

БИОҚАУІПСІЗДІК ЖӘНЕ БИОТЕХНОЛОГИЯ

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

**БИОБЕЗОПАСНОСТЬ
И БИОТЕХНОЛОГИЯ**



THE SCIENTIFIC JOURNAL

**BIO SAFETY AND
BIOTECHNOLOGY**

www.biosafety.kz

2025 • 22



Редакция алқасы:

Закарья К.Д., б.ғ.д., профессор (бас редактор) (Қазақстан)
Абдураимов Е.О., в.ғ.д., профессор (бас редактордың орынбасары) (Қазақстан)
Faez Awad, PhD (Ливия)
Орынбаев М.Б., в.ғ.к., профессор, академик (Қазақстан)
Айтназаров Р.Б., PhD (Ресей)
Сұлтанқұлова К.Т., б.ғ.к., профессор (Қазақстан)
Кутумбетов Л.Б., в.ғ.д., профессор (Қазақстан)
Ершебулов З.Д., PhD (Қазақстан)
Еспембетов Б.А., в.ғ.к., профессор (Қазақстан)
Жүгүнісов Қ.Д., PhD (Қазақстан)
Нұрғазиев Р.З., в.ғ.д., профессор (Қырғызстан)
Булатов Е.А., б.ғ.к., профессор (Қазақстан)
Risatti G., PhD, профессор (АҚШ)
Қошметов Ж.Қ., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)
Қасенов М.М., в.ғ.к., профессор (Қазақстан)
Скиба Ю.А., б.ғ.к. (Қазақстан)
Жапаркулова К.А., PhD (Қазақстан)
Абеуов Х.Б., в.ғ.к., профессор (Қазақстан)
Gorge O., PhD (Франция)
Червякова О.В., б.ғ.к., профессор (Қазақстан)
Стукова М.А., PhD (Ресей)
Наханов А.Қ., б.ғ.к. профессор (Қазақстан)
Рсалиев А.С., PhD, профессор (Қазақстан)
Тұрусбеков Е.К., б.ғ.к., профессор (Қазақстан)
Абугалиева С.И., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)
Гультяева Е.И., б.ғ.д., доцент (Ресей)

Құрылтайшы: «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС

Қазақстан Республикасының Ақпарат және қоғамдық даму министрлігінің Ақпарат комитетінде

20.11.2019 ж.

№KZ33V00017380 куәлікпен тіркелген
 Мерзімділігі: жылына 4 рет.
 Редакцияның мекен-жайы 080409,
 Жамбыл облысы, Қордай ауданы,
 Гвардейский қтк.,
 Б. Момышұлы к-сі, 15. тел. (726-36) 7-22-28
 www: biosafety.kz, E-mail:
journal@biosafety.kz

© Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты, 2025

Редакционная коллегия:

Закарья К.Д., д.б.н., профессор (главный редактор) (Казахстан)
Абдураимов Е.О., д.в.н., профессор (заместитель главного редактора) (Казахстан)
Faez Awad, PhD (Ливия)
Орынбаев М.Б., к.в.н., профессор, академик (Казахстан)
Айтназаров Р.Б., PhD (Россия)
Султанкулова К.Т., к.б.н., профессор (Казахстан)
Кутумбетов Л.Б., д.в.н. профессор (Казахстан)
Ершебулов З.Д., PhD (Казахстан)
Еспембетов Б.А., к.в.н., профессор (Казахстан)
Жүгүнісов К.Д., PhD (Казахстан)
Нурғазиев Р.З., д.в.н., профессор (Кыргызстан)
Булатов Е.А., к.б.н., профессор (Казахстан)
Risatti G., PhD, профессор (США)
Кошметов Ж.К., д.б.н., профессор (Казахстан)
Касенов М.М., к.в.н., профессор (Казахстан)
Скиба Ю.А., к.б.н. (Казахстан)
Жапаркулова К.А., PhD (Казахстан)
Абеуов Х.Б., к.в.н., профессор (Казахстан)
Gorge O., PhD (Франция)
Червякова О.В., к.б.н., профессор (Казахстан)
Стукова М.А., PhD (Россия)
Наханов А.К., к.б.н., профессор (Казахстан)
Рсалиев А.С., PhD, профессор (Казахстан)
Тұрусбеков Е.К., к.б.н., профессор (Казахстан)
Абугалиева С.И., д.б.н., профессор (Казахстан)
Гультяева Е.И., д.б.н., доцент (Россия)

Учредитель: ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности»

Зарегистрирован в Комитете информации Министерства информации и общественного развития Республики Казахстан свидетельством

№KZ33V00017380 от 20.11.2019 г.

Периодичность: 4 раза в год.

Адрес редакции 080409,
 Жамбылская область, Кордайский район,
 пгт. Гвардейский,

Ул. Б. Момышұлы, 15. тел. (726-36) 7-22-28

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

© Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, 2025

Editorial board:

Zakarya K.D., D.B.Sci., Prof, (editor-in-chief) (Kazakhstan)
Abduraimov Ye.O., D.V.Sci., Prof (deputy chief editor) (Kazakhstan)
Faez Awad, PhD, (Libya)
Orynbayev M.B., PhD, Prof, Academician (Kazakhstan)
Aitnazarov R.B., PhD (Russia)
Sultankulova K.T., PhD, Prof (Kazakhstan)
Kutumbetov L.B., D.V.Sci., Prof (Kazakhstan)
Yershebulov Z.D., PhD (Kazakhstan)
Yespembetov B.A., PhD, Prof (Kazakhstan)
Zhugunissov K.D., PhD (Kazakhstan)
Nurgaziev R.Z., D.V.Sci., Prof (Kyrgyzstan)
Bulatov Y. A., PhD, Prof (Kazakhstan)
Risatti G., PhD, Prof (USA)
Koshemetov Zh.K., D.B.Sci., Prof (Kazakhstan)
Kassenov M.M., PhD, Prof (Kazakhstan)
Skiba Y.A., PhD, (Kazakhstan)
Zhaparkulova K.A., PhD, (Kazakhstan)
Abeuov Kh.B., PhD, Prof (Kazakhstan)
Gorge O., PhD (France)
Chervyakova O.V., PhD, Prof (Kazakhstan)
Stukova M.A., PhD (Russia)
Nakhanov A.K., PhD, Prof (Kazakhstan)
Rsaliev A.S., PhD, Prof (Kazakhstan)
Turuspekov Ye.K., PhD, Prof (Kazakhstan)
Abugalieva S.I., D.B.Sci., Prof (Kazakhstan)
Gultyayeva E.I., D.B.Sci., As.Prof (Russia)

Founder: LLP «Research Institute for Biological Safety Problems» Registered with the Information Committee of the Ministry of Information and Public Development of the RK with the Certificate **№KZ33V00017380** dated

20.11.2019

Frequency: 4 times a year.

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

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

7-22-28

www: biosafety.kz, E-mail:

journal@biosafety.kz

© Research institute of biosafety problems, 2025



МАЗМУНЫ

А.Д. Мауленбай	4
ҚАЗАҚСТАНДАҒЫ ЖАПЫРАҚ ЖӘНЕ САБАҚ ТАТЫ ҚОЗДЫРҒЫШТАРЫНЫҢ АЛУАНТҮРЛІЛІГІ МЕН ВИРУЛЕНТТІЛІГІ	
С.С. Килибаев, М.К. Кенжебаева, М. Мамбеталиев, М.А. Азанбекова, А.Д. Валиева, Н.А. Сарсенкулова, М.С. Туысканова, Д.И. Музарап, Ш.Т. Табыс, Б.Б. Кадырова, А.А. Ашимова, К.Д. Жугунисов	12
НЬЮКАСЛ АУРУЫНЫҢ ВИРУЛЕНТТІ ШТАМЫН ТАУЫҚ ЭМБРИОНЫНДА ЖАҢАРТУ ЖӘНЕ ОНЫҢ ПАТОГЕНДІ ҚАСИЕТІН БАЛАПАНДАРДА ТЕКСЕРУ	
К.Б. Баракбаев, А.Б. Алиева, О.Н. Серикбайов, Д.Б. Айдарбекова, Е.Қ. Алмас	20
ЖАНУАРЛАРДЫҢ ПАСТЕРЕЛЛЕЗИНЕ ҚАРСЫ ВАКЦИНАНЫҢ ҚАУІПСІЗДІГІ МЕН ИММУНОГЕНДІЛІГІН ЗЕРТТЕУ	
М.Р. Юсупов, А.Т. Арысбекова, К.С. Бегасыл, А.А. Адамбаева, Р.Б. Айтлесова, Н. Ж. Көшкінбай, А.С. Нурпейсова, Ж.С. Абай, М.М. Касенов	30
ЕМДЕУ-ПРОФИЛАКТИКАЛЫҚ ПРЕПАРАТТАҒЫ БЕЛСЕНДІ СУБСТАНЦИЯНЫ САНДЫҚ АНЫҚТАУДЫҢ ЖТСХ ӘДІСІН ВАЛИДАЦИЯЛАУ	
А.Т. Жунушов	36
ҚЫРҒЫЗСТАНДА НЬЮКАСЛ АУРУЫНЫҢ ТАРАЛУЫ ЖӘНЕ АЛДЫН АЛУ	
Бердибаева А.Б.	46
ЛИОФИЛИЗАЦИЯ ҮДЕРІСІНІҢ НЕГІЗГІ ПРИНЦИПТЕРІ МЕН ТЕХНОЛОГИЯЛЫҚ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІ	
АВТОРЛАР ТУРАЛЫ МӘЛІМЕТ	53
ЖУРНАЛДА ЖАРИЯЛАУ ҮШІН МАҚАЛАЛАРҒА ҚОЙЫЛАТЫН ТАЛАПТАР	55

СОДЕРЖАНИЕ

А.Д. Мауленбай	4
РАЗНООБРАЗИЕ И ВИРУЛЕНТНОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ ЛИСТОВОЙ И СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНЫ В КАЗАХСТАНЕ	
С.С. Килибаев, М.К. Кенжебаева, М. Мамбеталиев, М.А. Азанбекова, А.Д. Валиева, Н.А. Сарсенкулова, М.С. Туысканова, Д.И. Музарап, Ш.Т. Табыс, Б.Б. Кадырова, А.А. Ашимова, К.Д. Жугунисов	12
ОСВЕЖЕНИЕ ВИРУЛЕНТНОГО ШТАММА ВИРУСА БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА В КУРИНЫХ ЭМБРИОНАХ И ПРОВЕРКА ЕГО ПАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ НА ЦЫПЛЯТАХ	
К.Б. Баракбаев, А.Б. Алиева, О.Н. Серикбайов, Д.Б. Айдарбекова, Е.Қ. Алмас	20
ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ И ИММУНОГЕННОСТИ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ	
М.Р. Юсупов, А.Т. Арысбекова, К.С. Бегасыл, А.А. Адамбаева, Р.Б. Айтлесова, Н. Ж. Кошкинбай, А.С. Нурпейсова, Ж.С. Абай, М.М. Касенов	30
ВАЛИДАЦИЯ ВЭЖХ-МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОЙ СУБСТАНЦИИ В ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ ПРЕПАРАТЕ	
А.Т. Жунушов	36
РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА В КЫРГЫЗСТАНЕ	
А.Б. Бердибаева	46
ЭПИДЕМИОЛОГИЯ И ПУТИ ПЕРЕДАЧИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ЛИХОРАДКИ ЗАПАДНОГО НИЛА	
ДАННЫЕ ОБ АВТОРАХ	53
ТРЕБОВАНИЯ К НАУЧНЫМ СТАТЬЯМ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В ЖУРНАЛЕ	55

CONTENTS

Maulenbay A.	4
DIVERSITY AND VIRULENCE OF LEAF AND STEM RUST PATHOGENS OF WHEAT IN KAZAKHSTAN	
S.S. Kilibaev, M.K. Kenzhebaeva, M. Mambetaliev, M.A. Azanbekova, A.D. Valieva, N.A. Sarsenkulova, M.S. Tuyskanova, D.I. Muzarap, Sh.T. Tabys, B.B. Kadyrova, A.A. Ashimova, K.D. Zhugunisov	12
REFRESHMENT OF A VIRULENTIC STRAIN OF NEWCASTLE DISEASE VIRUS IN CHICKEN EMBRYOS AND TESTING ITS PATHOGENIC PROPERTIES ON CHICKENS	
Barakbayev K.B., Alieva A.B., Serikbayov O.N., Aidarbekova D.B., Almas E.K.	20
STUDY OF SAFETY AND IMMUNOGENICITY OF ANIMAL PASTEURELLOSIS VACCINE	
M. Yusupov, A. Arysbekova, K.S. Begasyl, A.A. Adambayeva, R.B. Aitlesova, N. J. Koshkinbai, A.S. Nurpeisova, J.S. Abai, M.M. Kasenov	30
VALIDATION OF HPLC, A METHOD FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF AN ACTIVE SUBSTANCE IN A THERAPEUTIC AND PROPHYLACTIC DRUG	
A.T. Zhunushov	36
PREVALENCE AND PREVENTION OF NEWCASTLE DISEASE IN KYRGYZSTAN	
Berdibaeva A.B.	46
KEY PRINCIPLES AND TECHNOLOGICAL FEATURES OF THE LYOPHILIZATION PROCESS	
AUTHORS' INFORMATION	53
AUTHOR INSTRUCTIONS TO THE JOURNAL	55

DIVERSITY AND VIRULENCE OF LEAF AND STEM RUST PATHOGENS OF WHEAT IN KAZAKHSTAN

Maulenbay A. 

LLP «Research Institute for Biological Safety Problems», National holding «QazBioPharm»,
Gvardeysky, Kazakhstan

* a.maulenbay@biosafety.kz

Abstract. Phytosanitary security is crucial for ensuring the food and national security of Kazakhstan, especially in combating high-risk cereal diseases like leaf rust and stem rust. This study assessed the virulence and race composition of *Puccinia triticina* and *Puccinia graminis* populations collected from different regions of Kazakhstan. A total of 30 isolates of leaf and 31 isolates of stem rust were analyzed against Lr- and Sr- near-isogenic lines to determine the effectiveness of resistance genes. Results revealed significant variability in race composition and virulence between northern and southern populations, with some races identified as common to both regions.

Keywords: leaf rust, stem rust, wheat, race, resistance.

INTRODUCTION

Phytosanitary security is a vital part of the country's food security, helping to prevent the spread of dangerous crop diseases. Tackling these challenges involves identifying threats, understanding current conditions, and implementing measures to control high-risk diseases in cereal crops. A modern approach includes developing high-yield, disease-resistant cereal varieties using advanced breeding, plant pathology, molecular genetics, and genomics techniques [1-4].

However, wheat production faces significant threats from various fungal diseases, with leaf rust and stem rust being among the most destructive. Leaf rust, caused by the biotrophic fungus *Puccinia triticina*, is a widespread and common disease of bread wheat. In Kazakhstan, leaf rust occurs annually, especially in the northern, eastern, and western regions where adequate moisture levels favor the disease's proliferation on spring wheat crops. Between 2001 and 2016, leaf rust developed epidemically eight times, either alone or alongside septoria, significantly impacting wheat yield [6]. The majority of commercial wheat varieties grown in Kazakhstan lack resistance, resulting in severe outbreaks that can affect up to 1.5-2.0 million hectares, reducing yields by 15-20% during years of early onset and aggressive spread [7].

Similarly, stem rust, caused by *Puccinia graminis* has historically been the most damaging wheat disease worldwide. In 2015 and 2016, a major stem rust epidemic struck the northern regions of Kazakhstan and the adjacent Omsk region of Russia, affecting approximately one million hectares in Kazakhstan and two million hectares in Russia [8]. The disease resurfaced in 2017-2018, affecting northern and eastern Kazakhstan as well as the Omsk, Novosibirsk, and Altai regions of Russia, leading to marked reductions in yield and grain quality [9]. During this period, disease severity and incidence in Kazakhstan's main wheat-growing areas reached unprecedented levels of up to 90% and 70%, respectively, highlighting the urgent need for improved management strategies and resistant wheat varieties [10].

Addressing the threats posed by these diseases is critical for ensuring sustainable wheat production and food security in Kazakhstan. Developing high-yielding, disease-resistant wheat varieties through advanced breeding techniques, plant pathology, molecular genetics, and genomics is a modern approach that offers a promising solution to these challenges. Population studies of wheat pathogens are a crucial step in developing scientifically coordinated breeding strategies and deploying resistant varieties. The use of genetically uniform donors in breeding often leads to a rapid loss of resistance due to the emergence of new races and changes in the phenotypic composition of pathogen populations. Additionally, the effectiveness of the same resistance gene can vary between regions, depending on the composition of the pathogen population [7]. The relevance of studying wheat rust populations is further

heightened by ongoing changes in wheat production. This study aims to assess the status of wheat rusts in Kazakhstan and evaluate potential strategies for enhancing wheat resilience against these pervasive threats.

MATERIALS AND METHODS

Sampling of pathogen populations, including biotrophic and hemibiotrophic pathogens of cereal crops, was conducted in the southern and northern regions of Kazakhstan on commercial fields and experimental plots. The collection and propagation of single-pustule isolates of *P. tritici* and *P. graminis* were carried out under greenhouse conditions according to established protocols [11]. To determine the race composition and virulence of leaf rust populations, 20 near-isogenic lines of Thatcher with Lr genes (TcLr) were used [12]. Stem rust races were identified using the North American nomenclature, which is based on five sets of near-isogenic lines [13].

The letter codes for races, virulence frequencies of populations, and fungal race indices, as well as genetic distance indices, were determined using the Virulence Analysis Tools (VAT) software package [14]. Multidimensional diagrams were generated using Principal Coordinates Analysis (PCoA) in the GeneAIEx software package [15] to assess genetic distances among pathogen populations based on virulence profiles. PCoA allowed for the visualization of relationships and clustering patterns, highlighting the degree of similarity or divergence in virulence structure between regional populations. To analyze virulence, the Virulence Analysis Tools (VAT) software package was used. It calculates the frequencies of virulent isolates, diversity indices (Shannon, Nei, and Kosman), and genetic distances between populations, which served as the basis for clustering and population structure analysis. Intra-population diversity was assessed using Nei's (Hs), Shannon's (Sh), and Kosman's (KW) indices. To evaluate inter-population differences in virulence, Nei's (N) and Rogers' (R) distance indices were applied. Additionally, the Gst index was used to estimate genetic differentiation among populations [15].

RESULTS

A total of 30 isolates of the pathogen *P. tritici* were propagated from herbarium samples of wheat, and 31 isolates of *P. graminis* were similarly obtained from herbarium samples of wheat and barley, collected in the Kostanay, Turkestan, and Zhambyl regions of Kazakhstan (Table 1).

Table 1 – Origin and number of single-pustule isolates of *Puccinia tritici* and *Puccinia graminis*

Region	District (village, organization)	Culture (variety)	Number of isolates, pcs	
			<i>P. tritici</i>	<i>P. graminis</i>
Zhambyl	Baizaksky (Akzhar, commercial fields)	Spring wheat (unknown)	10	8
Turkestan	Tulkibassky (Tausagyz, production field)	Spring wheat (unknown)	10	8
Kostanay	Karabalyksky (Scientific, Karabalyk AES)	Spring wheat (unknown)	10	6
		Spring barley (Virage)	0	5
		Spring barley (Giant)	0	4
Total			30	31

Using the isolated *P. tritici* and *P. graminis* isolates, the virulence of wheat leaf and stem rust populations was evaluated using Lr and Sr near-isogenic lines. Lr near-isogenic lines were inoculated with single-pustule leaf rust isolates in greenhouse compartments enabled the assessment of the virulence potential of these fungal populations (Table 2).

Table 2 – Virulence frequency of leaf rust populations to isogenic Lr -lines

Lines with genes	Frequency of isolates (%) virulent to Lr near-isogenic lines (regions):		
	Kostanay	Turkestan	Zhambyl
Ts Lr1	100	100	100
Ts Lr2a	100	100	100

Ts Lr2c	100	100	100
Ts Lr3 a	100	100	100
Ts Lr9	0	0	0
Ts Lr16	100	100	100
Ts Lr24	0	0	0
Ts Lr26	50	50	40
Ts Lr3ka	70	70	60
Ts Lr11	100	100	100
Ts Lr17	100	100	100
Ts Lr30	80	70	70
Ts Lr19	10	0	20
Ts Lr20	100	100	100
Ts Lr25	0	20	10
Ts Lr29	0	0	0
Ts Lr2b	100	100	100
Ts Lr3bg	100	100	100
Ts Lr14a	100	100	100
Ts Lr15	100	100	100

Among the twenty Lr lines used for virulence analysis, five showed variability in infection type when inoculated with different leaf rust populations. All tested isolates were avirulent on the lines TcLr9, TcLr24 and TcLr29; virulent to TcLr1, TcLr2a, TcLr2c, TcLr3a, TcLr16, TcLr11, TcLr17, TcLr20, TcLr2b, TcLr3bg, TcLr14a and TcLr15. The frequency of isolates virulent to lines with the genes TcLr3ka and TcLr30 was high across all populations, reaching 60-80%. The coefficients of variation in the frequency of isolates virulent to TcLr26 ranged from 40-50%. Lines TcLr19 and TcLr25 showed strong resistance, with 80–100% of isolates failing to cause infection. Based on the experimental results, the genes TcLr9, TcLr19, TcLr24, TcLr25, and TcLr29 were identified as effective against various pathogen populations (Table 2).

