в статье результаты желательно сопоставить с предыдущими работами в этой области как автора, так и других исследователей. Такое сравнение дополнительно раскроет новизну проведенной работы, придаст ей объективности. Эта часть обычно составляет 50-55 % от общего объема статьи.

Обсуждение полученных данных. Этот раздел содержит интерпретацию полученных данных, описываются выявленные закономерности, включать таблицы и рисунки не дублирующие друг друга. Результаты рекомендуется излагать в прошедшем времени. Обсуждение не должно повторять описание результатов исследования.

Заключение. Заключение содержит краткую формулировку результатов исследования. В этом разделе необходимо сопоставить полученные результаты с обозначенной в начале работы целью. В заключении суммируются результаты осмысления темы, делаются выводы, обобщения и рекомендации, которые вытекают из работы, подчеркивается их практическая значимость, а также определяются основные направления для дальнейшего исследования в этой области. В заключительную часть статьи желательно включить попытки прогноза развития рассмотренных вопросов.

Сведения, содержащиеся в заглавии статьи, не должны повторяться в тексте авторского резюме. Рекомендуемый объем – 10-15 % от общего объема статьи.

Если в тексте есть примечания, то после основного текста перед списком литературы набирается по центру заглавие «**Примечания**», и через строку помещается текст примечаний, пронумерованные числом в виде верхнего индекса (например, 1) в порядке ссылок по тексту. Ссылка на примечания в основном

тексте оформляется не жирным шрифтом, числом в виде верхнего индекса (например, ... модели 1).

Таблицы помещаются по тексту. Нумерация таблиц производится в порядке ссылок по тексту. Нумерационный заголовок таблицы набирается нежирным шрифтом с выравниванием по центру (например, Таблица 1 – название таблицы). Тематический заголовок (если имеется) набирается на этой же строке нежирным шрифтом с выравниванием по центру. Ссылка на таблицу в основном тексте оформляется нежирным шрифтом в скобках - например, (таблица 1). Если таблица имеет большой объем, она может быть помещена на отдельной странице, а в том случае, когда она имеет значительную ширину – на странице с альбомной ориентацией.

Рисунки размещаются по тексту. Нумерация рисунков производится в порядке ссылок по тексту. Нумерационный заголовок набирается нежирным шрифтом с выравниванием по центру (например, Рисунок 1 – название рисунка). Ссылка на рисунок в основном тексте оформляется нежирным шрифтом в скобках - например, (рисунок 1). Если рисунок имеет большой формат, он должен быть помещен на отдельной странице, а в том случае, когда он имеет значительную ширину – на странице с альбомной ориентацией. Рисунки могут быть сканированными с оригинала (150 dpi в градациях серого) или выполнены средствами компьютерной графики. Допускается, а в случае с иллюстрациями большого объема (файла), приветствуется, размещение рисунков в отдельном файле электронной версии. Подписи к рисункам должны быть выполнены непосредственно под рисунком.

Формулы. Простые внутри строчные и однострочные формулы должны быть набраны символами без использования специальных редакторов (допускается использование специальных символов из шрифтов Symbol, Greek Math Symbols, Math-PS, Math A Mathematica BTT). Сложные и многострочные формулы должны быть целиком набраны в редакторе формул Microsoft Equation 2.0, 3.0. Не допускается набор – часть формулы символами, а часть – в редакторе формул.

Литература. Этот раздел содержит библиографические сведения о цитируемом, рассматриваемом, или упоминаемом в тексте статьи другом документе, необходимые и достаточные для его идентификации, поиска и общей характеристики. Не рекомендуется ссылаться на источники, которым более 5 лет. Ссылки давать на недавно опубликованные статьи, самоцитирование допускается в минимальном количестве. Ниже основного текста (или текстов примечаний) печатается по центру заглавие «ЛИТЕРАТУРА», затем, через строку, помещается пронумерованный перечень источников в порядке ссылок по тексту, в соответствии с действующими требованиями к библиографическому описанию. В одном пункте перечня следует указывать только один источник информации. Ссылки на источники информации оформляются числами, заключенными в квадратные скобки (например, [1]).

Библиографические описания оформляются в соответствии с ГОСТ 7.1-2003 и тщательно выверяются. Если ссылка на источник информации в тексте статьи повторяется, то, повторно, в квадратных скобках указывается его номер из списка (без использования в библиографическом списке следующего порядкового номера и ссылки «Там же»). В случае ссылки на различные материалы из одного источника, необходимо каждый раз указать еще и номер страницы в квадратных скобках. Например, [1, 17] или [1, 28-29].

В качестве примера приводятся наиболее распространенные описания – статьи, книги, материалы конференций, патенты и электронные ресурсы, например:

Книга под фамилией автора

1 Максимов Н.В., Партыка Т.Л., Попов И.И. Архитектура ЭВМ и вычислительных систем: учеб. для вузов. - М.: Инфра, 2005. - 512 с.

2 Душков Б.А., Королев А.В., Смирнов Б.А. Психология труда, профессиональной, информационной и организационной деятельности: учеб. пособие для вузов. - М.: Академический проект, 2005. – 848 с.

Книга под заглавием

Описание книги дается на заглавие, если книга написана четырьмя и более авторами. На заглавие описываются коллективные монографии, сборники статей и т.п.

1. Мировая художественная культура: в 2-х т. / Б.А. Эренгросс [и др.]. - М.: Высшая школа, 2005. - Т. 2. - 511 с.

2. Комплекс контрольных заданий и тестов по экономическому анализу: учеб-метод, пособие для вузов / А.А. Сливинская [и др.]. - Елец: Изд-во Елецкого гос. ун-та, 2003. - 73 с.

Законодательные материалы

1. Конституция Российской Федерации. - М.: Приор, 2001. - 32 с. Гражданский процессуальный кодекс РСФСР [Текст]: [принят третьей сес. Верхов. Совета РСФСР шестого созыва 11 июня 1964 г.]: офиц. текст: по состоянию на 15 нояб. 2001 г. / М-во юстиции Рос. Федерации. - М.: Маркетинг, 2001. - 159 с.

Стандарты

1. Аппаратура радиоэлектронная бытовая. Входные и выходные параметры и типы соединений. Технические требования: ГОСТ Р 517721 - 2001. - Введ. 2002-01 -01. - М.: Изд-во стандартов, 2001. - IV, 27 с.: ил.

Патентные документы

1. Приемопередающее устройство: пат. 2187888 Рос. Федерация: МПК Н 04 В 1/38, Н 04 J 13/00/ Чугаева В.И.; заявитель и патентообладатель Воронеж, науч. - исслед. ин-т связи. - № 2000131736/09; заявл. 18.12.2000; опубл. 20.08.2002, Бюл. № 23 (II ч.). - 3 с: ил.

Диссертации, авторефераты диссертаций

1. Белозеров И.В. Религиозная политика Золотой Орды на Руси в 13-14 вв.: дис... канд. ист. наук: 07.00.02: защищена 22.01.2002: утв. 15.07.2002 / Белозеров Иван Валентинович. -М., 2002. - 215 с. -Библиогр.: с. 202-213. -04200201565.

Библиографическое описание документа из Internet

1. Бычкова Л.С. Конструктивизм // Культурология 20 век - «К». - (<http://www.philosophy.ru/edu/ref/enc/k.htm> 1).

2. Психология смысла: природа, строение и динамика Леонтьева Д.А. - Первое изд. - 1999. - (<http://www.smysl.ru/annot.php>).

Основные требования к оформлению научной статьи.

Статья должна быть объемом 5-11 страниц (включая рисунки и таблицы) на одном из языков: казахском, русском или английском.

Текст должен быть набран в редакторе Microsoft Word, шрифт Times New Roman размера 12, одинарный интервал. Текст следует печатать, соблюдая следующие размеры полей: верхнее и нижнее – 2 см, левое и правое – 2 см. Выравнивание – по ширине (с автоматической расстановкой переносов). Межстрочный интервал – одинарный. Абзацный отступ – 1,2 .

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

К статье прилагаются:

- сопроводительное письмо (для сторонних организаций)
- заключения не менее двух экспертов:

1) от экспертной комиссии Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности (*внутренняя экспертиза*);

2) от независимых экспертов сторонних профильных организаций (*внешняя экспертиза*);

- сведения об авторе: 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» КН МОН РК

Учебный научно-образовательный центр (УНОЦ), тел. (726-36) 7-22-28, вн. 112. e-mail: unots@biosafety.kz

ОПЛАТА ЗА ПУБЛИКАЦИЮ СТАТЕЙ

Оплата производится после одобрения статьи и включения в номер журнала. Автору высылаются письмо с реквизитами об оплате. Если оплату производит организация, необходимо нам отправить реквизиты организации для составления договора.