The characteristics of intra-population diversity of leaf rust based on statistical indices are presented in Table 3.

Table 3 – Table 3 – Characteristics of intra-population diversity of *Puccinia triticina* based on virulence

Indexes	Populations		
	Kostanay	Turkestan	Zhambyl
Hs	0.071	0.083	0.094
Sh	0.676	0.593	0.556
KW _m	0.110	0.130	0.140

According to the three diversity indices—Shannon (Sh), Nei (Hs), and Kosman (KW_m)—populations from Zhambyl (Hs = 0.094; KW_m = 0.140) and Kostanay (Sh = 0.676) regions showed relatively high heterogeneity.

Stem rust populations from three regions of Kazakhstan showed high virulence against lines with the genes Sr5, Sr21, Sr7b, Sr9g, Sr36, Sr17, Sr9a, Sr9d, Sr10, SrTmp, Sr38 and SrMcN across all populations (Table 4). Virulence to Sr9e and Sr6 was lower in the southern regions (12.5-62.5%) compared to the Kostanay region (40.0-86.7%). Virulent isolates of the pathogen to Sr8a were found in all populations with a frequency of 13.3-50.0%.

Table 4 – Virulence frequency of stem rust populations to isogenic S r -lines

Lines with genes	Frequency of isolates (%) virulent to Sr -lineages in populations (areas):		
	Kostanay	Turkestan	Zhambyl
Sr5	100.0	100.0	100.0
Sr21	93.3	100.0	100.0
Sr9e	40.0	12.5	25.0
Sr7b	73.3	75.0	87.5

Sr11	0.0	0.0	0.0
Sr6	86.7	62.5	50.0
Sr8a	13.3	37.5	50.0
Sr9g	100.0	100.0	100.0
Sr36	66.7	75.0	87.5
Sr9b	40.0	62.5	62.5
Sr30	0.0	0.0	0.0
Sr17	100.0	100.0	100.0
Sr9a	100.0	100.0	100.0
Sr9d	100.0	100.0	100.0
Sr10	86.7	75.0	87.5
SrTmp	73.3	75.0	87.5
Sr24	0.0	0.0	0.0
Sr31	0.0	0.0	0.0
Sr38	80.0	100.0	100.0
SrMcN	100.0	100.0	100.0

Intrapopulation diversity of populations and statistical indices of differences between populations of *P. graminis* are presented in Table 5.

Table 5 – Characteristics of intra-population diversity of *Puccinia graminis* based on virulence

Indexes	Populations		
	Kostanay	Turkestan	Zhambyl
Hs	0.166	0.156	0.136
Sh	0.625	0.635	0.583
KW _m	0.233	0.225	0.213

The results indicate that intra-population diversity in phenotypic composition is higher in the Kostanay region (Hs=0.166; Sh=0.625; KW_m=0.233) and comparatively lower in the southern regions (Hs=0.136-0.156; Sh=0.583-0.635; KW_m=0.213-0.225).

Analysis of 30 single-pustule isolates of *P. tritici* in Kazakhstan's regions identified seven races of the fungus, which were unevenly distributed among the populations (Table 6). Out of the total races found, only two were present in all studied populations, although with varying frequencies. Among them, race TGKGT, which is avirulent to Lr9, Lr24, Lr26, Lr3ka, Lr19, Lr25, and Lr29, was frequently observed in all regions (30-40%), and race THSGT, avirulent to Lr9, Lr24, Lr30, Lr19, Lr25, and Lr29, appeared at a frequency of 20-30%.

Additionally, two other races were found in two of the studied regions: TGTGT, which is avirulent to Lr9, Lr24, Lr26, Lr19, Lr25, and Lr29, was detected in the Kostanay and Turkestan regions, while race THTJT, avirulent to Lr9, Lr24, Lr19, and Lr29, was found in the southern regions of the country.

Unique races, absent from other populations, were identified in two of the studied regions, often represented by single isolates, though there were exceptions. Race TGTQT, found in the Zhambyl region population at a frequency of 20%, was absent in other populations. Races THTQT and THTGT were found only in the Kostanay population (10–20%) and not detected elsewhere.

Table 6 – Frequency of leaf rust races in populations from different regions of Kazakhstan

Races	Avirulence to Thatcher lines with <i>Lr</i> genes	Frequency of occurrence of races (%) in populations:		
		Kostanay	Turkestan	Zhambyl
TGKGT	9, 24, 26, 3ka, 19, 25, 29	30	30	40
THSGT	9, 24, 30, 19, 25, 29	20	30	30
TGTGT	9, 24, 26, 19, 25, 29	20	20	0
THTJT	9, 24, 19, 29	0	20	10
TGTQT	9, 24, 26, 25, 29	0	0	20
THTGT	9, 24 19, 25, 29	20	0	0

THTQT	9, 24, 25, 29	10	0	0
-------	---------------	----	---	---

Most of the identified races were registered in the population from the Kostanay region, with samples collected near wheat fields at the Karabalyk Agricultural Research Station.

The summary results of the study on the race composition of Kazakhstan's *P. triticina* populations are presented in Figure 1.

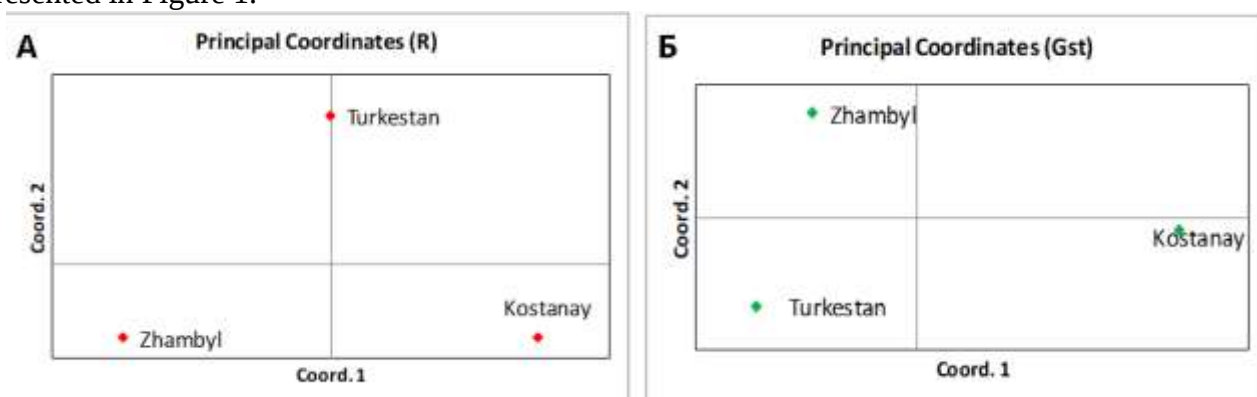


Figure 1 – Multivariate similarity diagram of regional populations of *Puccinia triticina* in Kazakhstan by Rogers (A) and Gst (B) indices

According to Rogers' index (R), the regional populations of *P. triticina* were differentiated into groups on a multidimensional diagram: northern (Kostanay) and southern Kazakhstan (Turkestan and Zhambyl) (Figure 1A). Similar results were obtained using the genetic distance index Gst (Figure 1B).

Analysis of 31 single-pustule isolates of *P. graminis* identified six races of stem rust, each having 10 to 14 virulence genes (Table 7). The frequency of these races varied significantly among the regional populations studied. Out of all the races detected in Kazakhstan, only two races, QHHSF and THMTF, were found in all the populations studied. In the northern regions, races RHMRF, RFRTF, THMTC, and MHCTC were also observed, comprising 6.7-13.3% of the population.

In the southern regions of Kazakhstan, where winter wheat predominates, stem rust occurs less frequently than in other regions. Urediniospore samples of *P. graminis* were collected in the Turkestan and Zhambyl regions. Analysis of the isolates from this region identified four races, with RFRTF being the predominant race (37.5-50.0%). The races QHHSF, THMTF, and RHMRF (12.5-25.0%) were also found and were present in the Kostanay region as well.

Table 7 – Frequency of occurrence of stem rust races in populations in the regions of Kazakhstan

Races	Avirulence to Sr genes	Frequency of occurrence of races (%) in populations:		
		Kostanay	Turkestan	Zhambyl
QHHSF	9e, 7b, 11, 8a, 36, 30, Tmp, 24, 31	26.7	25.0	12.5
THMT	11, 8a, 9b, 30, 24, 31	26.7	12.5	25.0
RHMRF	9e, 11, 8a, 9b, 30, 10, 24, 31	13.3	25.0	12.5
RFRTF	9th, 11th, 6th, 30th, 24th, 31st	13.3	37.5	50.0
THMTC	11, 8a, 9b, 30, 24, 31, 38	13.3	0,0	0,0
MHCTC	21, 9e, 11, 8a, 36, 9b, 30, 24, 31, 38	6.7	0,0	0,0

The races of *P. graminis* identified in the regions of Kazakhstan were mostly avirulent to lines with genes Sr11, Sr24, Sr30, and Sr31.

The multidimensional similarity diagram between regional populations, based on Rogers' index values, which characterize the differences in population structure by race composition, is presented in Figure 2.

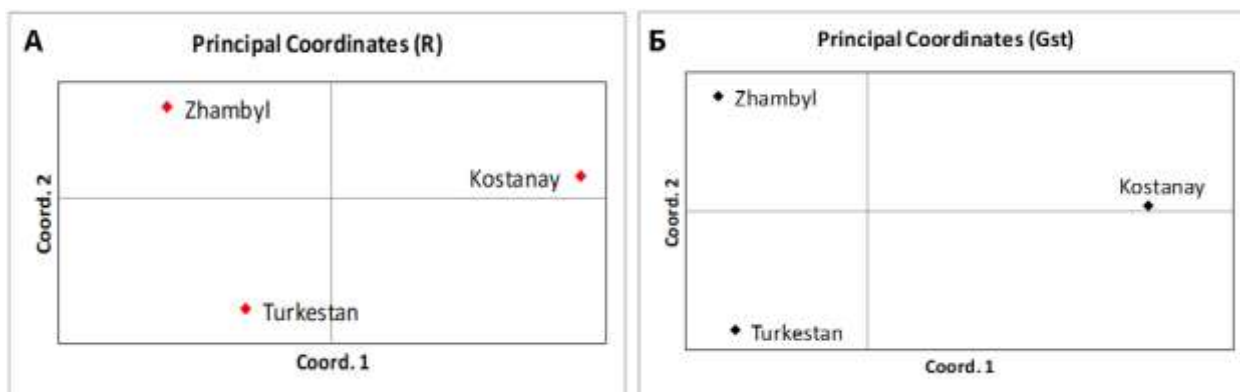


Figure 2 – Multivariate similarity diagram of regional populations of *Puccinia graminis* f. sp. tritici in Kazakhstan based on Rogers (A) and Gst (B) indices

The studied regional population samples were grouped into two clusters. One cluster included the Kostanay population, while the second cluster consisted of the Turkestan and Zhambyl populations (Figure 2A). A similar differentiation of the Kazakhstani regional populations of *P. graminis* was observed using the Gst index (Figure 2B).

DISCUSSION

It has been previously noted that *P. tritici* populations from the southern and northern regions of Kazakhstan show high similarity in virulence and race composition [16]. In our previous studies, we identified the effective genes TcLr19, TcLr24, TcLr25, and TcLr29, for which the number of isolates capable of overcoming resistance conferred by these genes was low. Notably, virulent races of the pathogen against lines with Lr9 and Lr19 genes were first detected in Kazakhstan in 2005-2006 [17]. The low genetic differentiation observed may result from spore dispersal by air currents due to the absence of geographical barriers between northern and southern Kazakhstan [18]. Additionally, in 2017, high genetic similarity was observed between the Omsk and North Kazakhstan populations, while the Chelyabinsk population showed moderate similarity [7]. The full life cycle development of the pathogen may also be facilitated by the presence of the alternate hosts, *Isopyrum fumarioides* or *Thalictrum* spp., in the regions of Kazakhstan. Consequently, the high infectious potential of the fungus, sustained in nature on the alternate host, does not rule out the mass occurrence of leaf rust under favorable conditions [18].

To assess the relationship between races identified in Kazakhstan and known global races, the findings were compared with published data. The race QHHSF, found in all regions of Kazakhstan, has also been reported in the Omsk and Novosibirsk regions of Russia. As a result, some Kazakh races were found to be identical to those in Western Siberia and the Altai Krai of Russia; for example, the RFRTF race has been registered in the Omsk region of Russia [9, 19]. However, in most cases, Kazakh races differ from those found in other regions and countries worldwide. Various variants of the Ug99 race, rapidly spreading in African and Asian countries, have not been detected in Kazakhstan. The races identified in Kazakhstan also do not correspond to the globally widespread TKTTF, TTTTF, TRTTF, and TTRTF races, which have caused epidemics in many countries.

No virulent isolates against the Sr11, Sr30, Sr24, and Sr31 lines were detected in the regions of Kazakhstan. Therefore, in breeding wheat for race-specific immunity, sources of effective resistance genes (Sr11, Sr24, Sr30, and Sr31) against stem rust should be selected. The virulence data of stem rust populations align with studies on virulence from previous years [20].

Most of the predominant races in Kazakhstan are closely related and polymorphic for virulence to specific Sr resistance genes. For example, race THMTF is similar to RHMRF with additional virulence to Sr9e and Sr10, while race RFRTF is virulent to Sr8a, Sr9b, and Sr10 but, unlike RHMRF, is avirulent to Sr6. Race THMTC was identical to MHCTC with additional virulence to Sr21, Sr9e, and Sr36. Such single-step changes in virulence are reported to be a key evolutionary process in pathogen populations. The obtained results provide breeders, phytopathologists, and geneticists with new effective tools to enhance breeding programs for developing new resistant wheat varieties.

CONCLUSION

The study evaluated the virulence of wheat leaf rust and stem rust populations against near-isogenic Lr and Sr lines. The most effective lines were those carrying the genes Lr9, Lr19, Lr24, Lr25, and Lr29 for leaf rust resistance, and Sr11, Sr24, Sr30, and Sr31 for stem rust. A total of 7 leaf rust and 6 stem rust races were identified, each with varying frequencies and differing in their virulence levels on differentiator varieties. Races TGKGT and THSGT were found in all studied populations, while races TGTGT and THTJT were present in two regions of Kazakhstan. In addition, stem rust races QHHSF, THMTF, RHMRP, RFRTF, and RKRTF were observed across all studied regions, with additional races THMTC and MHCTC identified in the Kostanay region.

Financing: Supported by the Ministry of Health under the State Assignment: «Services for Ensuring Biological Safety in the Field of Science»

Acknowledgment: We gratefully acknowledge the technical staff of the Laboratory of Phytosanitary Safety for their invaluable assistance with this research.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflicts of interest.

References

1. Cortes L.T., Zhang Z., Yu J. Status and prospects of genome-wide association studies in plants // Plant genome. – 2021. – Vol.14, No.1: e20077. <https://doi.org/10.1002/tpg2.20077>.
2. Korte A., Farlow A. The advantages and limitations of trait analysis with GWAS: a review // Plant Methods. – 2013. – Vol.9, No.1. – P.29. doi:10.1186/1746-4811-9-29.
3. Аbugалиева С.И. Генетическое разнообразие сои (*Glycine max* (L.) Merrill) // Биотехнология. Теория и практика. – 2013. – №4. – С.13-19. <http://dx.doi.org/10.11134/btp.4.2013.2>
4. Туруспеков Е.К. Состояние и перспективы развития молекулярной генетики ячменя в Казахстане // Вестник КазНУ. Серия биологическая. – 2010. - №3(45). – С. 90-96.
5. Turuspekov Y., Doszhanova B., Zatybekov A., Didorenko S., Rsaliev A., Amalova A., Abugaliev S. Marker-trait associations in cereals and legumes collections harvested in Kazakhstan // Breeding Science. – 2019. – Vol. 21, No.2. – P. 30.
6. Койшыбаев М., Чудинов В. А. Селекция яровой пшеницы на устойчивость к видам ржавчины и септориоза в северном казахстане //Генофонд и селекция растений: материалы IV Международной научно-практической конференции (4–6 апреля 2018 г., Новосибирск, Россия).– Новосибирск: ИЦиГ СО РАН, 2018.–420 с.–ISBN 978-5-91291-034-0. – 2018. – С. 164.
7. Гулятьева Е. И., Аристова М. К., Шайдаюк Е. Л., Казарцев И. А. Структура азиатских популяций *Puccinia triticina* по вирулентности и микросателлитным маркерам // Микология и фитопатология – 2017. – Т. 51. №1. - С. 54-59
8. Рсалиев А.С., Рсалиев Ш.С. Основные подходы и достижения в изучении расового состава возбудителя стеблевой ржавчины пшеницы // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2018. Т. 22. С. 967–977.1.
9. Gulyaeva E., Yusov V., Rosova M., Malchikov P., Shayayuk E., Kovalenko N., Wanyera R., Morgounov A., Yskakova G., Rsaliev A. Evaluation of resistance of spring durum wheat germplasm from Russia and Kazakhstan to fungal foliar pathogens // Cereal Research Communications. 2020. Vol. 48. P. 71–79.
10. Койшыбаев М. Болезни пшеницы. Анкара: ФАО, 2018.
11. Roelfs A.P., Singh R.P., Saari E.E. Rust Diseases of Wheat: Concepts and methods of disease management. – Mexico, D.F.: CIMMYT. – 1992. – 81 p.
12. Long D.L., Kolmer J.A. A North American System of Nomenclature for *Puccinia triticina* // Phytopathology. – 1989. – 79. – P.525-529.
13. Roelfs A.P., Martens J.W. An international system of nomenclature for *Puccinia graminis* f.sp. tritici // Phytopathology. – 1988. – Vol. 78. – P.526-533.
14. Kosman E., Dinor A., Herrmann A., Schachtel G.A. Virulence Analysis Tool (VAT) // User Manual. – 2008. <http://www.tau.ac.il/lifesci/departments/plants/memrs/kosman/VAT.html>
15. Peakall R., Smouse P.GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update // Bioinformatics. – 2012. – Vol. 28 (19). – P. 2537-2539.
16. Мауленбай А. Д., Ыскакова Г. Ш., Рсалиев А. Вирулентность и расовый состав *Puccinia triticina* в Казахстане в 2018 г //Вестник науки Казахского агротехнического

университета им. С. Сейфуллина. – 2020. – №. 3. – С. 25-35.

17. Агабаева А. Ч., Рсалиев Ш. С. Патогенные свойства возбудителя листовой ржавчины пшеницы (*Puccinia triticiana* Eriks.) в Казахстане // Новости науки Казахстана – 2013. – Вып.1. - С. 66-74

18. Kolmer, J. A., Ordoñez, M. E. Genetic differentiation of *Puccinia triticina* populations in Central Asia and the Caucasus // Phytopathology – 2007. – Vol. 97. №9 - P. 1141-1149

19. Сколотнева Е.С., Келбин В.Н., Моргунов А.И., Бойко Н.И., Шаманин В.П., Салина Е.А. Состав рас Новосибирской популяции *Puccinia graminis* f.sp. tritici // Микология и фитопатология. 2020. Т. 54. С. 49–58.

20. Rsaliev A. et al. Virulence and race structure of *Puccinia graminis* f. sp. tritici in Kazakhstan // Plant Protection Science. – 2020. – Т. 56. – №. 4.

ҚАЗАҚСТАНДАҒЫ ЖАПЫРАҚ ЖӘНЕ САБАҚ ТАТЫ ҚОЗДЫРҒЫШТАРЫНЫҢ АЛУАНТҮРЛІЛІГІ МЕН ВИРУЛЕНТТІЛІГІ

А.Д. Мауленбай 

«Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС,
Гвардейский қтк, Қазақстан
*a.maulenbay@biosafety.kz

Аннотация. Фитосанитариялық қауіпсіздік — Қазақстанның азық-түлік пен ұлттық қауіпсіздігін қамтамасыз етудің маңызды бөлігі. Әсіресе жапырақ және сабақ таты сияқты қауіпті дәнді дақылдар ауруларымен күресте оның маңызы ерекше. Бұл зерттеуде Қазақстанның әртүрлі өңірлерінен жиналған *Puccinia triticina* және *Puccinia graminis* популяцияларының вируленттілігі мен расалық құрамы зерттелді. Барлығы 30 *P. triticina* және 31 *P. graminis* изоляты Lr- және Sr- гендері бар изогендік линияларға қарсы талданып, осы гендердің тиімділігі анықталды. Нәтижелер солтүстік және оңтүстік популяциялар арасындағы расалық құрамы мен вируленттілігінде елеулі айырмашылықтар бар екенін көрсетті, сондай-ақ кейбір расалар екі өңірге де ортақ болып шықты.