Размер оплаты за публикацию 1 статьи для казахстанских ученых и научных сотрудников составляет 2 МРП, авторам из зарубежных стран – 15 \$ США.

Реквизиты для оплаты публикации:

Бенефициар: РГП на ПХВ «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК

Банк бенефициара: АО «Народный банк Казахстана»

БИК банка: HSBKKZKX

ИИК: KZ656010131000155334

КБЕ: 16

КНП: 859

Назначение платежа: Публикация статьи в научно-практическом журнале «Биоқауіпсіздік және Биотехнология/Биобезопасность и Биотехнология».

AUTHOR INSTRUCTIONS TO THE JOURNAL

The journal accepts articles in the following areas of science:

- Veterinary medicine;
- Medicine;
- Biotechnology;
- Biological safety and biosecurity;
- Molecular biology and genetic engineering;
- Phytosanitary.

Structural requirements for the initial part of the article:

1. DOI
2. Name, surname of the author (s)*
3. Place of work of the author (s)**
4. Title of article
5. An annotation in the language of the text of the published material (not more than 150 words)
6. Keywords (no more than 10 words/phrases)

Structural requirements for sections of the article:

The article should contain the following sections:

1. Abstract
2. Introduction
3. Research methodology
4. The obtained research results
5. Discussion of the results of research
6. Conclusions (conclusion)
7. References***

The abstract should be in two other languages that differ from the language of the published material (no more than 150 words). The abstract is a source of information independent of the article. It is written after completion of the main text of the article. It includes a description of the main topic, problem, object, purpose of the work and its results. It indicates what the new document bears in itself in comparison with others related to the subject and purpose. Abstracts should be formatted according to international standards and include the following points:

1. Introduction to the research topic.
2. The purpose of scientific research.
3. Description of the scientific and practical significance of the work.
4. Description of the research methodology.
5. The main results, conclusions of the research work.
6. The value of the study (what contribution this work made to the relevant knowledge field).
7. The practical significance of the results of the work.

The abstract should not repeat the text of the article itself (you cannot take sentences from the article and transfer them to the abstract), as well as its title. It should not contain numbers, tables, intra-text footnotes.

The abstract should set out the main points of the results and conclusions of the research work, and should not contain material that is not in the article itself.

Acknowledgements (this section is needed if the article was prepared as part of a grant, or to express gratitude to those who contributed to the published work, but were not included in the number of co-authors). It is usually indicated at the end of the publication.

***Full name of the author (s)** are indexed with the workplaces of each. *For example, (S.S¹. Seitov, A.A. Akhmetov², B.B. Bolatov³)*

****Place of work of the author (s).** For example: ¹Kazakh National Agrarian University, Almaty, Kazakhstan; ²Stavropol State Agrarian University, Stavropol, Russia; ³Western Kazakhstan Agrarian Technical University named after Zhangir Khan, Oral, Kazakhstan.

On the content of the article

The article should contain only original material reflecting the results of research by the author. In the abstract (from 50 to 150 words), revealing the main content of the article, and in the final part (conclusions, from 50 to 150 words) of the article, it is necessary to reflect the novelty of the research results, their practical significance.

Basic requirements for the execution of a scientific article.

The article should be 5-11 pages long (including figures and tables) in one of the languages: Kazakh, Russian or English.

The text should be typed in the Microsoft Word editor, font Times New Roman size 12, single spacing. The text should be printed, observing the following margins: top and bottom – 2 cm, left and right – 2 cm. Justification - breadthwise (with automatic hyphenation). Line spacing is single. Indention – 1.25.

The **DOI** is affixed in the upper left corner of the sheet. Below, after one interval center alignment - in italics, initials, surnames of the author (s), a line below the full name of the organization (s), then, separated by a comma, it is necessary to indicate the city, the name of the country (for foreign authors), then center alignment – in capital letters the name of the article. Even lower, through the line, follows the text of the abstract (from 50 to 150 words) and keywords in the language of the text of the published material (no more than 10 words / phrases). Next, through the line, the main text of the article is placed, consisting of the following sections:

Introduction. This section includes the relevance of this study and a review of literature found by the author (articles, patents, reports, information from the Internet) on this topic. Also, this section indicates the goals and objectives of the study, hypotheses and statements. This section usually accounts for 5-10 % of the total article.

Research methodology. This section describes the materials and methods used in research. There is no need to indicate methodological features if this is not the first published methodology. If necessary, the key points of the methodology are described. This section usually accounts for 10-20% of the total article.