Түйін сөздер: жапырақ таты, сабақ таты, бидай, раса, төзімділік.

РАЗНООБРАЗИЕ И ВИРУЛЕНТНОСТЬ ПОПУЛЯЦИЙ ЛИСТОВОЙ И СТЕБЛЕВОЙ РЖАВЧИНЫ В КАЗАХСТАНЕ

А.Д. Мауленбай 

ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности»,
пгт Гвардейский, Казахстан
*a.maulenbay@biosafety.kz

Аннотация. Фитосанитарная безопасность, как неотъемлемая часть продовольственной безопасности страны, имеет ключевое значение для обеспечения биологической и национальной безопасности республики. В настоящем исследовании оценивались вирулентность и расовый состав популяций *Puccinia triticina* и *Puccinia graminis*, собранных в различных регионах Казахстана. Всего было проанализировано 30 изолятов *P. triticina* и 31 изолят *P. graminis* на изогенных линиях с генами устойчивости Lr и Sr с целью определения эффективности указанных генов. Полученные результаты показали значительные различия в расовом составе и вирулентности между северными и южными популяциями; при этом некоторые расы были общими для обоих регионов.

Ключевые слова: листовая ржавчина, стеблевая ржавчина, пшеница, раса, устойчивость.

ОСВЕЖЕНИЕ ВИРУЛЕНТНОГО ШТАММА ВИРУСА БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА В КУРИНЫХ ЭМБРИОНАХ И ПРОВЕРКА ЕГО ПАТОГЕННЫХ СВОЙСТВ НА ЦЫПЛЯТАХ

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

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

*s.kilibayev@biosafety.kz

Аннотация. Поддержание штаммов в рабочем состоянии, сохранение их ценных свойств являются важными условиями практически любой работы с микроорганизмами – от первичного изучения до использования их в производстве различных биопрепаратов. В связи с этим в данной статье представлены результаты исследования по освежению штамма возбудителя одного из таких инфекционных заболеваний, как вирулентный вирус болезни Ньюкасла (ВБН) в развивающиеся куриных эмбрионах (РКЭ) и определение его патогенной активности на цыплятах.

За 9 лет хранения биологическая активность штамма «Т-53» ВБН снизилась до 1,74 lg ЭИД₅₀/мл. В результате проведенных трех последовательных пассажей в РКЭ биологическая активность штамма повысилась до приемлемого уровня, который позволяет длительному хранению. Затем наработанная вирусосодержащая суспензия (ВСС) лиофилизирована с добавлением защитной среды согласно паспортным данным штамма. Качество лиофильно высушенного штамма оценено по следующим основным показателям, таким как: внешний вид, наличие посторонней примеси, плесени и трещин ампул, наличие вакуума, растворимость, концентрации водородных ионов, массовая доля влаги, стерильность в отношении бактериальных, грибковых и микоплазменных контаминантов, биологическая активность и патогенность.

Проверка показала соответствие физико-химических и биологических свойств освеженного образца штамма «Т-53» ВБН с данными, заложенными в паспорте штамма.

Ключевые слова: вирус, штамм, болезнь Ньюкасла, патогенность, освежение, защитная среда, лиофилизация.

Введение. Среди инфекционных болезней, наносящих значительный экономический ущерб птицеводству, особое место занимает болезнь Ньюкасла (БН) из-за его высокой контагиозности [1]. Последние годы вирус болезни Ньюкасла представляет повышенный интерес не только из-за высокого потенциала патогенности, но и вследствие обнаружения его онколитической способности и использованием в качестве вектора вакцины как для людей, так и для животных [2, 3].

Вирус болезни Ньюкасла относится к отряду *Mononegavirales*, семейству *Paramyxoviridae*, подсемейству *Paramyxovirinae* и роду *Avulavirus* [4, 5]. Это оболочечный вирус, содержащий одноцепочечный РНК-геном с отрицательной полярностью который состоит из 15 200 нуклеотидов, содержащий шесть генов, кодирующих семь белков [6, 7]. Род *Avulavirus* делится на девять серотипов на основе анализов торможения гемагглютинации (РТГА) и торможения нейраминидазы. ВБН относится к серотипу 1 птичьих парамиксовирусов [8, 9].

Вирус относительно стабилен в природе даже при субоптимальной температуре и широком диапазоне pH. Однако было замечено, что ВБН становится нестабильным при температуре 56 °C [3]. Вирус чувствителен к липидосодержащим веществам, детергентам, формальдегиду и окислителям [10].

С целью применения в обеспечении биологической безопасности страны, в коллекции микроорганизмов ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической

безопасности» хранятся и поддерживаются возбудители ряда инфекций, используемые для разработки профилактических и диагностических средств против опасных инфекций. Эти штаммы микроорганизмов периодически подвергаются проверке остаточной биологической активности и по необходимости освежаются на чувствительных системах культивирования. Необходимость сохранения оригинальных штаммов вирусов на многие десятилетия без изменений их первоначальных свойств как молекулярной, антигенной и генетической структуры, иммуногенной потенции, являются важными условиями практически любой работы с микроорганизмами от первичного изучения до использования их в производстве различных биопрепаратов.

В связи с этим, освежение и поддержание вирулентного (контрольного) штамма ВБН в высокоактивном состоянии является немаловажной частью при производстве вакцинных и диагностических препаратов.

Цель исследования: Восстановление биологических свойств контрольного штамма ВБН путем освежения в чувствительной системе культивирования с последующей проверкой его физико-химических, биологических свойств на соответствие с паспортными данными.

Материалы и методы исследования

Проверка остаточной биологической активности патогенного вируса болезни Ньюкасла и его освежение

Для проведения исследований был использован вирулентный штамм «Т-53» вируса болезни Ньюкасла, хранящийся в условиях коллекции в течение 9 лет. В начальном этапе исследования определена остаточная биологическая активность штамма методом титрования на 11 сут. РКЭ. Для титрования приготовлены разведения штамма вируса по общепринятой методике от 10^{-1} до 10^{-8} и разведениями вируса заражены в аллантоисную полость (АП) РКЭ в объеме по 0,1 мл. Титр вируса оценивали в реакции гемагглютинации (РГА) качественным методом с использованием 1 % взвеси эритроцитов петуха [11].

Освежение штамма проведено на 11 сут. РКЭ путем 3 последовательных пассажей.

Титр вируса вычисляли по методу Reed L.J. и Muench H.A. [12]. Проверка на контаминацию бактериальных, грибковых микрофлор и микоплазм проводили согласно ГОСТ 28085 [13].

Лиофилизация, технический и биологический контроль освеженного штамма вируса болезни Ньюкасла

До лиофильного высушивания к наработанной освеженной вирусосодержащей суспензии добавляли защитную среду (обезжиренное молоко КРС) в соотношении 1:1 и разлили по ампулам и высушивали. Лиофилизацию проводили в течение 22 - 24 часов в лиофильной установке (Labconco, США) в автоматическом режиме при температуре минус 45-50 °С с уровнем вакуума в камере лиофильной сушки 25 - 45 Па. После высушивания ампулы запаивали при остаточном давлении 15 - 30 Па на карусельно-коллекторном аппарате. Наличие вакуума в запаиваемых ампулах проверяли по ГОСТ 28083–2012, массовой доли влаги штамма - по ГОСТ 24061, бактериологический контроль стерильности - по ГОСТ 28085 [13].

Опыты на цыплятах

Для оценки патогенных свойств штамма опыты проведены на цыплятах 45 сут. возраста в специальных помещениях-вивариях, которые соответствуют условиям биологической безопасности (ABSL-2) для окружающей среды и персонала. Перед опытом сыворотки крови цыплят были исследованы на наличие вирус нейтрализующих антител против болезни Ньюкасла в РТГА с использованием эритроцитов петуха [14]. Патогенность на цыплятах определяли методом титрования от 10^{-1} до 10^{-9} разведением вируса на каждое разведения по 4 гол серонегативных к вирусу цыплят, которым вирус вводили внутримышечно в область груди по 1 мл. Содержание инфицированных цыплят проводили в разных боксах вивария в соответствии с разведением вируса. В течение опыта ежедневно проводили наблюдение за инфицированными цыплятами. При этом внимание обращали на общее состояние цыплят, на наличие клинических признаков болезни, аппетит и т.п. Инфекционную активность вируса рассчитывали по методу Reed L.J. и Muench H.A. [12] и выражали в $\lg \text{ЛД}_{50}/\text{см}^3$.

Биоэтика

Все эксперименты на животных проводились в соответствии с требованиями биоэтики по работе с лабораторными животными. План эксперимента был утвержден локальной комиссией по биоэтике Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности

(протокол №2 от 25 июня 2024 года).

Результаты

Определение остаточной биологической активности и освежение вирулентного штамма «Т-53» вируса болезни Ньюкасла

Остаточную биологическую активность штамма «Т-53» ВБН определяли методом титрования вируса на 11 сут. РКЭ. Титр активности вируса определяли в РГА по наличию гемагглютининов в аллантоисной жидкости инфицированных эмбрионов. Результаты опыта представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Биологическая активность образцов штамма вируса болезни Ньюкасла на 11 сут РКЭ

Наименование штамма	Биологическая активность, lg ЭИД ₅₀ /мл			
	исходная по паспорту	остаточная	вирусодержащей суспензии до сушки	после сушки
«Т-53»	8,44± 0,8 РГА 1:512	6,70 ± 0,14 РГА 1:256	8,45 ± 0,14 РГА 1:512	8,23 ± 0,17 РГА 1:512

Из данных таблицы 1 видно, что за период хранения остаточная биологическая активность вирулентного штамма «Т-53» вируса болезни Ньюкасла составила (6,70 ± 0,14) lg ЭИД₅₀/мл с гемагглютинирующей активностью 1:256, при исходной биологической активности – 8,44 lg ЭИД₅₀/мл. При этом за 9 лет хранения активность штамма снизилось на 1,74 lg.

С целью освежения штамма вируса было проведено 3 последовательные пассажи на РКЭ 11 сут. возраста. В результате чего титр вируса повысился до (8,45 ± 0,14) lgЭИД₅₀/мл с геммагглютинирующей активностью 1:512. Проверка вирусосодержащей суспензии освеженного штамма на контаминацию бактериальными, грибковыми микрофлорами и микоплазмами показала стерильность в отношении выше указанных контаминантов.

Для подготовки штамма к долгосрочному хранению, наработанную вирусную суспензию в асептических условиях объединили с защитной средой в соотношении 1:1 и лиофилизировали. Ампулы с высушенным вирусным материалом запаивали на аппарате при остаточном давлении 15-30 Па. Запаиваемые ампулы проверяли визуально на отсутствие трещин и на наличие вакуума аппаратом Д'Арсонваля. При этом в ампулах отмечены фиолетовое свечение с потрескивающим звуком, что свидетельствовало о наличии вакуума. Растворимость лиофильно высушенного штамма вируса на физиологическом растворе хлористого натрия составил 90 сек., а pH среды – 7,4. Остаточная массовая доля влаги в материале составила 2,6 %. Биологическая активность высушенного образца штамма составила (8,23±0,17) lg ЭИД₅₀/мл с титром гемагглютинирующей активности 1:512.

Проверка патогенных свойств освеженного штамма «Т-53» вируса болезни Ньюкасла на цыплятах

Для проверки патогенных свойств освеженного штамма ВБН использовали цыплят 45 сут. возраста, которых инфицировали заранее приготовленными на физиологическом растворе десятикратными разведениями от 10⁻¹ до 10⁻⁹. Каждое разведение вируса ввели 4 цыплятам внутримышечного (в грудную мышцу) по 1 мл. За инфицированными цыплятами вели наблюдение в течении 14 сут.

Результаты титрования вируса на цыплятах представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Патогенная активность освеженного штамма «Т-53» вируса болезни Ньюкасла для цыплят

Наименование штамма, дата изготовления и кол-во пассажа	В/М заражение цыплят по 1 мл в область грудинки (разведение вируса)									Биолог. активн., lg ЛД ₅₀
	10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	
«Т-53» от 17.07.2024 г. 8-пасс. на РКЭ	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ ++	++ -+	-- --	8,25

Примечания:

1 «-» - отрицательный результат;

2 «+» - положительный результат.

Как видно из данных таблицы 2, что титр патогенной активности свежего штамма «Т-53» ВБН на 45 сут. цыплятах составил $8,25 \lg \text{ЛД}_{50}/\text{мл}$. При этом цыплята, зараженные разведениями вируса от 10^{-1} до 10^{-5} погибли на 6 сут., а остальные цыплята на 7 и 8 сут. У зараженных цыплят наблюдались признаки, характерные для болезни Ньюкасла, как вялость, угнетение, отказ от корма и воды, затем они через один день или два погибали (рис. А, Б). На 5 сутки после заражения у цыплят были взяты смывы из носовой полости и при исследовании которых в РГА установлено наличие гемагглютининов с активностью 1:8-1:32, что свидетельствовало о присутствии вируса в организме инфицированных цыплят. Цыплята, зараженные разведением вируса 10^{-9} , оставались живыми на протяжении всего срока наблюдения.



А - больные цыплята после заражения, Б – гибель цыплят на 6-8 сут. после заражения

Рисунок. Клиническая картина зараженных штаммом «Т-53» вируса болезни Ньюкасла цыплят

Обсуждение

В своей работе ученые коллекции микроорганизмов ежедневно сталкиваются с потребностью сохранять микроорганизмы в течение длительного времени. Основными целями хранения является поддержание штаммов возбудителей инфекционных заболеваний в высокоактивной форме и чистоте культур, а также предупреждение изменений их свойств и мутаций, т.е. сохранение микроорганизма в состоянии, максимально близком к исходному выделенному штамму [15]. В этом случае, процесс лиофилизирования позволяет в течение нескольких лет сохранять биологические свойства бактерий, вирусов таких как вирулентность, антигенность и культурально-биохимические свойства. Стабилизирует на длительное время иммуногенную активность живых микробов и вирусных вакцин, активных и специфичных диагностических сывороток, и антигенов, а также обеспечивает стандартность товарного вида препаратов и длительное сохранение их биологической активности [16-18].

Исследуемый штамм «Т-53» вируса болезни Ньюкасла выделен из патологических биоматериалов доставленных из Томилинской птицефабрики в Всесоюзном научно-исследовательском институте ветеринарной вирусологии и микробиологии МСХ СССР в 1991 год, который используется в качестве антигена входящих в набор препаратов на основе моноклональных антител для дифференциальной диагностики болезни Ньюкасла твердофазным иммуноферментным методом [19-20], а также используется в качестве контрольного штамма для определения напряженности иммунитета у вакцинированных птиц, при разработке вакцины против данной инфекции [21-22]. В связи с этим поддержание штамма «Т-53» вируса болезни Ньюкасла в высокоактивной форме является одним из основных задач коллекции. При хранении штамма вируса в лиофилизированном виде за 9 лет биологическая активность снизилась на $1,74 \lg \text{ЭИД}_{50}$. Как известно, на длительность сохранения штаммов микроорганизмов своих иммунобиологических свойств влияют такие факторы как агрегатное состояние биоматериала, температура их хранения, состав стабилизирующей среды и др. [23]. Испытанный нами штамм «Т-53» вируса болезни Ньюкасла был освежен и изготовлен в 2015 г. с добавлением защитной

среды, состоящей из обезжиренного молока КРС в соотношении с ВСС 1:1 и хранился при минус 40 °С, что позволило довольно хорошо сохранить основные биологические свойства штамма за период хранения. Результаты наших исследований по проверке патогенной активности штамма на цыплятах свидетельствуют о сохранении после освежения своих основных биологических характеристик.

Заключение

На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Установлено, что за 9 лет хранения активность штамм «Т-53» вируса болезни Ньюкасла снизилось на 1,74 lg, при исходной биологической активности – 8,44 lg ЭИД₅₀/мл. Трехкратное пассирование на РКЭ позволило восстановлению исходной активности штамма ((8,23 ± 0,17) lg ЭИД₅₀/мл с титром РГА 1:512), уровень которой позволяет длительному хранению без освежения;

2. При оценке патогенных свойств освеженного образца штамма «Т-53» вируса болезни Ньюкасла установлено, что титр составляет 8,25 lg ЛД₅₀. У инфицированных цыплят наблюдаются клинические признаки болезни, характерные для болезни Ньюкасла.

3. Освеженный штамм «Т-53» вируса болезни Ньюкасла соответствует параметрам, заложенным в паспорте штамма.

Благодарности: Авторы выражают благодарность Б.И. Бектурову за помощь в проведении научно-исследовательских работ.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Литература:

1. OIE, Office of International Epizootics, Manual of Diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Newcastle disease // Truszczyński Eds. OIE standard commission publication, 2004 version, part 2, section 2.1 chapter 2.1.15.

2. Hines N. L., Miller C. L. Avian Paramyxovirus serotype-1: review of disease distribution, clinical symptoms and laboratory diagnostics // Veterinary medicine international volume .-2012.- 17 p. doi:10.1155/2012/708216

3. Ganar K., Das M., Sinha S., Kumaret S. Newcastle disease virus: Current status and our understanding // Virus Research, 2014. – (184). – P. 71-81

4. Liu X.F., Wan H.Q., Wu Y.T. Pathotypical and genotypical characterization of strains of Newcastle disease virus isolated from outbreaks in chicken and goose flocks in some regions of China during -1985–2001.//Arch Virol -2003.-148. – P. 1387-1403

5. Susta L., Miller P.J., Afonso C.L., Estevez C., Yu Q., Zhang J., Brown C.C. Pathogenicity evaluation of different Newcastle disease virus chimeras in 4-week-old chickens // Trop. Anim. Health Prod. – 2010. 42:1785–1795

6. Collins P.L., Hightower L.E., Ball L.A. Transcriptional map for Newcastle disease virus // J. Virol.- 1980. 35:682–693

7. Seal B.S., King D.J., Sellers H.S. The avian response to Newcastle disease virus // Dev. Comp. Immunol. - 2000. 24:257–268

8. Alexander D.J. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses // Rev Sci Tech., 2000 Aug;19(2):443-62. doi: 10.20506/rst.19.2.1231. PMID: 10935273.

9. Alexander D.J. Newcastle disease and other avian Paramyxoviridae infections. In Diseases of poultry, 10th Ed. / B.W. Calnek with H.J. Barnes, C.W. Beard, L.R. McDougald & Y.M. Saif, eds // Mosby-Wolfe, London, 1997. - P. 541-570.

10. Болезнь Ньюкасла 2024 Merck & Co., Inc., Рахвей, Нью-Джерси, США, и ее подразделения [Электрон.ресурс]. - URL: <https://www.msd-animal-health-poultry.ru/disease/bolezni-nyukasla/>

11. Коровин Р.Н., Зеленский В.П., Грошева Г.А. Лабораторная диагностики болезней птиц // Москва «Агропромиздат». – 1989. – С. 17.

12. Reed, I.J. A simple method of estimating fifty per cent endpoints [Text] / I.J. Reed // Am. J. Hyg., 1938. – Vol.27. – P. 493-497.

13. Средства лекарственные биологические для ветеринарного применения. ГОСТ 28085-2013.

14. Методические указания по определению уровня антител к вирусу ньюкаслской болезни

в реакции торможения гемагглютинации (РТГА) // Болезни птиц. – 1997. – № 13. – С. 448-453.

15. Шмыленко В.А., Бондаренко А.П. Методические подходы к решению проблемы сохранения прихотливых микроорганизмов // Дальневосточный Журнал Инфекционной Патологии, 2018. — №34

16. Токарик Э.Ф., Ковальская Л.А., Скотникова Т.А. и др. Методические подходы к конструированию защитных сред для живых вирусных вакцин // Научные основы производства ветеринарных препаратов. – М., 1989. – С. 17-21.

17. Токарик Э.Ф., Ковальская Л.А., Константинов В.М. Методы статистического анализа в исследованиях по стабилизации вирусных вакцин. Достижения и перспективы развития криобиологии и криомедицины // Тезисы докл. Межд. конф. Харьков, 1988. – С. 56.

18. Глущенко А. В. Биологические свойства вирусов болезни Ньюкасла, выделенных из природных резервуаров среди диких птиц в различных регионах России в 2008-2018 гг./ Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук // А. В. Глущенко. – Владимир, 2022. – С. 87

19. Виткова О.Н. Сравнительное изучение чувствительности и специфичности иммуноферментного анализа с хемилюминисцентной и колориметрической детекцией для выявления антигенов и антител к вирусам гриппа птиц и болезни Ньюкасла. / О.Н. Виткова, О.В. Капустина, Т.П. Лобова и др. // Вопросы вирусологии, 2015. – 60 (6). – С.41-45.

20. Капустина О.В. Разработка и совершенствование средств и методов контроля особо опасных инфекций, вызываемых вирусами порядка *Mononegavirales* / Диссертация на соискание ученой степени доктора ветеринарных наук // О.В. Капустина. – Вольгинский, 2016. – С. 104-143.

21. Кенжебаева М.К., Матраимов М.Б., Мамбеталиев М. Получение термостабильного варианта вируса Ньюкаслской болезни и изучение его иммунобиологических свойств / Наука, новые технологии и инновации Кыргызстана, Бишкек, 2016. - №3. – С.74-77.

22. Битов Н.Т., Мамадалиев С.М., Далбаев Н.К., Кыдырбаев Ж.К. Троицкий Е.Н. Изучение возможности получения и применения пылевидной вакцины против болезни Ньюкасла / НИСХИ., пгт. Гвардейский, 1998. - Биотехнология. Теория и практика. №1-2 (5-6) с. 31-33

23. Мұзарап Д.И., Табыс Ш.Т., Сәрсенқұлова Н.А., Кенжебаева М.К., Мамбеталиев М., Наханов А.К., Жугунисов К.Д., Эрганиш О. Освежение вирулентного штамма вируса парагриппа-3 крупного рогатого скота в культуре клеток и проверка патогенных свойств на целевых животных // Микробиология және вирусология, 2023. - №3 (42). - www.imv-journal.kz

References:

1. OIE, Office of International Epizootics, Manual of Diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Newcastle disease // Trusczynski Eds. OIE standard commission publication, 2004 version, part 2, section 2.1 chapter 2.1.15.

2. Hines N. L., Miller C. L. Avian Paramyxovirus serotype-1: review of disease distribution, clinical symptoms and laboratory diagnostics // Veterinary medicine international volume .-2012.- 17 p. doi:10.1155/2012/708216

3. Ganar K., Das M., Sinha S., Kumaret S. Newcastle disease virus: Current status and our understanding // Virus Research, 2014. – (184). – P. 71-81

4. Liu X.F, Wan H.Q, Wu Y.T. Pathotypical and genotypical characterization of strains of Newcastle disease virus isolated from outbreaks in chicken and goose flocks in some regions of China during -1985–2001.//Arch Virol -2003.-148. – P. 1387-1403

5. Susta L., Miller P.J., Afonso C.L., Estevez C., Yu Q., Zhang J., Brown C.C. Pathogenicity evaluation of different Newcastle disease virus chimeras in 4-week-old chickens // Trop. Anim. Health Prod. – 2010. 42:1785–1795

6. Collins P.L., Hightower L.E., Ball L.A. Transcriptional map for Newcastle disease virus // J. Virol.- 1980. 35:682–693

7. Seal B.S., King D.J., Sellers H.S. The avian response to Newcastle disease virus // Dev. Comp. Immunol. - 2000. 24:257–268

8. Alexander D.J. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses // Rev Sci Tech., 2000 Aug;19(2):443-62. doi: 10.20506/rst.19.2.1231. PMID: 10935273.

9. Alexander D.J. Newcastle disease and other avian Paramyxoviridae infections. In Diseases of poultry, 10th Ed. / B.W. Calnek with H.J. Barnes, C.W. Beard, L.R. McDougald & Y.M. Saif, eds //

Mosby-Wolfe, London, 1997. - P. 541-570.

10. Bolezn' N'yukasla 2024 Merck & Co., Inc., Rakhvey, N'yu-Dzhersi, SSHA, i yeye podrazdeleniya [Электрон.ресурс]. - URL: <https://www.msd-animal-health-poultry.ru/disease/bolezni-nyukasla/>

11. Korovin R.N., Zelenskiy V.P., Grosheva G.A. Laboratornaya diagnostiki bolezney ptits // Moskva «Agropromizdat». – 1989. – S. 17.

12. Reed, I.J. A simple method of estimating fifty per cent endpoints [Text] / I.J. Reed // Am. J. Hyd., 1938. – Vol.27. – P. 493-497.

13. Sredstva lekarstvennyye biologicheskiye dlya veterinarnogo primeneniya. GOST 28085-2013.

14. Metodicheskiye ukazaniya po opredeleniyu urovnya antitel k virusu n'yukaslskoy bolezni v reaktsii tormozheniya gemagglutinatsii (RTGA) // Bolezni ptits. – 1997. – № 13. – S. 448-453.

15. Shmylenko V.A., Bondarenko A.P. Metodicheskiye podkhody k resheniyu problemy sokhraneniya prikhodivnykh mikroorganizmov // Dal'nevostochnyy Zhurnal Infektsionnoy Patologii, 2018. — №34

16. Tokarik E.F., Koval'skaya L.A., Skotnikova T.A. i dr. Metodicheskiye podkhody k konstruirovaniyu zashchitnykh sred dlya zhivnykh virusnykh vaktsin // Nauchnyye osnovy proizvodstva veterinarnykh preparatov. – M., 1989. – S. 17-21.

17. Tokarik E.F., Koval'skaya L.A., Konstantinov V.M. Metody statisticheskogo analiza v issledovaniyakh po stabilizatsii virusnykh vaktsin. Dostizheniya i perspektivy razvitiya kriobiologii i kriomeditsiny // Tezisy dokl. Mezhd. konf. Khar'kov, 1988. – S. 56.

18. Glushchenko A. V. Biologicheskiye svoystva virusov bolezni N'yukasla, vydelennykh iz prirodnykh rezervuarov sredi dikikh ptits v razlichnykh regionakh Rossii v 2008-2018 gg./ Dissertatsiya na soiskaniye uchenoy stepeni kandidata biologicheskikh nauk // A. V. Glushchenko. – Vladimir, 2022. – S. 87

19. Vitkova O.N. Sravnitel'noye izucheniye chuvstvitel'nosti i spetsifichnosti immunofermentnogo analiza s khemilyuminiscentnoy i kolorimetricheskoy detektsiyey dlya vyyavleniya antigenov i antitel k virusam grippa ptits i bolezni N'yukasla. / O.N. Vitkova, O.V. Kapustina, T.P. Lobova i dr. // Voprosy virusologii, 2015. – 60 (6). – S.41-45.

20. Kapustina O.V. Razrabotka i sovershenstvovaniye sredstv i metodov kontrolya osobo opasnykh infektsiy, vyzyvayemykh virusami poryadka Mononegavirales / Dissertatsiya na soiskaniye uchenoy stepeni doktora veterinarnykh nauk // O.V. Kapustina. – Vol'ginskiy, 2016. – S. 104-143.

21. Kenzhebayeva M.K., Matraimov M.B., Mambetaliyev M. Polucheniye termostabil'nogo varianta virusa N'yukaslskoy bolezni i izucheniye yego immunobiologicheskikh svoystv / Nauka, novyye tekhnologii i innovatsii Kyrgyzstana, Bishkek, 2016. - №3. – S.74-77.

22. Bitov N.T., Mamadaliyev S.M., Dalbayev N.K., Kydyrbayev ZH.K. Troitskiy Ye.N. Izucheniye vozmozhnosti polucheniya i primeneniya pylevidnoy vaktsiny protiv bolezni N'yukasla / NISKHI., pg. Gvardeyskiy, 1998. - Biotekhnologiya. Teoriya i praktika. №1-2 (5-6) s. 31-33

23. Mūzarap D.I., Tabys SH.T., Sərsenkūlova N.A., Kenzhebayeva M.K., Mambetaliyev M., Nakhanov A.K., Zhugunisov K.D., Erganish O. Osvezheniye virulentnogo shtamma virusa paragripa-3 krupnogo rogatogo skota v kul'ture kletok i proverka patogennykh svoystv na tselevykh zhivotnykh // Mikrobiologiya zhəne virusologiya, 2023. - №3 (42). - www.imv-journal.kz

НЬЮКАСЛ АУРУЫНЫҢ ВИРУЛЕНТТІ ШТАМЫН ТАУЫҚ ЭМБРИОНЫНДА ЖАҢАРТУ ЖӘНЕ ОНЫҢ ПАТОГЕНДІ ҚАСИЕТІН БАЛАПАНДАРДА ТЕКСЕРУ

**С.С. Килибаев *, М.К. Кенжебаева , М. Мамбеталиев , М.А. Азанбекова ,
А.Д. Валиева , Н.А. Сарсенкулова , М.С. Туысканова , Д.И. Музарap , Ш.Т.
Табыс , Б.Б. Кадырова , А.А. Ашимова , К.Д. Жугунисов **

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

*s.kilibayev@biosafety.kz

Аннотация. Бастапқы зерттеуден бастап, әртүрлі биологиялық өнімдерді өндіріске қолдануға дейін, штамдарды жұмыс жағдайында ұстау және олардың құнды қасиеттерін сақтау микроорганизмдермен кез келген дерлік жұмыстың маңызды шарты болып табылады. Осыған байланысты, бұл мақалада дамып кележатқан тауық эмбриондарында (ДТЭ) Ньюкасла ауруы вирусы (НАВ) сияқты жұқпалы аурулардың қоздырғыш штаммын жаңарту және оның патогендік белсенділігін балапандарда анықтау бойынша зерттеу нәтижелері берілген.

9 жыл сақтау кезінде НАВ-ның Т-53 штаммының биологиялық белсенділігі 1,74 lg ЭИД₅₀/мл дейін төмендеді. ДТЭ-да қатарынан үш рет пассаждау нәтижесінде штамның биологиялық белсенділігі ұзақ сақтауға мүмкіндік беретін қолайлы деңгейге дейін өсті. Содан кейін алынған вирусы бар суспензия (ВБС) штамның паспорттық деректеріне сәйкес қорғаныш ортаны қосу арқылы лиофилизацияланады. Лиофильді кептірілген штамның сапасы келесі негізгі көрсеткіштері: сыртқы түрі, бөгде қоспалардың болмауы, ампулалардың көгеруі және жарықтары, вакуумның болуы, ерігіштігі, сутегі иондарының концентрациясы, ылғалдың массалық үлесі, бактериялық, саңырауқұлақ және микоплазмалық ластаушылардан тазалығы, биологиялық және патогендік белсенділігі бойынша бағаланды.

Тексеру барысында НАВ-ның Т-53 штаммының жаңартылған үлгісі физика-химиялық және биологиялық қасиеттері штамм паспортындағы деректерге сәйкестігін көрсетті.

Негізгі сөздер: вирус, штамм, Ньюкасла ауруы, патогенділік, жаңарту, қорғаныс ортасы, лиофилизация.

REFRESHMENT OF A VIRULENTIC STRAIN OF NEWCASTLE DISEASE VIRUS IN CHICKEN EMBRYOS AND TESTING ITS PATHOGENIC PROPERTIES ON CHICKENS

S.S. Kilibaev^{id}, M.K. Kenzhebaeva^{id}, M. Mambetaliev^{id}, M.A. Azanbekova^{id}, A.D. Valieva^{id}, N.A. Sarsenkulova^{id}, M.S. Tuyskanova^{id}, D.I. Muzarap^{id}, Sh.T. Tabys^{id}, B.B. Kadyrova^{id}, A.A. Ashimova^{id}, K.D. Zhugunisov^{id}

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

*s.kilibayev@biosafety.kz

Abstract. The preservation of strain viability and maintenance of their valuable properties are critical prerequisites for all stages of microorganism research, ranging from initial characterization to their application in the production of various biopreparations. This study investigates the revitalization of the virulent Newcastle disease virus (NDV) strain "T-53" in developing chicken embryos (DCE) and evaluates its pathogenic activity in chicks.

After nine years of storage, the biological activity of the "T-53" NDV strain declined to 1.74 lg EID₅₀/ml. Following three successive passages in DCE, the biological activity of the strain was restored to a level suitable for long-term storage. The virus-containing suspension produced was subsequently lyophilized with the addition of a protective medium in accordance with the strain's passport specifications. The quality of the lyophilized strain was evaluated using several key parameters, including appearance, absence of foreign impurities, mold, and ampoule cracks, presence of vacuum, solubility, pH value, moisture content, sterility against bacterial, fungal, and mycoplasmal contaminants, biological activity, and pathogenicity.

The findings confirmed that the physicochemical and biological properties of the revitalized "T-53" NDV strain correspond to the specifications outlined in its passport, ensuring its suitability for further use and long-term preservation.

Keywords: virus, strain, Newcastle disease, pathogenicity, refreshment, protective environment, lyophilization.

ЖАНУАРЛАРДЫҢ ПАСТЕРЕЛЛЕЗІНЕ ҚАРСЫ ВАКЦИНАНЫҢ ҚАУІПСІЗДІГІ МЕН ИММУНОГЕНДІЛІГІН ЗЕРТТЕУ

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

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

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

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

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

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

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

Кіріспе

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Зерттеу материалдары мен тәсілдері

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

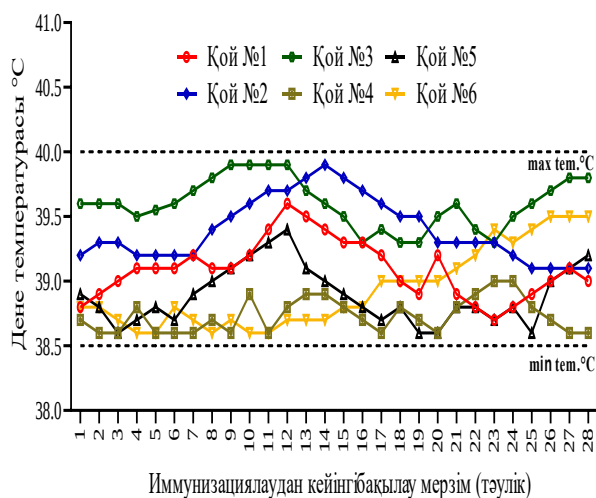
Поливалентті вакциналық препаратпен имундалған жануарларға аналогиялық зерттеулер жүргізілді. Торайларға жамбас бұлшық етінің ішкі бөлігі тері астына $3,5 \text{ см}^3$ көлемінде $3,7 \times 10^7$ к.т.б. дозасы енгізілді. Бақылау тобы ретінде әр түр жануарлардан 1 бастан физиологиялық ерітінді егілді.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

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

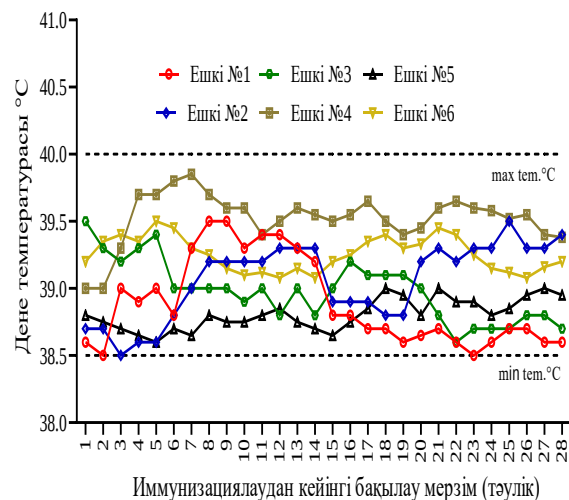
Зерттеу нәтижелері және талқылау

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

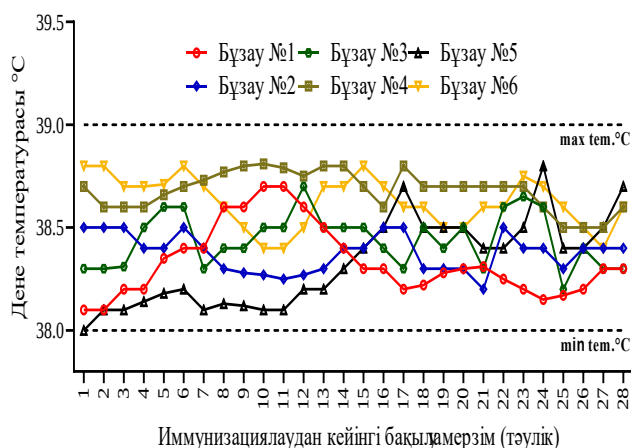
Зерттеу барысында күнделікті (28 тәулікке дейін) дене температурасы өлшеніп, жануарлардың жалпы жағдайы бақылауда болды. Зерттеу нәтижелері 1 және 2 графикте көрсетілген.



А

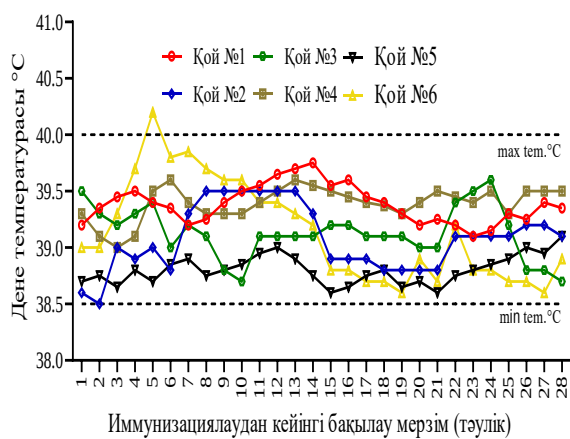


Ә

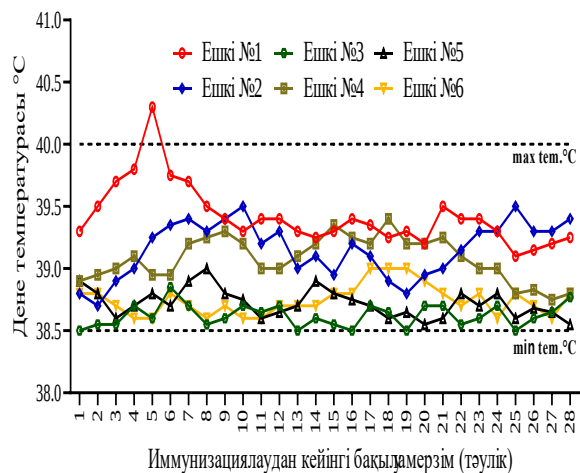


Б

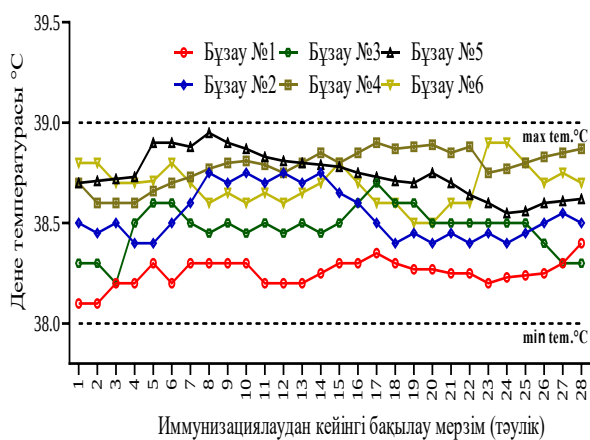
График 1 - Моновалентті препаратпен имундалған жануарлардың дене температурасын бақылау нәтижелері (А – иммунизацияланған Ұойлар; Ә - иммунизацияланған ешкілер; Б - иммунизацияланған бұзаулар)



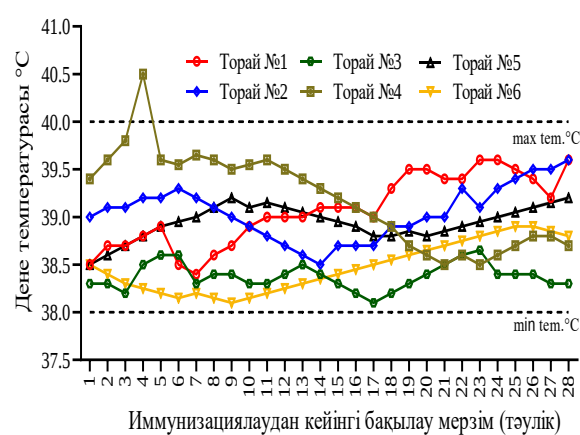
А



Ә



Б



В

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

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

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

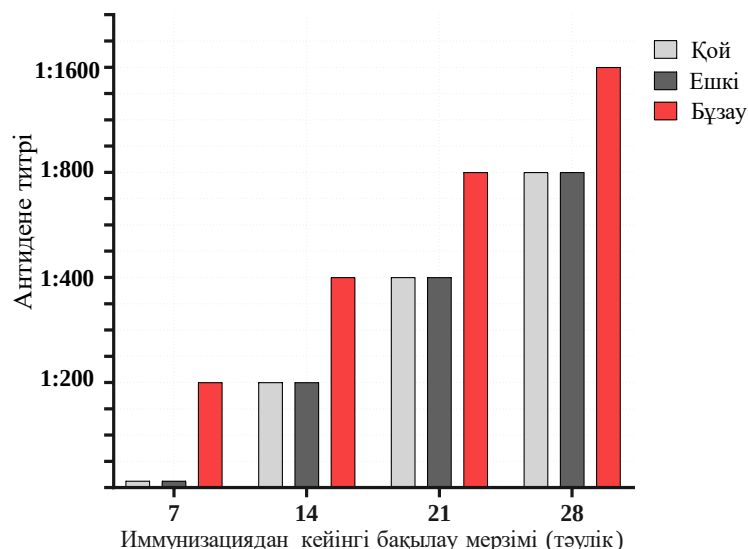


График 3 - Моновалентті вакциналық препаратпен иммундалған жануарлардың иммуноферменттік талдау реакциясындағы антиденелер титрінің көрсеткіштері