Key research findings. By volume, this section is takes central place in the scientific article. This is the main section, the purpose of which is to use the analysis, synthesis and explanation of the data to prove the working hypothesis (hypotheses). The results, if necessary, are confirmed by illustrations - tables, graphs, figures, which represent the source material or evidence in folded form. It is important that the illustrated information does not duplicate the text. It is desirable to compare the results presented in the article with previous works in this area by both the author and other researchers. Such a comparison will additionally reveal the novelty of the work done, give it objectivity. This part usually accounts for 50-55 % of the total article volume.

Discussion of the obtained data. These parts of the article contain an interpretation of the data obtained, describe the revealed patterns, include tables and figures not duplicating each other. Results are recommended to be stated in the past tense. The discussion should not repeat the description of the study results.

Conclusion. The conclusion contains a brief statement of the results of the study. In this section, it is necessary to compare the results obtained with the goal indicated at the beginning of the work. In conclusion, the results of comprehension of the topic are summarized, conclusions, generalizations and recommendations that arise from the work are made, their practical significance is emphasized, and the main directions for further research in this area are determined. In the final part of the article, it is desirable to include attempts to forecast the development of the issues addressed. The information contained in the title of the article should not be repeated in the text of the author's summary. The recommended volume is 10-15% of the total volume of the article.

*****References.** This section contains bibliographic information about another document cited, considered, or referred to in the text of the article, necessary and sufficient for its identification, search, and general characteristics. It is not recommended to refer to sources that are more than 5 years old. Links to recently published articles, self-citation is allowed in a minimal amount. Required links to articles from the scientific and practical journal RIBSP, in which the article is submitted. The article must refer to previously published articles in our journals. Below the main text (or texts of notes), the title “**REFERENCES**” is printed in the center, then, through a line, a numbered list of sources is placed in the order of references in the text, in accordance with the current requirements for bibliographic description. Only one source of information should be indicated in one list item. References to information sources are drawn up in numbers enclosed in square brackets (for example, [1]).

Bibliographic descriptions are drawn up in accordance with GOST 7.1-2003 and carefully verified. If the link to the source of information in the text of the article is repeated, then, repeatedly, in square brackets indicate its number from the list (without using the following serial number and the link "Ibid" in the bibliographic list). In the case of links to various materials from the same source, you must also indicate each time the page number in square brackets. For example, [1, 17] or [1, 28-29].

The most common descriptions – articles, books, conference proceedings, patents and electronic resources are given as an example, for example:

Book under the name of the author

1. Maximov N.V., Partyka T.L., Popov I.I. Architecture of computers and computing systems: Textbook for universities. - M.: Infra - M, 2005. - 512 p.

2. Dushkov B.A., Korolev A.V., Smirnov B.A. Psychology of labor, professional, informational and organizational activities: Textbook for universities. - M: Academic project, 2005. - 848 p.

Book under the title.

The description of the book is given in the title if the book is written by four or more authors. The title describes collective monographs, collections of articles, etc.

1. World art culture: in 2 volumes / B.A. Erengross [et al.]. - M.: Higher School, 2005. - Vol. 2. - 511 p.

2. A set of control tasks and tests for economic analysis: a training method, a manual for universities / A.A. Slivinskaya [et al.]. - Yelets: Publishing house of the Yelets state University, 2003. - 73 p.

Legislative materials

The Constitution of the Russian Federation . - M.: Prior, 2001 .-- 32 p. The Code of Civil Procedure of the RSFSR: [adopted on the third session of the Supreme Council of the RSFSR of the sixth convocation on June 11, 1964]: offic. text: as of Nov 15 2001 / Ministry of Justice of RF. - M.: Marketing, 2001. - 159 p.

Standards

Household electronic equipment. Input and output parameters and connection types. Technical requirements [Text]: GOST R 517721 - 2001. - Introduction. 2002-01-01. - M .: Publishing house of standards, 2001. - IV, 27 p.: Ill.

Patent documents

Transceiver: Pat. 2187888 Russ. Federation: IPC H 04 B 1/38, H 04 J 13/00 / Chugayeva V.I .; applicant and patent holder Voronezh, scientific – research Institute of Communication. - No. 2000131736/09; declared 12/18/00; publ. 08/20/02, Bull. No. 23 (II hour). - 3 s: ill.