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

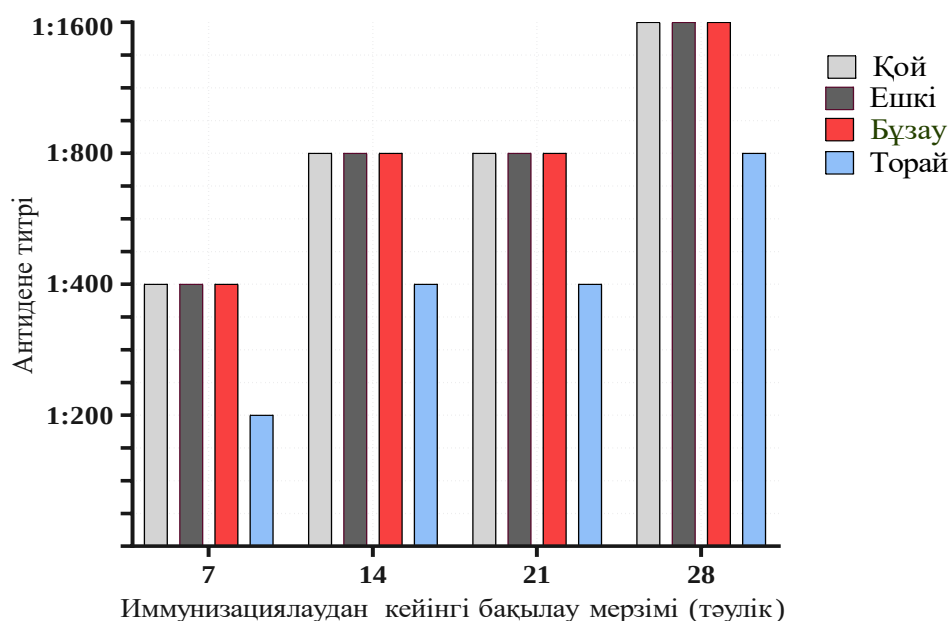
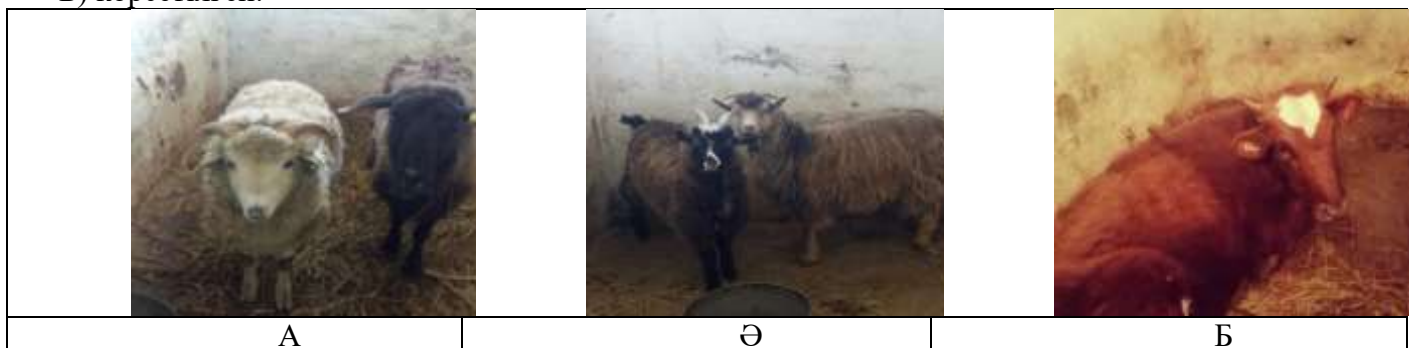


График 4 - Поливалентті вакциналық препаратпен иммундалған жануарлардың иммуноферменттік талдау реакциясындағы антиденелер титрінің көрсеткіштері

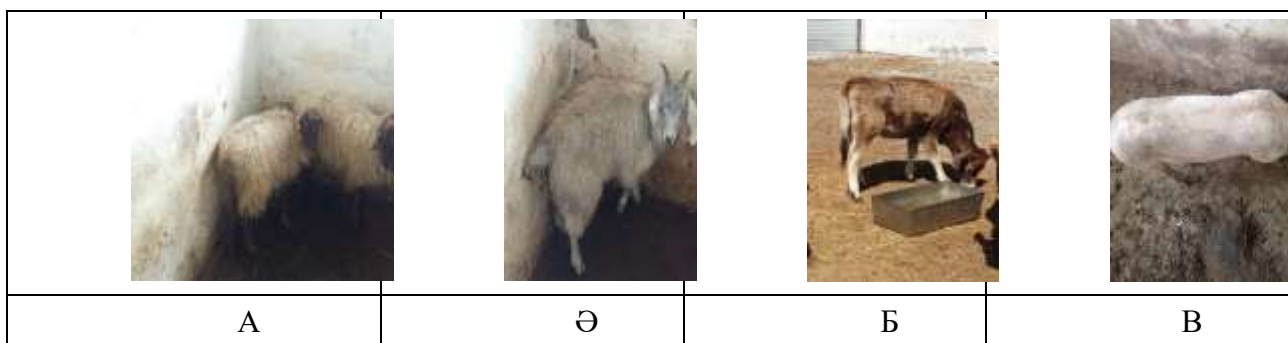
Поливалентті вакциналық препаратпен иммундалған қойлар, ешкілер және бұзауларда иммунизациялаудың 7-ші тәулігінде антиденелер титрі 1:400 көрсетілсе, торайларда 1:1200 титрі тіркелді. Зерттеудің 14 және 21 тәуліктерінде ұсақ және ірі қара малдарда антиденелер титрі

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

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



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



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



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

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

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

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

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

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

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

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

Қорытынды

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

Қолданылған әдебиеттер

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

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

ИЗУЧЕНИЕ БЕЗОПАСНОСТИ И ИММУНОГЕННОСТИ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА ЖИВОТНЫХ

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

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

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

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

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

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

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

STUDY OF SAFETY AND IMMUNOGENICITY OF ANIMAL PASTEURELLOSIS VACCINE

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

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

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

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

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

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

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

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

ВАЛИДАЦИЯ ВЭЖХ-МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АКТИВНОЙ СУБСТАНЦИИ В ЛЕЧЕБНО-ПРОФИЛАКТИЧЕСКОМ ПРЕПАРАТЕ

М.Р.Юсупов^{id}, А.Т.Арысбекова^{id}, К.С. Бегасыл^{id}, А.А. Адамбаева^{id},
Р.Б. Айтлесова^{id}, Н. Ж. Кошкинбай^{id}, А.С. Нурпейсова^{id}, Ж.С. Абай^{id},
М.М. Касенов^{id}

Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт

*malik_imhana@mail.ru

Аннотация. В данной работе рассматриваются принципы и методика валидации аналитического метода, основанного на высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), применяемого для контроля качества и количественного определения активной субстанции в противогельминтном лекарственном средстве.

Описаны ключевые параметры валидации, такие как специфичность, линейность, точность, прецизионность, предел обнаружения и предел количественного определения. Проведённый анализ позволил подтвердить соответствие метода требованиям нормативной документации, что обеспечивает его пригодность для последующего контроля качества препарата. Полученные результаты свидетельствуют о высокой надёжности и воспроизводимости ВЭЖХ-метода в условиях лабораторного контроля фармацевтической продукции. Установлено, что по всем представленным параметрам метод отвечает требованиям нормативных документов.

Ключевые слова: празиквантел, ВЭЖХ, валидация, контроль качества.

Введение Одним из наиболее чувствительных и воспроизводимых методов является высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ). Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) — это один из наиболее широко используемых аналитических методов в фармацевтической промышленности. Благодаря высокой чувствительности, воспроизводимости и возможности применения к широкому спектру веществ, ВЭЖХ является золотым стандартом при контроле качества лекарственных средств. Однако для использования метода в рамках официального контроля необходимо его документально подтверждённое соответствие требованиям надёжности, что достигается валидацией [1 - 3].

ВЭЖХ это один из самых эффективных способов разделения и анализа сложных смесей. Как метод она была открыта в 1903 г. русским ученым-ботаником М.С. Цветом [4]. Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) представляет собой вариант колоночной жидкостной хроматографии, в котором неподвижная фаза (сорбент) обычно состоит из частиц размером менее 10–20 мкм. Малый размер частиц необходим для высокой эффективности разделения, но увеличивает давление, требуемое для прокачивания подвижной фазы через колонку [5].

Цель представленной работы заключается в валидационной оценке аналитического метода количественного определения в лекарственной форме с использованием ВЭЖХ.

Объектом анализа является активная субстанция противогельминтного лекарственного средства — празиквантел, препарат для дегельминтизации домашних и диких плотоядных против эхинококкоза, альвеококкоза, описторхоза и других гельминтозов [5 - 8].

Материалы и методы

В работе использовались приборы:

- жидкостный хроматограф Agilent 1200 Series с колонкой C18;
- рН-метр ионометр С933;
- аналитические весы Precisa, модель 320ХТ.

В составе таблеток «ЦесТремForte» применяемый для дегельминтизации домашних и диких плотоядных против эхинококкоза, альвеококкоза, описторхоза и других гельминтозов, основным действующим веществом является празиквантел и наполнители: сахароза,

карбоксиметицеллюлоза натриевая соль, крахмал кукурузный, кальция стеарат и желатин для покрытия таблеток, с целью улучшения терапевтической активности и пролонгации основного действующего вещества.

500 мг таблетки содержит: активное вещество-празиквантел - 75 мг, наполнители: сахароза -160,0 мг, карбоксиметицеллюлоза (натриевая соль) -0,008 мг, крахмал кукурузный -260,0 мг, кальций стеарат - 0,005 мг и желатин - 4,987.

Определение валидационных параметров метода проводили на модельных смесях таблеток празиквантел в пересчете на одну дозу вещества (75 мг).

Метод количественного определения содержания празиквантела в таблетках.

Около 500 мг (точная навеска) препарата (эквивалентного 75 мг празиквантела) помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляли 20 мл подвижной фазы, перемешивали в течение 15 минут, доводили объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивали. Полученный раствор фильтровали через мембранный фильтр с диаметром пор 0,75 мкм, отбрасывая первые 5 мл фильтрата.

В качестве подвижной фазы (ПФ) использовали ацетонитрил (рН -3.0), в соотношении 45:55. По 20 мкл испытуемого раствора и раствора празиквантела попеременно хроматографировали на жидкостном хроматографе с УФ - детектором, получая не менее пяти хроматограмм, в следующих условиях:

- колонка размером 2.1 x150 мм, заполненная Zorbax XDB C18 с размером частиц 5 мкм;
- подвижная фаза ацетонитрил - вода очищенная (45:55), дегазированная любым удобным способом;
- скорость подвижной фазы 1 мл/мин;
- детектирование при длине волны 210 нм
- температура колонки комнатная.

Содержание празиквантела в одной таблетке (X) в миллиграммах вычисляли, по формуле:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 50 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_0 \cdot 25 \cdot 100} = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot b \cdot P}{S_0 \cdot m_0 \cdot 50}$$

- где S_1 - среднее значение площадей пиков празиквантела, вычисленное из хроматограмм испытуемого раствора;

S_0 - среднее значение площадей пиков празиквантела, вычисленное из хроматограмм СО празиквантела;

m_1 - масса навески препарата в миллиграммах;

m_0 - масса навески СО празиквантела в миллиграммах;

P - содержание празиквантела в СО празиквантела в процентах;

b - средняя масса таблеток в миллиграммах.

Содержание празиквантела в одной таблетке должно быть от 70 до 80 мг, считая на среднюю массу таблетки.

Результаты и обсуждение

На первом этапе для проведения анализа необходимо было подобрать растворитель для извлечения празиквантела из таблеточной массы. В качестве подвижной фазы использовали ацетонитрил. Раствор используется свежеприготовленным виде. Для приготовления подвижной фазы брали ацетонитрил 45 мл, добавляли 55 мл воды.

Около 40 мг (точная навеска) субстанции помещали в мерную колбу вместимостью 10 мл, растворяли в ПФ и доводили объем раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещали 1,0 мл испытуемый раствор это у нас празиквантел и доводили объем раствора ПФ до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещали 1,0 мл полученного раствора и доводили объем раствора ПФ до метки.

Специфичность определяли путем сравнения хроматограмм модельных таблеток. Время удерживания (t_R) исследуемого вещества на хроматограмме СО празиквантела составляет 1,4 минуты. На хроматограммах модельных таблеток празиквантела помимо пика основного вещества с $t_R=1,4$ мин. других пиков не зафиксирован.

Таблица 1 - Результаты определения подлинности празиквантела в препарате «ЦесТремФорте» параметром специфичности

Наименование	Результаты						Отклонение
	1	2	3	4	5	Среднее значение	срСО - срИО
Стандартный образец	1,435	1,435	1,430	1,431	1,433	1,433	0,002
Испытуемый образец	1,433	1,430	1,432	1,432	1,429	1,431	

В качестве критерия идентификации использовали сопоставление времени удерживания основного пика празиквантела на хроматограммах анализируемого образца и стандартного раствора. Совпадение времени удерживания на обеих хроматограммах подтверждает подлинность вещества.

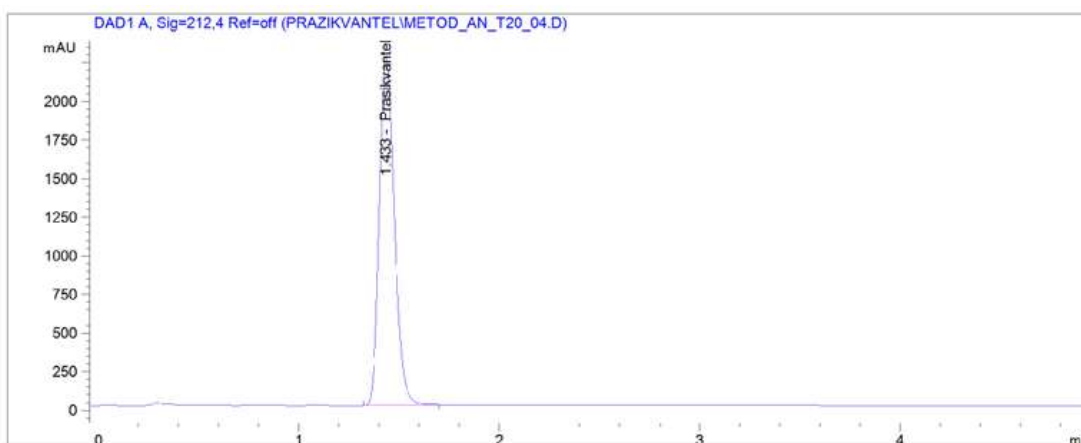


Рисунок 1 - Хроматограмма стандартного образца празиквантела

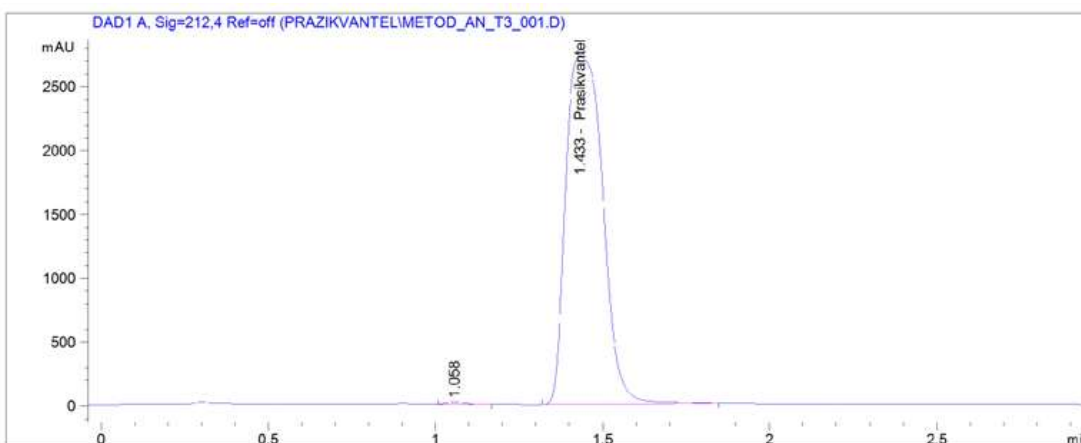


Рисунок 2 - Хроматограмма испытуемого препарата «ЦесТремФорте»

Метод показал хорошую специфичность: в хроматограммах стандартного раствора празиквантела и образца препарата пик основного вещества имел одинаковое время удерживания и не перекрывался с другими пиками, обусловленными вспомогательными веществами. Пик празиквантела был четким, симметричным и хорошо разрешенным, что свидетельствует об отсутствии интерференции со стороны компонентов лекарственной формы.

Линейность определяли путем измерения площади пиков извлечений из 5 образцов модельных смесей таблеток празиквантела действующего вещества 80, 90, 100, 110 и 120 %. Установлено, что аналитическая область метода, находящаяся в диапазоне 60-90 мг, входит в пределы линейной зависимости с коэффициентом корреляции $r=0,999$.

Таблица 2 - Результаты испытаний, подтверждающие корректность методики определения празиквантела

п/п	Введённое количество (мг)	% теоретического	Обнаруженное количество (мг)	Степень извлечения, %
	60,124	80%	60,041	99,86
	59,891	80%	59,88	99,98
	60,233	80%	60,21	99,96
	67,995	90%	67,923	99,89
	67,381	90%	67,491	100,16
	67,711	90%	67,624	99,87
	74,996	100%	75,031	100,05
	75,101	100%	75,11	100,01
	74,765	100%	74,81	100,06
0	82,913	110%	82,74	99,79
1	82,501	110%	82,677	100,21
2	82,24	110%	82,352	100,14
3	90,321	120%	90,195	99,86
4	89,981	120%	90,03	100,05
5	90,012	120%	90,022	100,01
Среднее значение степени извлечения, %				99,99333

Правильность предлагаемого метода определяли на 6 образцах модельных смесей таблеток с известным содержанием празиквантела.

С целью проверки повторяемости метода проводили трехуровневый эксперимент по 3 опыта на каждом уровне.

Общие результаты празиквантела оценки ВЭЖХ определения празиквантела в модельных смесях таблеток представлены в таблице 3.

Таблица 3-Результаты валидационной оценки ВЭЖХ метода определения празиквантела

Наименование показателя	Оптимальное значение (НД)	Результат определения	Соответствие требованиям НД
Специфичность	Однородность пика	Пик определяемого вещества четко отделяется от пиков вспомогательных веществ	+
Аналитическая область	Результаты должны иметь приемлемый уровень правильности и повторяемости	Методика применима в интервале от 80 до 120% от номинального значения содержания вещества в	+

		модельных таблеток	
Линейность (коэффициент корреляции)	$\geq 0,99$	0,999	+
По критерию Стьюдента	$\leq 2,57$	0,29	+
Повторяемость (относительное стандартное отклонение RSD)	$\leq 3\%$	0,9%	+

Согласно представленным данным методики выполняется условие линейной зависимости ($|r| \geq 0,990,99$), правильности ($t_{\text{выч.}} < t_{\text{табл.}} (P, f)$), повторяемости ($RSD \leq 3\%$).

Заключение

В ходе экспериментальной работы проведена валидация метода количественного определения активной субстанции в лечебно-профилактическом препарате - празиквантела лечебно-профилактического препарата с использованием ВЭЖХ. При помощи валидационной оценки установлено, что разработанный метод ВЭЖХ валиден по показателям: специфичность, аналитическая область, линейность, правильность, повторяемость. Валидационно подтвержденный метод ВЭЖХ для количественного определения празиквантела в лекарственной форме продемонстрировал высокую степень специфичности, точности, прецизионности и линейности. Метод соответствует требованиям и может быть рекомендован для рутинного контроля качества препаратов, содержащих празиквантел.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Яшин Я.И., Яшин А.Я. Высокоэффективная жидкостная хроматография // Состояние и перспективы. Рос. хим. журнал.-2002; -47 (4): 64-79.
2. Шаповалов Е.Н. Пирогов А.В. Хроматографические методы анализа // -М.: МГУ им М.В. Ломоносова. - 2007. – С.109.
3. Blum F. High performance liquid chromatography // Br J Hosp Med (Lond). 2014 Feb;75(2):C18-21. doi: 10.12968/hmed.2014.75.Sup2.C18. PMID: 24521830.
4. Sobolewska E, Biesaga M. High-Performance Liquid Chromatography Methods for Determining the Purity of Drugs with Weak UV Chromophores // A Review. Crit Rev Anal Chem. 2025;55(3):419-433. doi: 10.1080/10408347.2023.2291815. Epub 2024 Jan 5. PMID: 38180794.
5. Цвет М С Тр. Варшавского общества естествоиспытателей// Отд биол.- 1903. Т. 14.-С.11-18.
6. Бирюков А.А. Зооантропонозные заболевания человека // Ветеринарная клиника. Екатеринбург, 2003. - №10 (17). - С. 32-34.
7. Игнатова Д.Ю. Эпизоотологический мониторинг при паразитозах собак: эпизоотологические параметры паразитозов собак: дисс. ... канд. вет. наук. / Нижний Новгород, 2007. 149 с.
8. Крючкова Е.Н. Экология гельминтов у домашних и диких плотоядных животных в европейской части // Российской Федерации: дисс. ... докт. вет. наук. Иваново, 2012. 311 с.

References

1. YAshin YA.I., YAshin A.YA. Vysokoeffektivnaya zhidkostnaya hromatografiya. Sostoyanie i perspektivy. Ros. him. zhurnal.2002; 47 (4): 64-79.
2. SHapovalov E.N. Pirogov A.V. Hromatograficheskie metody analiza. -M.: MGU im M.V. Lomonosova, 2007. 109 s
3. Blum F. High performance liquid chromatography. Br J Hosp Med (Lond). 2014 Feb;75(2):C18-21. doi: 10.12968/hmed.2014.75.Sup2.C18. PMID: 24521830.
4. Sobolewska E, Biesaga M. High-Performance Liquid Chromatography Methods for Determining the Purity of Drugs with Weak UV Chromophores - A Review. Crit Rev Anal Chem. 2025;55(3):419-433. doi: 10.1080/10408347.2023.2291815. Epub 2024 Jan 5. PMID: 38180794.

5. Cvet M S Tr Varshavskogo obva estestvoispytatelej Otd biol , 1903, t 14, s 1
6. Biryukov A.A. Zooantroponoznye zabolevaniya cheloveka // Veterinarnaya klinika. Ekaterinburg, 2003. - №10 (17). - S. 32-34.
7. Ignatova D.YU. Epizootologicheskij monitoring pri parazitozah sobak: epizootologicheskie parametry parazitov sobak: diss. ... kand. vet. nauk. Nizhnij Novgorod, 2007. 149 s.
8. Kryuchkova E.N. Ekologiya gel'mintov u domashnih i dikih plotoyadnyh zhivotnyh v evropejskoj chasti Rossijskoj Federacii: diss. ... dokt. vet. nauk. Ivanovo, 2012. 311 s.

ЕМДЕУ-ПРОФИЛАКТИКАЛЫҚ ПРЕПАРАТТАҒЫ БЕЛСЕНДІ СУБСТАНЦИЯНЫ САНДЫҚ АНЫҚТАУДЫҢ ЖТСХ ӘДІСІН ВАЛИДАЦИЯЛАУ

М.Р.Юсупов , А.Т.Арысбекова , К.С. Бегасыл , А.А. Адамбаева ,
Р.Б. Айтлесова , Н. Ж. Кошкінбай , А.С. Нурпейсова , Ж.С. Абай ,
М.М. Касенов 

Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринариялық институты
*malik_imhana@mail.ru

Аннотация. Бұл жұмыста гельминтке қарсы препараттағы белсенді субстанцияның сапасын бақылау және сандық анықтау үшін қолданылатын жоғары тиімді сұйық хроматографияға (ЖТСХ жоғары тиімді сұйық хроматография) негізделген аналитикалық әдісті валидациялау принциптері мен әдістемесі қарастырылады.

Ерекшелік, сызықтық, дәлдік, дәлдік, анықтау шегі және сандық анықтау шегі сияқты валидацияның негізгі параметрлері сипатталған. Жүргізілген талдау әдістің нормативтік құжаттаманың талаптарына сәйкестігін растауға мүмкіндік берді, бұл оның препараттың сапасын бақылау үшін жарамдылығын қамтамасыз етеді. Алынған нәтижелер фармацевтикалық өнімді зертханалық бақылау жағдайында ВЭЖХ әдісінің жоғары сенімділігі мен қайталануын көрсетеді. Ұсынылған барлық параметрлер бойынша әдіс нормативтік құжаттардың талаптарына жауап беретіні анықталды.

Түйінді сөздер: празиквантель, ЖТСХ, валидация, сапаны бақылау.

VALIDATION OF HPLC, A METHOD FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF AN ACTIVE SUBSTANCE IN A THERAPEUTIC AND PROPHYLACTIC DRUG

M. Yusupov , A. Arysbekova , K.S. Begasyl , A.A. Adambayeva ,
R.B. Aitlesova , N. J. Koshkinbai , A.S. Nurpeisova , J.S. Abai ,
M.M. Kasenov 

Kazakh Scientific Research Veterinary Institute
*malik_imhana@mail.ru

Annotation. This paper discusses the principles and methodology of validation of an analytical method based on high performance liquid chromatography (HPLC) used for quality control and quantitative determination of the active substance in an anthelmintic drug.

Key validation parameters such as specificity, linearity, accuracy, precision, detection limit, and quantification limit are described. The analysis made it possible to confirm the compliance of the method with the requirements of regulatory documentation, which ensures its suitability for subsequent quality control of the drug. The results obtained indicate the high reliability and reproducibility of the HPLC method in the conditions of laboratory control of pharmaceutical products. It has been established that for all the parameters presented, the method meets the requirements of regulatory documents.

Keywords: praziquantel, HPLC, validation, quality control.

РАСПРОСТРАНЕНИЕ И ПРОФИЛАКТИКА БОЛЕЗНИ НЬЮКАСЛА В КЫРГЫЗСТАНЕ

А.Т. Жунушов 

Институт биотехнологии Национальной академии наук КР,
г. Бишкек, Кыргызская Республика
* zhunushov.asankadyr@gmail.com

Аннотация. Болезнь Ньюкасла представляет собой одну из ключевых трансграничных инфекций, имеющих важное значение для ветеринарной службы Кыргызстана. По данным Министерства сельского хозяйства КР и международных организаций (МЭБ/ВОЗЖ), заболевание регистрировалось в различных регионах страны, особенно в южных областях, где птицеводство распространено среди личных подсобных хозяйств.

Болезнь Ньюкасла распространена на всех континентах, за исключением Австралии, и оказывает значительное негативное влияние на развитие птицеводства, вызывая крупные экономические убытки. На территории Кыргызской Республики случаи заболевания регистрировались, в частности, в 2015 и 2016 годах. Несмотря на то, что возбудитель болезни хорошо изучен, а также известны особенности клинического течения инфекции, вопрос полной ликвидации заболевания остаётся нерешённым. Целью данной статьи является систематизация и обобщение доступных литературных источников, включая исторические сведения, эпизоотологические данные, молекулярно-генетические характеристики возбудителя, а также современные подходы к диагностике, профилактике и контролю болезни Ньюкасла. Особое внимание уделено эпизоотической ситуации в Кыргызской Республике.

Ключевые слова: Болезнь Ньюкасла, Кыргызская Республика, вирус, штамм

Введение

Птицеводство является ключевым направлением в животноводстве, обеспечивающим население доступным источником животного белка по всему миру. Одной из главных опасностей для этой отрасли остаются инфекционные болезни, особенно вирусного происхождения, которые приводят к значительному снижению производственных показателей и серьёзным экономическим потерям.

Целью данного обзора является анализ современных подходов к изучению болезни Ньюкасла с фокусом на диагностику и профилактику.

Болезнь Ньюкасла - это высококонтагиозная вирусная инфекция птиц, характеризующаяся пневмонией, энцефалитом, множественными точечными кровоизлияниями и поражениями внутренних органов [1].

Международное эпизоотическое бюро (МЭБ) отнесло её к болезням домашней птицы категории А [2]. С момента первого выявления заболевания на острове Ява в Индонезии [3] и в городе Ньюкасл-апон-Тайн в Англии в 1926 году [4], его вспышки продолжают распространяться по всему миру, вызывая серьёзные экономические убытки в глобальной птицеводческой отрасли [5]. Вирус БН был обнаружен у 241 вида из 27 отрядов класса Птицы (*Aves*) [6].

Вирусы, вызывающие БН, принадлежат к отряду *Mononegavirales*, семейству *Paramyxoviridae*, подсемейству *Paramyxovirinae* и роду *Orthoavulavirus*, с ещё восемью серотипами птичьего парамиксовируса (APMV) (от APMV-2 до APMV-9). РНК-геномы вирусов рода *Avulavirus* являются одноцепочечными, в отрицательном смысле и несегментированными. Род *Orthoavulavirus* содержит все APMV. Вирионы нитевидные, приблизительно сферической формы, диаметром 150 нм или более. Геном размером примерно 15,2 кб содержит коды шести структурных и двух неструктурных белков [7]. Эти белки - нуклеопротеин (NP), большая РНК-полимераза (L), синтез (F), гемагглютинин-нейраминидаза (HN), матрикс (M) и фосфопротеин (P), которые расположены в направлении от 3' к 5'. Нуклеопротеин NP определен как высоко

иммуногенный, поскольку вызывает у кур выработку антител. В гене Р гуанины вводятся на сайте редактирования, когда мРНК транскрибируется для создания белков W и V. Белок V связывает цинк и включает в себя значительное количество цистеина и карбокси-концевой участок с антиинтерфероновой (антиIFN) активностью. Этот участок позволяет вирусу снижать врожденный иммунный ответ хозяина. Особое значение в патогенности вируса имеет F-белок (fusion protein), отвечающий за слияние вирусной и клеточной мембран, а также степень его расщепления, определяемая аминокислотной последовательностью в клявидном участке. Вирусы с множественными основными аминокислотами в этой позиции (обычно у вирулентных штаммов) способны расщепляться фуриноподобными протеазами, экспрессируемыми в большинстве тканей, что приводит к системной инфекции [28].

Вирус БН обладает значительной генетической вариабельностью, на основании чего он классифицируется на два основных класса. Класс I - преимущественно низкопатогенные изоляты, циркулирующие в дикой фауне. Класс II - включает как высокопатогенные, так и низкопатогенные штаммы, в том числе вакцинные, циркулирующие в коммерческом птицеводстве. Класс II, в свою очередь, подразделяется на генотипы I–XXI, некоторые из которых включают эпидемически значимые варианты, ответственные за вспышки в разных регионах мира [29].

Вирус БН также связывает белок актин хозяина, необходимый для входа вируса в клетку, его репликации и перемещения по клетке [23].

Семейство парамиксовирусов включает ряд вирусов, вызывающих опасные заболевания человека и животных, среди них особенно известны такие, как вирус кори, респираторно-синцитиальный вирус (RSV), вирус парагриппа (parainfluenza), вирус инфекционного паротита, вирус болезни Ньюкасла, вирус чумы рогатого скота [8]. Существуют патотипы вируса: велогенные, мезогенные и лентогенные, различающиеся по патогенности [12, 13].

Впервые вирус Ньюкасла (NDV) был описан на острове Ява в 1926 г. и в городе Ньюкастле в Англии на реке Тайне в 1927 г. – откуда собственно это заболевание и получило название [9].

Затем обнаружили вирус в городе Раникете, расположенном в Индии, в Коломбо, Шри - Ланке, Корее и Маниле. Очень интересно, но с 1926 по 1940 гг. все тяжелые случаи вспышки этого заболевания были отмечены в морских портах или территориях непосредственно примыкающих к ним. Судя по всему этот вирус поражал диких птиц в лесах юго-восточной Азии с тропическими дождями [10]. Впоследствии, с 1966 года вирус высокой вирулентности стал эндемичен в тропиках, вирус средней вирулентности обладал в Иране и других арабских странах, а слабой вирулентности – в Северной Америке и Западной Европе. Во время Второй Мировой войны болезнь Ньюкасла обнаружили в Австралии и восточной Африке. Затем в Европу она проникла через Италию. В Чехословакии появилась в 30–40–х годах XX столетия. Одной из возможных причин распространения вируса авторы в то время считали начавшуюся в начале XX в. перевозку мяса в рефрижераторах. В Европе 1981-1983 году после адаптации вируса к синантропным, домашним и почтовым голубям началась следующая ступень развития заболевания в виде нервного заболевания, которое описывается как парамиксовирус голубей (парамиксовирус APMV-1). За счет этого вирусное заболевание стало еще быстрее продвигаться по континентам за счет зараженного корма, загрязненного больными голубями [11].

Болезнь Ньюкасла представляет собой одну из ключевых трансграничных инфекций, имеющих важное значение для ветеринарной службы Кыргызстана. По данным Министерства сельского хозяйства КР и международных организаций (OIE/WOAH), заболевание регистрировалось в различных регионах страны, особенно в южных областях, где птицеводство распространено среди личных подсобных хозяйств.

Первые сведения о циркуляции вируса Ньюкасла на территории Кыргызстана появились в 1960–1970-х годах, когда начались эпизоотологические обследования в составе общесоюзных ветеринарных программ [14].

С 1998 по 2005 год в Кыргызстане и сопредельных регионах Казахстана были проведены молекулярно-генетические исследования, в результате которых выделены вирулентные полевые штаммы вируса БН, отнесенные к подгенотипам VIIb и VIId. Эти штаммы отличались высокой патогенностью, что подтверждено по индексу внутримозговой патогенности (ICPI = 1,05–1,87). Установлено, что вирусы обладают аминокислотной последовательностью в F-белке, характерной для высокопатогенных форм: RRQRR↓F и RRQKR↓F [17].

В 2015–2016 гг. в ряде районов Чуйской и Ошской областей были зафиксированы вспышки болезни с высокой летальностью среди молодняка кур. Молекулярный анализ выделенного штамма показал принадлежность к подгенотипу VIIId, который имеет высокую степень родства с изолятами из Китая, что указывает на возможное заносное происхождение вируса. Наиболее уязвимыми в эпизоотическом отношении остаются личные подсобные хозяйства и мелкие фермерские птицефабрики, где уровень вакцинации недостаточен, а меры биобезопасности практически отсутствуют. [18, 19].

Таблица № 1. Зарегистрированные штаммы вируса болезни Ньюкасла в Кыргызстане

Год	Регион	Генотип вируса	Характеристика штамма Аминокислотная последовательность (112–117)	ICPI*	GenBank ID	Примечания
1998	Чуйская область	VIIb	Високопатогенный, RRQKR↓F	1.53	—	Первый молекулярно подтвержденный случай
2000	Ошская область	VIIb	Велогенный, RRQRR↓F	1.60	DQ097392	Исходная линия идентична штаммам из Ирана
2003	Джалал-Абадская	VIIId	Високопатогенный, RRQKR↓F	1.87	DQ097391	Родство с изолятами из Китая
2005	Чуйская область	VIIId	Велогенный, високопатогенный	1.71	DQ097393	Активное распространение в ЛПХ
2015	Ошская область	VIIId	Велогенный, RRQKR↓F	1.50	—	Вспышка среди несушек, высокая летальность
2016	Чуйская область	VIIId	Велогенный, RRQKR↓F	1.48	—	Молекулярное родство с китайскими изолятами

*ICPI (индекс внутримозговой патогенности) - показатель вирулентности: значения от 0,0 до 2,0; $\geq 0,7$ указывает на велогенные штаммы (по ВОЗЖ, 2021).

RRQKR↓F / RRQRR↓F — ключевой участок расщепления F-белка, определяющий вирулентность вируса.



Рисунок 1. Распространение штаммов вируса болезни Ньюкасла по регионам Кыргызстана

Современные исследования, проводимые на базе национальной академии наук Кыргызстана, Научно-исследовательского института ветеринарии и Центра ветеринарной диагностики, направлены на: 1) выявление циркулирующих штаммов вируса болезни Ньюкасла методом ПЦР; 2) определение уровня поствакцинального иммунитета у сельскохозяйственной птицы; 3) разработку региональных стратегий биобезопасности в условиях малых хозяйств [15].

Последние годы в Кыргызстане эпизоотии болезни Ньюкасла не наблюдали, возможно, это связано с проводимой вакцинацией домашних птиц. Однако спорадические вспышки заболевания все еще существуют.

Водно-болотные угодья, расположенные в Западной и Центральной Азии, в целом представляют собой основные места зимовки и остановки во время миграции миллионов диких водоплавающих птиц. Ежегодно в Кыргызстан прилетают более 350 видов диких птиц. На зимовку прилетает хохлатая чернеть, гоголь, лоток, зяблик, кряква и другие. По данным Госагентства охраны окружающей среды и лесхоза, в Кыргызстане увеличилась численность редких видов перелетных птиц [16].

Диагностика болезни Ньюкасла (ND) в Кыргызской Республике включает комплекс клинических, эпизоотологических и лабораторных методов.

ПЦР в режиме реального времени - основной метод для выявления РНК Болезни Ньюкасла в биоматериале. В 2023 г. в *Open Veterinary Journal* была описана отечественная методика ПЦР в режиме реального времени для одновременного различия вакцинных и полевых штаммов инфекционного бронхита кур и болезни Ньюкасла, разработанная учёными из Кыргызской Республики [20].

Комбинированное использование ПЦР (полимеразной цепной реакции) и ИФА (иммуноферментного анализа) при диагностике болезни Ньюкасла (БН) обеспечивает повышенную точность, чувствительность и полноту диагностики, особенно при комплексной оценке эпизоотической ситуации и мониторинге вакцинации. Комбинированный метод ПЦР + ИФА: обеспечивает высокую точность при лабораторной диагностике БН, используется как в экстренной диагностике, так и в мониторинге вакцинации, особенно эффективен при субклинических инфекциях, контрольных мероприятиях и диагностике вспышек [21].

Серологическая диагностика занимает важное место в выявлении и контроле инфекции, особенно при эпизоотологическом мониторинге и оценке эффективности вакцинации.

Наиболее широко применяются реакция торможения гемагглютинации (РТГА) и иммуноферментный анализ (ИФА) [22]. РТГА основана на способности вируса Ньюкасла (NDV)

вызывать агглютинацию эритроцитов птиц. Если в сыворотке крови содержатся антитела против вируса болезни Ньюкасла, они связываются с вирусом и предотвращают агглютинацию. Результат выражается в виде титра антител. Титр РТГА $\geq 1:32$ считается свидетельством поствакцинального или постинфекционного иммунитета.

ИФА позволяет количественно оценить наличие специфических IgG-антител к вирусу. Метод основан на специфичном связывании антигенов вируса болезни Ньюкасла с антителами сыворотки, которое обнаруживается с помощью ферментной метки. ИФА-результаты выражаются в S/P-индексе или OD-значениях (в зависимости от тест-системы), интерпретируются в соответствии с инструкцией производителя [23].

Профилактика болезни Ньюкасла в Кыргызской Республике основывается на плановой иммунизации птиц, санитарно-ветеринарных мерах и эпизоотическом мониторинге. Основным методом специфической профилактики остаётся вакцинация.

В Кыргызстане применяются как живые, так и инактивированные вакцины против вируса Ньюкасла, преимущественно зарубежного производства. Живые вакцины (LaSota, Clone 30) - используются для первичной вакцинации в возрасте 7-14 дней; вводятся интраназально, аэрозольно или через воду. Инактивированные вакцины (например, Nobilis ND) - применяются для повторной иммунизации, особенно в яйценосный период. Согласно исследованиям КНАУ и региональных ветстанций, наиболее распространённым штаммом для вакцинации является LaSota, адаптированный под местные условия [24].

На крупных птицефабриках (например, «Элита Птица», «Ысык-Ата Агро») вакцинация проводится систематически с соблюдением графиков и схем иммунизации, рекомендованных ВОЗЖ (WOAH) и национальными инструкциями. Однако в частных подворьях охват вакцинацией остаётся недостаточным. Отсутствие координации, несоблюдение температурных режимов хранения вакцин, а также недостаточная осведомлённость владельцев приводят к периодическим вспышкам [25].

Важным дополнением к вакцинации является соблюдение принципов биобезопасности, в том числе: разделение возрастных групп птицы, ограничение доступа к птичникам, регулярная дезинфекция, контроль за закупкой молодняка и кормов. ВОЗЖ подчёркивает, что даже при высоком уровне вакцинации вспышки болезни Ньюкасла возможны в случае нарушения биобезопасности [26].

Серологический мониторинг (ИФА, РТГА) в 2018–2022 гг. показал достаточный уровень антител у промышленного поголовья, но низкие титры в несистемно вакцинированных хозяйствах [27].

Заключение

Болезнь Ньюкасла (БН) остаётся одним из наиболее значимых факторов, ограничивающих развитие птицеводства как в глобальном, так и в региональном масштабе. Высокая контагиозность, широкий спектр восприимчивых видов, способность вируса мутировать и адаптироваться к новым условиям, а также тяжёлые клинические проявления делают БН серьёзной угрозой для сельского хозяйства и продовольственной безопасности.

Анализ структуры вируса, его генетических особенностей и эпидемиологической хроники свидетельствует о сложной и динамичной природе этой инфекции. Распространение вируса болезни Ньюкасла с момента его первого выявления в 1920-х годах и по сей день сопровождается эпизоотиями различной степени тяжести на всех континентах. Особенно уязвимыми оказываются регионы с высокой плотностью птицы, активными торговыми маршрутами, а также с низким уровнем вакцинации и слабой системой ветеринарного контроля.