Dissertations, abstracts of dissertations

Belozerov I.V. The religious policy of the Golden Horde in Russia in the 13-14 centuries: cand. of Hist. Sciences: 07.00.02: defended 01.22.02: approved. July 15, 02 / Belozerov Ivan Valentinovich. - M., 2002.215 s. - Bibliogr.: p. 202-213. -04200201565.

Bibliographic Description of a Document from the Internet

1. Bychkova L.S. Constructivism // Cultural Studies 20th Century - "K". - ([http // www.philosophy.ru / edu / ref / enc / k.htm](http://www.philosophy.ru/edu/ref/enc/k.htm) 1).

2. The psychology of meaning: nature, structure and dynamics Leontieva D.A. - First ed. - 1999. - ([http // www.smysl.ru / annot.php](http://www.smysl.ru/annot.php)).

When preparing article literature, it is necessary to provide a complete list of authors of the publication (without etc.).

If there are notes in the text, then after the main text the heading "**Notes**" is typed in the center, and the text of the notes, numbered by a number in the form of a superscript (for example 1) in the order of links in the text, is placed in a line. The link to the notes in the main text is drawn up not in bold, but as a superscript (for example, ... of model 1).

Tables are placed on the text. The numbering of the tables is carried out in the order of links in the text. The numbering heading of the table is typed in bold with left justification (for example, Table 1). The thematic title (if any) is typed on the same line in bold with left justification. The link to the table in the main text is made in bold in brackets - for example, (table 1). If the table has a large volume, it can be placed on a separate page, and in the case when it has a significant width - on a page with landscape orientation.

Figures are placed on the text. Numbering of figures is made in the order of links in the text. The numbering heading is typed in bold and centered (for example, Figure 1). Thematic title (if available). - in the same line immediately after the numbering line (for example, Figure 1 – Dependence ...).

The link to the figure in the main text is made in bold in brackets - for example (Figure 1). If the picture has a large format, it should be placed on a separate page, and in the case when it has a significant width - on a page with landscape orientation. Pictures can be scanned from the original (150 spi in grayscale) or executed by computer graphics. It is allowed, and in the case of illustrations of a large volume (file), the placement of

figures in a separate file of the electronic version is welcome. Captions for drawings should be made directly below the drawing.

Attached to the article:

- cover letter (for third-party organizations)

- conclusions of at least two experts:

1) from the expert commission of the Research Institute for Biological Safety Problems (internal expertise);

2) from independent experts of third-party specialized organizations (external expertise);

3) for articles in English - from an independent expert in areas from among the foreign editorial and expert council of the scientific and practical journal of RIBSP “Биоқауіпсіздік және Биотехнология/Биобезопасность и Биотехнология”.

- information about the author: surname, name and patronymic (in full), academic degree, position, place of work, contact phones, address for correspondence (e-mail).

Payment should be made after passing the examination and receiving a review of the article. The payment for the publication of 1 article for Kazakhstani scientists and researchers is 2 monthly calculation indexes, for authors from foreign countries – \$ 15 US.

Articles that do not meet the specified requirements are not accepted for publication.

Our address:

15, B. Momysuly street, u.t.s. of Gvardeyskiy, Korday district, Zhambyl region, 080409.

RSE “Research Institute for Biological Safety Problems” SC MES RK

Scientific and Educational Training Center (SETC), tel. (726-36) 7-22-28, int. 112. e-mail: [unots@](mailto:unots@biosafety.kz)

biosafety.kz

Details for payment of publication:

Beneficiary: RSE at REM “Scientific Research Institute of Biological Safety Problems” of the Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan

BIC of bank: HSBKKZKX

IC: KZ656010131000155334

BC: 16

PPC: 859

Payment destination: Publication of an article in a scientific and practical journal «Биоқауіпсіздік және Биотехнология/Биобезопасность и Биотехнология».



НИИПБЗ

Научно-исследовательский
институт проблем
биологической безопасности

**Ғылыми журнал
БИОҚАУПСІЗДІК ЖӘНЕ БИОТЕХНОЛОГИЯ**

**Научный журнал
БИОБЕЗОПАСНОСТЬ И БИОТЕХНОЛОГИЯ**

**The scientific journal
BIOSAFETY AND BIOTECHNOLOGY**

*Корректорлар: Г.А. Абильдаева, Г.Э. Каюпова
Беттеуші дизайнер: Адал Қалибекұлы*

Басуға 22.04.2020 ж. қол қойылды.
Форматы 60x88 ¹/₈. Офсеттік басылым.
Қаріп түрі "Times New Roman".
Баспа табағы 13,75.
Таралымы 200 дана.