Опыт Кыргызстана демонстрирует, что заболевание может сохраняться на эндемичном уровне и вызывать вспышки среди личных подсобных и мелких фермерских хозяйств. Несмотря на отсутствие масштабных эпизоотий в последние годы, единичные случаи болезни указывают на необходимость постоянного эпизоотологического надзора и серологического мониторинга.

Современные методы диагностики, включающие ПЦР в реальном времени и иммуноферментный анализ (ИФА), обеспечивают высокую точность и позволяют эффективно дифференцировать вакцинные и полевые штаммы вируса. Однако своевременное выявление инфекции невозможно без координированной работы лабораторий, ветеринарной службы и фермеров.

Основной мерой специфической профилактики остаётся вакцинация. Комплексное применение живых и инактивированных вакцин, особенно на промышленном уровне, доказало свою эффективность. Тем не менее, слабый охват вакцинацией в ЛПХ и нарушение условий хранения и применения вакцин продолжают способствовать рецидивам заболевания. Важным компонентом борьбы с БН является внедрение биобезопасности на всех уровнях – от промышленных птицефабрик до мелких хозяйств.

С учётом географического положения Кыргызстана, его роли как транзитного региона для перелётных птиц, а также особенностей птицеводства, крайне важно развивать научные исследования, направленные на молекулярную типизацию циркулирующих штаммов, оценку иммунного ответа и адаптацию вакцинных стратегий к местным условиям. Совершенствование программ эпизоотического мониторинга, просветительская работа с населением и государственная поддержка мелких хозяйств — необходимые шаги на пути к контролю и долгосрочному снижению риска распространения болезни Ньюкасла в стране.

Таким образом, для успешной борьбы с болезнью Ньюкасла необходим системный подход, включающий регулярную вакцинацию, проведение серомониторинга, усиление мер биобезопасности и просветительскую работу среди владельцев птицы. Только при координации усилий ветеринарных служб, научных учреждений и государственных структур возможно снижение эпизоотической напряжённости и обеспечение устойчивого развития птицеводства в стране.

Литература

1. Alexander D.J., Aldous E.V., Fuller C.M. The long view: A selective review of 40 years of Newcastle disease research. *Avian Pathology*, 2012, 41(4): 329-335 (doi:10.1080/03079457.2012.697991)
2. Doyle T. A hitherto unrecorded disease of fowls due to a filter-passing virus. *J Comp Pathol Ther.* 1927;40:144-169
3. Kraneveld F. A poultry disease in the Dutch East Indies, Nederlands-Indische. *Bl Voor Diergeneeskde.* 1926;38:448-451.
4. Dharmayanti N, Hartawan R, Hewajuli D, Risa I. Phylogenetic analysis of genotype VII of new castle disease virus in Indonesia. *Afr J Microbiol Res.* 2014;8(13):1368-1374.
5. Emilia E, Setiyaningsih S, Soejoedono R. Isolation and Biological Characterization of Newcastle Disease Virus (in Indonesia: Isolasi Dan Karakterisasi Biologi Virus Newcastle Disease). *Jurnal Kedokteran Hewan.* 2015;9(1):47-51.
6. Kaleta E.F., Baldaus C. Newcastle disease in free-living and pet birds. In: Newcastle disease. D.J. Alexander (ed.). Kluwer Acad. Publ., Boston, 1988: 197-246 (doi: 10.1007/978-1-4613-1759-3_12).
7. Hossain I., Parvin R., Rahman M.M., Begum J.A., Chowdhury E.H., Islam M.R., Diel D.G. & Nooruzzaman M. (2023). Comparative pathogenicity of a genotype XXI. 1.2 pigeon Newcastle disease virus isolate in pigeons and chickens. *Microbial Pathogenesis.* 178: 106068.
8. Lamb R.A., Collins P.L., Kolakofsky D., Melero J.A., Nagai Y., Oldstone M.B.A., Pringle C.R., Rima B.K. Family Paramyxoviridae. In: Fauquet C.M., editor. *Virus Taxonomy: The Classification and Nomenclature of Viruses. The Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses.* Elsevier Academic Press; 2005. pp. 655-668.
9. Mazengia H. (2012). Review on major viral diseases of chickens reported in Ethiopia. *Journal of Infectious Diseases and Immunity.* 4(1): 1-9.
10. Gordon R.F., Jordan F.T.W. (1985). *Poultry Diseases.* Bailliere Tindall.
11. Романов В.В. Болезнь Ньюкасла // Госпиталь птиц «Зелёный попугай». Ассоциация любителей. птиц. Выпуск 16. 2015г.
12. Alexander D.J. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. *Rev. Sci. Tech.* 2000;19(2):443-462.
13. Mayo M.A. Virus taxonomy-Houston 2002. *Arch Virol.* 2002;147:1071–1076.
14. Бекназаров С.К. Эпизоотология болезни Ньюкасла в Киргизской ССР // Ветеринария. – 1974. – №6. – С. 43–45.

15. Toktobaev M.B., Abdykadyrov T.A. Molecular characterization of Newcastle disease virus isolates in southern Kyrgyzstan. *Proceedings of KNAU*. – 2018. – №2. – С. 75–79.
16. Нургазиев Р. З., Нургазиева А. Р. Генетическая характеристика вируса болезни Ньюкасла среди диких и перелетных птиц в Кыргызской Республике // *Вестник КрасГАУ*. 2019. №11 (152).
17. Bogoyavlenskiy A, Berezin V, Prilipov A, Usachev E, Lyapina O, Korotetskiy I, Zaitceva I, Asanova S, Kydyrmanov A, Daulbaeva K, Shakhvorostova L, Sayatov M, King D. Newcastle disease outbreaks in Kazakhstan and Kyrgyzstan during 1998, 2000, 2001, 2003, 2004, and 2005 were caused by viruses of the genotypes VIIb and VIId. *Virus Genes*. 2009 Aug;39(1):94-101. doi: 10.1007/s11262-009-0370-1. Epub 2009 May 23. PMID: 19466536.
18. Ogawa H., Yamaguchi T., Ito T. et al. Molecular characterization of virulent Newcastle disease viruses isolated in Central Asia. *Avian Pathology*, 2019; 48(3): 237–245. DOI: 10.1080/03079457.2019.1589382.
19. Jadhav A., Zhao L., Liu W., Ding C., Nair V., Ramos-Onsins S.E. & Ferretti L. (2020). Genomic diversity and evolution of quasispecies in Newcastle disease virus infections. *Viruses*. 12(11): 1305.
20. The use of RT-PCR in the diagnosis and differentiation of vaccine strains of chicken infectious bronchitis and Newcastle disease. *Open Vet J*. 2023;13(6):732–741. doi:10.5455/OVJ.2023.v13.i6.8
21. Zhao Y., et al. (2016). A highly sensitive nested RT-PCR combined with ELISA for detection of Newcastle Disease Virus. *Journal of Virological Methods*.
22. Alexander DJ. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. In: Saif YM, editor. *Diseases of Poultry*. 12th ed. Wiley-Blackwell; 2008. p. 75–100.
23. Токтобоев М.Б., Абдыкадыров Т.А. Оценка уровня антител к вирусу NDV у кур в условиях Кыргызстана. *Вестник ветеринарии КР*, 2021; №4: 42–45.
24. Токтобоев М.Б., Абдыкадыров Т.А. Эпизоотология и профилактика болезни Ньюкасла в КР. *Труды КНАУ*, 2018, №2: 75–79.
25. Karymbaeva Z. et al. Challenges of ND control in backyard poultry of Kyrgyzstan. *Vet Microbiol Res*. 2020; 18(3): 43–49.
26. WOA (World Organisation for Animal Health). *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Chapter 3.3.14. Newcastle disease. 2021.
27. Abdykadyrov T.A., Toktobaev M.B. Monitoring of post-vaccinal immunity against Newcastle disease virus in Kyrgyz poultry farms. *Kyrgyz Vet J.*, 2021; №4: 42–45.
28. Wang Y, Yu W, Huo N, Wang W, Guo Y, Wei Q, et al. (2017) Comprehensive analysis of amino acid sequence diversity at the F protein cleavage site of Newcastle disease virus in fusogenic activity. *PLoS ONE* 12(9): e0183923. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183923>
29. Bulbule NR, Madale DS, Meshram CD, Pardeshi RB, Chawak MM (2015). Virulence of Newcastle disease virus and diagnostic challenges. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 3(5s): 14-21.

References

- 1 Alexander D.J., Aldous E.V., Fuller C.M. The long view: A selective review of 40 years of Newcastle disease research. *Avian Pathology*, 2012, 41(4): 329-335 (doi:10.1080/03079457.2012.697991)
- 2 Doyle T. A hitherto unrecorded disease of fowls due to a filter-passing virus. *J Comp PatholTher*. 1927;40:144-169
- 3 Kraneveld F. A poultry disease in the Dutch East Indies, Nederlands-Indische. *Bl Voor Diergeneeskde*. 1926;38:448-451.
- 4 Dharmayanti N, Hartawan R, Hewajuli D, Risa I. Phylogenetic analysis of genotype VII of new castle disease virus in Indonesia. *Afr J Microbiol Res*. 2014;8(13):1368-1374.
- 5 Emilia E, Setiyaningsih S, Soejoedono R. Isolation and Biological Characterization of Newcastle Disease Virus (in Indonesia: Isolasi Dan Karakterisasi Biologi Virus Newcastle Disease). *Jurnal Kedokteran Hewan*. 2015;9(1):47-51.

- 6 Kaleta E.F., Baldaus C. Newcastle disease in free-living and pet birds. In: Newcastle disease. D.J. Alexander (ed.). Kluwer Acad. Publ., Boston, 1988: 197-246 (doi: 10.1007/978-1-4613-1759-3_12).
- 7 Hossain I., Parvin R., Rahman M.M., Begum J.A., Chowdhury E.H., Islam M.R., Diel D.G. & Nooruzzaman M. (2023). Comparative pathogenicity of a genotype XXI. 1.2 pigeon Newcastle disease virus isolate in pigeons and chickens. *Microbial Pathogenesis*. 178: 106068.
- 8 Lamb R.A., Collins P.L., Kolakofsky D., Melero J.A., Nagai Y., Oldstone M.B.A., Pringle C.R., Rima B.K. Family Paramyxoviridae. In: Fauquet C.M., editor. *Virus Taxonomy: The Classification and Nomenclature of Viruses. The Eighth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*. Elsevier Academic Press; 2005. pp. 655-668.
- 9 Mazengia H. (2012). Review on major viral diseases of chickens reported in Ethiopia. *Journal of Infectious Diseases and Immunity*. 4(1): 1-9.
- 10 Gordon R.F., Jordan F.T.W. (1985). *Poultry Diseases*. Bailliere Tindall.
- 11 Romanov V.V. Newcastle disease // Hospital of birds 'Green parrot'. Association of amateurs. birds. Issue 16. 2015г.
- 12 Alexander D.J. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. *Rev. Sci. Tech.* 2000;19(2):443-462.
- 13 Mayo M.A. Virus taxonomy-Houston 2002. *Arch Virol*. 2002;147:1071–1076.
- 14 Beknazarov S.K. Epizootology of Newcastle disease in the Kyrgyz SSR // *Veterinary*. - 1974. - №6. - C. 43-45.
- 15 Toktobaev M.B., Abdykadyrov T.A. Molecular characterization of Newcastle disease virus isolates in southern Kyrgyzstan. *Proceedings of KNAU*. – 2018. – №2. – C. 75–79.
- 16 Nurgaziev R. Z., Nurgazieva A. R. Genetic characterisation of Newcastle disease virus among wild and migratory birds in the Kyrgyz Republic // *Vestnik KrasGAU*. 2019. №11 (152).
- 17 Bogoyavlenskiy A, Berezin V, Prilipov A, Usachev E, Lyapina O, Korotetskiy I, Zaitceva I, Asanova S, Kydyrmanov A, Daulbaeva K, Shakhvorostova L, Sayatov M, King D. Newcastle disease outbreaks in Kazakhstan and Kyrgyzstan during 1998, 2000, 2001, 2003, 2004, and 2005 were caused by viruses of the genotypes VIIb and VIId. *Virus Genes*. 2009 Aug;39(1):94-101. doi: 10.1007/s11262-009-0370-1. Epub 2009 May 23. PMID: 19466536.
- 18 Ogawa H., Yamaguchi T., Ito T. et al. Molecular characterization of virulent Newcastle disease viruses isolated in Central Asia. *Avian Pathology*, 2019; 48(3): 237–245. DOI: 10.1080/03079457.2019.1589382.
- 19 Jadhav A., Zhao L., Liu W., Ding C., Nair V., Ramos-Onsins S.E. & Ferretti L. (2020). Genomic diversity and evolution of quasispecies in Newcastle disease virus infections. *Viruses*. 12(11): 1305.
- 20 The use of RT-PCR in the diagnosis and differentiation of vaccine strains of chicken infectious bronchitis and Newcastle disease. *Open Vet J*. 2023;13(6):732–741. doi:10.5455/OVJ.2023.v13.i6.8
- 21 Zhao Y., et al. (2016). A highly sensitive nested RT-PCR combined with ELISA for detection of Newcastle Disease Virus. *Journal of Virological Methods*. Alexander DJ. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. In: Saif YM, editor. *Diseases of Poultry*. 12th ed. Wiley-Blackwell; 2008. p. 75–100.
- 22 Alexander DJ. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. In: Saif YM, editor. *Diseases of Poultry*. 12th ed. Wiley-Blackwell; 2008. p. 75–100.
- 23 Toktobaev M.B., Abdykadyrov T.A. Assessment of the level of antibodies to NDV virus in chickens in the conditions of Kyrgyzstan. *Bulletin of Veterinary Medicine of the Kyrgyz Republic*, 2021; No. 4: 42-45.
- 24 Toktobaev M.B., Abdykadyrov T.A. Epizootology and prevention of Newcastle disease in the Kyrgyz Republic. *Proceedings of KNAU*, 2018, No. 2: 75-79. Toktobaev M.B., Abdykadyrov T.A. Assessment of the level of antibodies to NDV virus in chickens in the conditions of Kyrgyzstan. *Bulletin of Veterinary Science of KR*, 2021; No. 4: 42-45.
- 25 Karymbaeva Z. et al. Challenges of ND control in backyard poultry of Kyrgyzstan. *Vet Microbiol Res*. 2020; 18(3): 43–49.
- 26 WOA (World Organisation for Animal Health). *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Chapter 3.3.14. Newcastle disease. 2021.

- 27 Abdykadyrov T.A., Toktoboev M.B. Monitoring of post-vaccinal immunity against Newcastle disease virus in Kyrgyz poultry farms. *Kyrgyz Vet J.*, 2021; №4: 42–45.
- 28 Wang Y, Yu W, Huo N, Wang W, Guo Y, Wei Q, et al. (2017) Comprehensive analysis of amino acid sequence diversity at the F protein cleavage site of Newcastle disease virus in fusogenic activity. *PLoS ONE* 12(9): e0183923. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0183923>
- 29 Bulbule NR, Madale DS, Meshram CD, Pardeshi RB, Chawak MM (2015). Virulence of Newcastle disease virus and diagnostic challenges. *Adv. Anim. Vet. Sci.* 3(5s): 14-21.

ҚЫРҒЫЗСТАНДА НЬЮКАСЛ АУРУЫНЫҢ ТАРАЛУЫ ЖӘНЕ АЛДЫН АЛУ

А.Т. Жунушов 

Ұлттық Ғылым Академиясының Биотехнология институты,
Бішкек қаласы, Қырғыз Республикасы
* zhunushov.asankadyr@gmail.com

Аннотация. Ньюкасл ауруы Қырғызстанның ветеринарлық қызметі үшін маңызды трансшекаралық инфекциялардың бірі болып табылады. Қырғыз Республикасының Ауыл шаруашылығы министрлігі мен халықаралық ұйымдардың (МЭБ/ВОЗЖ) мәліметтері бойынша, бұл ауру еліміздің әртүрлі аймақтарында, әсіресе жеке шаруашылықтар арасында құс шаруашылығы кең таралған оңтүстік облыстарда тіркелген.

Ньюкасл ауруы Австралиядан басқа барлық континенттерде кең таралған және құс шаруашылығының дамуына айтарлықтай теріс әсер етіп, үлкен экономикалық шығынға ұшыратады. Қырғызстан Республикасының аумағында ауруды жұқтыру жағдайлары, атап айтқанда, 2015 және 2016 жылдары тіркелді. Аурудың қоздырғышы жақсы зерттелгеніне және инфекцияның клиникалық ағымының ерекшеліктері белгілі болғанына қарамастан, ауруды толық жою мәселесі шешілмей отыр. Бұл шолу мақаласының мақсаты - тарихи ақпаратты, эпизоотологиялық деректерді, қоздырғыштың молекулалық-генетикалық сипаттамаларын, сондай-ақ Ньюкасл ауруын диагностикалау, алдын алу және бақылаудағы заманауи көзқарастарды қамтитын қол жетімді әдеби көздерді жүйелеу және жинақтау. Қырғыз Республикасындағы эпизоотиялық жағдайға ерекше назар аударылады.

Түйін сөздер: Ньюкасл ауруы, Қырғыз Республикасы, вирус, штамм

PREVALENCE AND PREVENTION OF NEWCASTLE DISEASE IN KYRGYZSTAN

А.Т. Zhunushov 

Institute of Biotechnology of the National Academy of science of the Kyrgyz Republic,
Bishkek, Kyrgyz Republic
* zhunushov.asankadyr@gmail.com

Annotation. Newcastle disease represents one of the key transboundary infections of importance for the veterinary service of Kyrgyzstan. According to the Ministry of Agriculture of the Kyrgyz Republic and international organisations (OIE/WOAH), the disease has been reported in different regions of the country, especially in the southern regions where poultry farming is common among private households.

Newcastle disease is widespread on all continents, except Australia, and has a significant negative impact on the development of the poultry industry, causing major economic losses. In the Kyrgyz Republic, cases of the disease were recorded in 2015 and 2016, among others. Despite the fact that the causative agent of the disease is well studied and the clinical course of the infection is known, the issue of complete elimination of the disease remains unresolved. The aim of this review article is to systematise and summarise the available literature, including historical data, epizootological data,

molecular and genetic characteristics of the pathogen, as well as modern approaches to the diagnosis, prevention and control of Newcastle disease. Special attention is paid to the epizootic situation in the Kyrgyz Republic.

Keywords: Newcastle disease, Kyrgyz Republic, virus, strain

ОСНОВНЫЕ ПРИНЦИПЫ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ПРОЦЕССА ЛИОФИЛИЗАЦИИ

Бердибаева А.Б.

Национальная академия наук Кыргызской Республики, институт биотехнологии,
Республика Кыргызстан
*acan@rambler.ru.

Аннотация. В данной обзорной статье рассматриваются методы и технологии лиофилизации вакцинных препаратов. Анализируются основные этапы процесса, а также некоторые подходы к оптимизации условий сублимации для повышения эффективности и качества конечного продукта. Особое внимание уделяется роли защитных сред в обеспечении стабильности, безопасности и биологической активности вакцин, а также расширению условий их хранения и транспортировки. Представленный обзор позволяет получить комплексное представление о текущем состоянии развития технологий лиофилизации в производстве вакцинных средств и выявить перспективные направления дальнейших исследований в данной области.

Ключевые слова: методы хранения, лиофилизация, защитные среды, вакцинные препараты

В настоящее время сублимационное высушивание (лиофилизация) считается одним из наиболее перспективных методов стабилизации вакцин, обеспечивающим сохранение их биологической активности и продление срока хранения при условиях, препятствующих развитию микробиологической активности. Технологический процесс включает удаление воды из замороженного продукта путём сублимации, что способствует сохранению структурной целостности и функциональных характеристик вакцины.

В последние годы развитие современных методов и технологий лиофилизации обусловлено необходимостью повышения эффективности производства, улучшения стабильности вакцинных препаратов и расширения условий хранения, особенно в условиях ограниченных логистических возможностей [1]. В данной статье представлены ключевые технологические подходы к лиофилизации вакцинных препаратов, включая инновационные технологические решения, направленные на оптимизацию процесса, повышение качества конечного продукта, а также обеспечение его безопасности и эффективности.

Исторические источники свидетельствуют, что концепция сохранения биологических образцов посредством высушивания в условиях вакуума и при низких температурах восходит к XIX веку, что связано с активным развитием микробиологических исследований в этот период [2]. Однако жизнеспособность образцов зачастую была ограничена из-за их термолабильности, что затрудняло изучение широкого спектра микроорганизмов. Попытки усовершенствовать методы хранения биологических материалов посредством воздушной или контактной сушки часто оказывались неэффективными вследствие значительной потери вирулентности и биологической активности образцов.

В 1890 году Рихард Альтман впервые получил высушенные ткани при низком давлении и температуре около -20°C , заложив основы вакуумной сушки. Однако широкое применение методов сохранения биологических образцов началось лишь в 1905 году, когда Бенедикт и Мэннинг сообщили о высушивании животной ткани при давлениях ниже 1 атм. В их системе использовался химический насос, создававший низкое давление посредством вытеснения воздуха паром этилового эфира, который затем удалялся с помощью абсорбции в серной кислоте. Для контроля давления применялась U-образная трубка с ртутью. Несмотря на изобретательность конструкции, эффективность системы была ограничена: для снижения влажности образца до 20% требовалось около двух недель [3].

Несколько лет спустя (В 1920-х годах) Шаккелл (L.F. Shackell) опубликовал работу

«Совершенный метод высушивания», в которой использовал аппарат, сходный с конструкциями Бенедикта и Мэннинга, но с механическим вакуумным насосом, устранив необходимость в этиловом эфире. Его устройство достигало давления менее 1 мм рт.ст. за около 2 минут и включало компоненты, аналогичные современным сублимационным сушилкам: камеру, конденсатор и вакуумную систему. Шакелл впервые показал возможность стабилизации биологических образцов при низком давлении и замороженном состоянии, что позволяло сохранять их активность и предотвращать химические реакции. Эксперименты с лиофилизацией тканей мозга и крови у животных подтвердили возможность восстановления биологической активности после высушивания и последующего увлажнения. Хотя его исследования не раскрывали механизмы процесса, они заложили основы современной лиофилизации, которая активно развивается с 1950-х годов и является ключевой технологией стабилизации термолабильных веществ [4].

После публикации работ Шакелла, согласно данным исследований, другие ученые начали применять новые технологии лиофилизации для стабилизации термолабильных веществ [5]. Например, согласно данным исследования Хаммера, лиофилизация *E. coli* позволяет сохранять жизнеспособность микроорганизмов до 54 дней, в то время как при высушивании на воздухе стабильность культуры ограничивается несколькими днями [6]. В 1934 году был запатентован аппарат с холодовой ловушкой, заменяющей серную кислоту Шакелла (патент США №979956), а Флосдорф и Мадд использовали смесь сухого льда и метилцеллозоля для охлаждения и замораживания образцов [7] и в 1939 году Грейвс впервые описал использование механического охлаждения в сушильных аппаратах и определил ключевые параметры процесса [8]. Но первые документальные подтверждения применения сублимационной сушки для получения живых вакцин относятся к началу XX века, в частности, в 1950–60-х годах исследования Рея, Меримана и других заложили теоретические основы лиофилизации [9].

В современном производстве большинство коммерческих живых вакцин реализуется в твердой форме, полученной методом лиофилизации. Однако технологический процесс обезвоживания посредством сублимационного высушивания требует тщательной оптимизации параметров, поскольку неправильный подбор условий может негативно повлиять на жизнеспособность микроорганизмов и, следовательно, на эффективность вакцины. В большинстве случаев параметры процесса определяются методом проб и ошибок, что может приводить к увеличению времени проведения процедуры и повышению себестоимости продукции. Также лиофилизация является одним из основных методов долгосрочного хранения микроорганизмов, однако применение стандартных технологических подходов требует учета специфических нормативных требований [10]. Например, для некоторых вакцинных препаратов минимальное допустимое содержание жизнеспособных клеток после лиофилизации составляет от 40% до 50% и основной целью хранения является сохранение жизнеспособности отдельных клеток для последующего восстановления штаммов или проведения научных экспериментов [11]. В последующие годы методы высушивания микробов, особенно лиофилизация, были значительно усовершенствованы и получили широкое распространение в микробиологической практике [12]. Несмотря на долгую историю развития, технология продолжает активно совершенствоваться и остается важной задачей в области ветеринарной и фармацевтической науки.

В процессе лиофилизации важную роль играют параметры технологического цикла и состав защитных сред, поскольку их характеристики определяют эффективность сохранения структурной целостности и биологической активности активных компонентов вакцинных препаратов. Обзор литературы, посвященный разработке защитных сред для сохранения живых микроорганизмов, свидетельствует о широком использовании традиционных компонентов, таких как пептонные гидролизаты, обезжиренное молоко, сахарозы и другие стабилизирующие вещества, которые формируют микросреду, препятствующую повреждению клеточных структур и антигенов в условиях замораживания и сублимационной сушки. Эти компоненты демонстрируют высокую эффективность в обеспечении клеточной жизнеспособности и стабильности микроорганизмов при длительном хранении [13].

На основании литературных данных выделены основные требования к защитным средам, используемым при лиофилизации микроорганизмов: 1) среда должна обеспечивать защитное действие на всех этапах процесса; 2) лиофилизированные микроорганизмы в такой среде должны

сохранять стабильность при хранении в широком диапазоне температур; 3) после удаления свободной воды среда должна формировать мелкопористую, плотную структуру, предотвращая унос микробов и их повреждение во время вскрытия ампул; 4) среда должна быть достаточно гидрофильной для оптимальной остаточной влажности; 5) защитная среда должна быть максимально очищена от солей и приготовлена на дистиллированной воде; 6) для вакцинных препаратов дополнительно предъявляются требования соответствия фармакопейным стандартам, хорошей растворимости, однородности формы и отсутствия антигенных свойств [14, 15].

Различные защитные вещества, применяемые для консервации микроорганизмов, обладают преимущественно специфическим защитным действием в отношении отдельных неблагоприятных факторов окружающей среды. Учитывая данный факт, целесообразно использовать сложные защитные среды, состоящие из двух или более компонентов, обеспечивающих комплексную защиту. Важным аспектом является разработка индивидуальных составов защитных сред для каждого вида микроорганизмов, включающих тщательно сбалансированный набор компонентов по качеству и концентрации. Такой состав должен минимизировать негативные эффекты, связанные с процессами замораживания и сублимационной сушки, а также способствовать снижению клеточной гибели и уменьшению отходов продукции за счёт улучшения физических свойств конечного продукта. Оптимизация состава защитных сред и соотношений стабилизаторов является ключевым фактором повышения эффективности сохранения жизнеспособности микроорганизмов при длительном хранении и последующем использовании [14].

Процесс лиофилизации представляет собой многоступенчатый технологический цикл, в каждом этапе которого выделены критические точки, определяющие качество и стабильность конечного продукта. Он включает подготовку исходного материала (раствор или суспензию), с применением фильтрационной стерилизации; стадию замораживания, при которой жидкость переходит в твердое состояние с образованием кристаллов или стекловидных структур, вызывающих механические напряжения и концентрацию растворенных веществ; первичную сушку (сублимацию), осуществляемую под вакуумом с контролируемым нагревом для удаления льда без коллапса или обратного плавления; вторичную сушку (десорбцию), при которой удаляется связанная влага при температурах выше нуля и низком давлении, достигая заданных уровней остаточной влажности для обеспечения стабильности продукта. После завершения сушки осуществляется кондиционирование и укупорка лиофилизата в условиях, исключающих воздействие влаги, кислорода, света и загрязнений. Контроль этих факторов является критически важным для сохранения биологических и физико-химических свойств конечного продукта [16]. В соответствии с представленными литературными данными, процесс лиофилизации включает в себя следующие основные этапы:

1. Этап замораживания: данный этап предполагает быстрое охлаждение исходного продукта с целью его превращения в твердую матрицу, что способствует формированию структурных характеристик, оптимальных для последующей сушки.

2. Этап первичной сушки (сублимационной сушки): на этом этапе осуществляется удаление льда посредством сублимации при одновременном снижении давления окружающей среды и повышении температуры продукта. В некоторых случаях перед началом основной сушки проводится дополнительный этап – отжиг или термоциклирование, направленный на улучшение структурных свойств и стабилизацию продукта.

3. Этап вторичной сушки: на данном этапе удаляется связанная вода до достижения целевого уровня остаточной влаги, что обеспечивает сохранность структурной целостности полученного лиофилизата и его пригодность для последующего приготовления растворов для инъекций или таблетированных форм.

Данная последовательность стадий обеспечивает эффективное сохранение биологических и физико-химических свойств исходного продукта при минимизации деградационных процессов. Такие данные о последовательности этапов подробно описаны во многих литературных источниках и являются одними из наиболее приемлемых и широко используемых в данной области [17–20]. Необходимо подробно охарактеризовать каждый этап процесса лиофилизации, включая его технологические особенности, условия проведения и основные параметры, что позволит более полно понять механизмы сохранения свойств продукта и оптимизировать технологический процесс:

Этап замораживания определяет морфологию ледяных кристаллов и физическое состояние продукта, влияя на скорость сушки, пористость и стабильность. Методы замораживания варьируют от медленного направленного охлаждения до быстрого погружения в жидкий азот, при этом скорость охлаждения влияет на структуру льда: медленное замораживание формирует крупные пластины с низкой пористостью, а быстрое — мелкие сферические кристаллы с большей пористостью. Контроль структуры замороженного слоя и одновременное образование кристаллов обеспечивают однородность продукта. Процесс замораживания может вызвать механические напряжения и негативно повлиять на активность веществ вследствие низких температур, кристаллизации или денатурации. Оптимизация метода замораживания важна для повышения эффективности последующих стадий и сохранения свойств конечного продукта [21].

После замораживания структура продукта может быть дополнительно обработана термоциклированием («отжигом») для кристаллизации полиморфных веществ и увеличения размера льда. Этот этап повышает однородность, скорость сублимации и стабильность лиофилизата за счет перекристаллизации аморфных компонентов и снижения остаточной влаги. «Отжиг» включает выдержку при температуре выше точки эвтектики с последующим охлаждением, что способствует перераспределению кристаллов льда, их сферической форме и снижению внутреннего напряжения. Данный термический режим ускоряет рост крупных кристаллов, улучшает структуру поверхности и повышает эффективность последующих стадий сушки, а также оптимальные параметры зависят от состава продукта и требуют индивидуальной настройки для обеспечения качества и стабильности конечного лиофилизата [22, 23].

Первичная сушка (сублимация) является наиболее затратным по времени и энергии этапом лиофилизации, поскольку в этот период удаляется основная часть воды из продукта при введении вакуума. Оптимизация процесса достигается регулировкой температуры полки и давления в камере, а также контролем параметров, таких как состав, высота слоя, конфигурация флаконов и состояние конденсатора. Эффективность повышается при поддержании температуры полки в верхних пределах стабильности и давления в диапазоне 10–30% от парциального давления льда, что способствует улучшению теплопередачи без расплавления замороженного ядра. В течение процесса важно поддерживать вакуум для регулировки теплопередачи и предотвращения перегрева. На завершающем этапе необходимо постепенно увеличивать температуру для оптимизации скорости сублимации, избегая разрушения продукта из-за остаточной влаги. Правильная настройка этих параметров обеспечивает эффективность и качество лиофилизата [24].

Вторичная сушка (десорбция или досушивание), как правило, осуществляется при температурных режимах, обеспечивающих одновременное эффективное удаление влаги и сохранение стабильности ФС. Выбор данного режима и продолжительность его осуществления определяется ключевым параметром данного этапа – остаточной влажностью лиофилизата. Допустимый уровень остаточной влажности должен быть определен, прежде всего, на основе данных стабильности лиофилизата. Дальнейшую оптимизацию процесса рекомендуется осуществлять, базируясь на обратной зависимости величины остаточной влажности от температурных показателей и давления. Как правило, акцент делается на температуру полки, поскольку принято считать, что скорость удаления связанной воды для ЛС во время этапа вторичной сушки, определяется температурными факторами. Вторичная сушка обычно проводится при более высоком вакууме, когда температура лиофилизата достигает температуры выше нуля. Некоторыми исследователями показано, что изотермическая десорбция осуществляется наиболее интенсивно и позволяет снизить конечную остаточную влажность при уровне давления около 10–2 мбар, однако более высокие значения вакуума (10–3 мбар) не приводят к существенному улучшению работы. Вторичная сушка считается завершенной, когда остаточная влажность в продукте, достигает желаемого уровня. В этот момент пробирки закрываются пробками внутри камеры, камера аэрируется, и температура полки поддерживается на уровне около 4°C до выгрузки флаконов [25].

Первичная упаковка, включающая флаконы и/или ампулы, являются важными компонентами системы упаковки лиофилизации, существенно влияя на теплопередачу, качество и стабильность конечного продукта. Стекланные контейнеры, изготовленные из гидролитически стойкого стекла, широко применяются для упаковки лиофилизированных препаратов благодаря

своей высокой теплопроводности (около 1,05 Вт/м·К), что способствует эффективной сублимации и равномерному удалению влаги в ходе высушивания. Однако взаимодействие стеклянных поверхностей с растворами может приводить к растворению и выщелачиванию ионов (Na^+ , K^+ , H_3O^+), особенно при повышенных значениях pH, что потенциально негативно сказывается на качестве продукта за счет изменения его химического состава и снижения стабильности активных веществ. Для снижения таких негативных эффектов применяют силиконовое покрытие или осуществляют удаление поверхностного слоя стекла, что способствует уменьшению выщелачивания и повышению совместимости упаковки с содержимым [26]. Таким образом, оптимизация свойств первичной упаковки является критическим аспектом обеспечения эффективности лиофилизационного процесса и сохранения качества вакцинных препаратов.

Разработчикам и технологам на всех этапах разработки и масштабирования технологического процесса необходимо учитывать риски, связанные с неправильным подбором режимов лиофилизации, а также разрабатывать меры по предотвращению производства продукции низкого качества. Выбор технологии лиофилизации, состава вспомогательных веществ и температурных режимов сублимации основывается на физико-химических и технологических свойствах препаратов, а также особенностях их применения. В технологии лиофилизации биологических продуктов важно оптимизировать режим замораживания таким образом, чтобы обеспечить сохранение нативного состояния биологических мембран во время кристаллизации внутриклеточной жидкости, что критически влияет на биологическую активность и стабильность конечного продукта.

Заключение

На основании проведенного анализа можно заключить, что процесс лиофилизации представляет собой сложную многоэтапную технологическую процедуру, требующую строгого контроля технологических параметров и оптимизации состава защитных сред. Эффективность данного процесса во многом зависит от правильного подбора компонентов защитных сред и их концентраций, что обеспечивает сохранность структурной целостности и биологической активности препаратов в условиях замораживания и сушки. Только при реализации комплексного подхода возможно получение высококачественных, стабильных и безопасных вакцинных средств с длительным сроком хранения, что подтверждается многолетней практикой и научными данными о превосходстве лиофилизации как метода длительного сохранения живых микроорганизмов с неизменными свойствами. Эти выводы подчеркивают необходимость дальнейших исследований для совершенствования технологий лиофилизации и повышения их эффективности в производстве биологических препаратов.

Список использованных источников

1. Долинов К.Е. Основы технологии сухих биопрепаратов. М.: Медицина, 1969. 228 с.
2. Couriel B. Freeze drying: Past, present, and future // PDA J. Pharm. Sci. Technol. – 1980. – Vol. 34. – P. 352–357.
3. Нежута А. А. Теоретические и практические основы технологии сублимационного высушивания биопрепаратов [Текст] / А. А. Нежута, Э. Ф. Токарик, А. Я. Самуйленко [и др.] - Курск: Изд-во КГСХА, 2002. - 239 с.
4. Tang X. C. Design of freeze-drying processes for pharmaceuticals: practical advice [Текст] / X. C. Tang, M. J. Pikal // Pharmaceutical research. – 2004. – Т. 21. – №. 2. – С. 191–200.
5. Shackell L.D. An improved method of desiccation, with some applications to biological problems // Am. J. Physiol. – 1909. – Vol. 24. – P. 325–340.
6. Никитин Е.Е., Звягин И.В. Замораживание-высушивание биологических препаратов. М.: Колос, 1979. 337 с.
7. Jennings T. A. Lyophilization: introduction and basic principles. [Текст] – CrC Press, 1999.
8. Алексеев К. В., Блынская Е. В., Тишков С. В. Теоретические и практические основы лиофилизации лекарственных препаратов. Москва. 2019. С. 11-12.
9. Смит О. Влияние низких температур на живые ткани и клетки. В кн.: Применение замораживания и высушивания в биологии / Под ред. Р. Харриса. Москва. 1956. 432 с.
10. Грачева И.В., Осин А.В. Механизмы повреждений бактерий при лиофилизации и

протективное действие защитных сред // Проблемы особо опасных инфекций. – 2016. – Вып. 3. – С. 5–12.

11. Похиленко В.Д., Баранов А.М., Детушев К.В. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. – 2009. – № 4(12). – С. 99–118.

12. Охапкина В.Ю. Методы поддержания микробных культур // Методы исследований. Модели и прогнозы / Теоретическая и прикладная экология. – 2009. – №4. С. 21-23.

13. Могилюк В. Аспекты лиофилизационной сушки водных растворов // Фармацевтическая отрасль. – 2014. – № 5(46). – С. 46–53.

14. Бланков Б.И., Клебанов Д.Я. Применение лиофилизации в микробиологии. Москва. 1961. 262 с.

15. Белоус А.М., Цветков И.В. Научные основы сублимационного консервирования. Киев: Наукова думка, 1985. 345 с.

16. Carpenter J. F. Rational design of stable lyophilized protein formulations: theory and practice. Rational design of stable protein formulations. [Текст] / J. F. Carpenter, B. S. Chang, W. Garzon-Rodriguez, T.W. Randolph // Pharm Biotechnol 2002:109–33. PMID: 11987749.

17. Searles J. A. Annealing to optimize the primary drying rate, reduce freezing induced drying rate heterogeneity, and determine T(g)' in pharmaceutical lyophilization. [Текст]/ J. A. Searles, J. F. Carpenter, T. W. Randolph // J Pharm Sci 2001; 90(7): 872–87. PMID: 11458336.

18. Carpenter J.F., Chang B.S., GarzonRodriguez W., Randolph T.W. Rational design of stable lyophilized protein formulations: theory and practice. Rational design of stable protein formulations. Pharm Biotechnol 2002:109–33. PMID: 11987749.

19. Chang L.L., Shepherd D., Sun J. et al. Mechanism of protein stabilization by sugars during freeze-drying and storage: Native structure preservation, specific interaction, and/or immobilization in a glassy matrix? J Pharm Sci 2005; 94(7):1427–44. DOI:

20. Hottot A., Vessot S., Andrieu J. Freeze drying of pharmaceuticals in vials: Influence of freezing protocol and sample configuration on ice morphology and freeze-dried cake texture. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification 2007;46(7):666–74.

21. Suverkrup R. J. Fast Precise Freeze Drying of Hyaluronic Acid/Dextran Ophthalmic Lyophilisate Carrier Systems (OLCS) [Текст] / R. J. Suverkrup, O. Krasichkova, M. Diestelhorst // Investigative Ophthalmology & Visual Science. – 2006. – Т. 47. – №. 13. – С. 5130–5130.

22. Блынская Е. В. Технологические подходы к совершенствованию процесса лиофилизации белковых и пептидных лекарственных препаратов [Текст] / Е. В. Блынская, С. В. Тишков, К. В. Алексеев // Российский биотерапевтический журнал. 2017. № 1. С. 6–11.

23. Searles J.A., Carpenter J.F., Randolph T.W. Annealing to optimize the primary drying rate, reduce freezinginduced drying rate heterogeneity, and determine T(g)' in pharmaceutical lyophilization. J Pharm Sci 2001;90(7):872–87. PMID: 11458336.

24. Сушка биологических материалов, вопросы механизации и автоматизации // Труды Московского НИИ эпидемиологии, микробиологии, гигиены. Выпуск 7. М. 1960. 173 с.

25. Белоус А.М., Цветков И.В. Научные основы сублимационного консервирования. Киев: Наукова думка, 1985. 345 с.

25. Бланков Б.И., Клебанов Д.И. Некоторые критерии при исследовании процесса лиофилизации биологических материалов. — Труды Москвс. Науч.-исслед.инст. эпидемиол., микробиол. и гигиены, М., 1960, вып.7, с.5 —12.

ЛИОФИЛИЗАЦИЯ ҮДЕРІСІНІҢ НЕГІЗГІ ПРИНЦИПТЕРІ МЕН ТЕХНОЛОГИЯЛЫҚ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІ

Бердибаева А.Б.

Қырғыз Республикасы Ұлттық ғылым академиясы, Биотехнология институты,
Қырғыз Республикасы

Аннотация. Бұл шолу мақаласында вакциналық препараттарды лиофилизациялау әдістері мен технологиялары қарастырылады. Процестің негізгі кезеңдері мен сублимация шарттарын оңтайландырудың кейбір тәсілдері, сондай-ақ дайын өнімнің тиімділігі мен сапасын арттыру жолдары талданады. Қорғаныш орталардың вакциналардың тұрақтылығын, қауіпсіздігін және биологиялық белсенділігін қамтамасыз етудегі рөліне, сондай-ақ оларды сақтау және тасымалдау жағдайларын кеңейтуге ерекше назар аударылады. Бұл шолу лиофилизация технологияларының қазіргі даму жағдайы туралы кешенді түсінік береді және осы саладағы болашақ зерттеулердің перспективалық бағыттарын анықтайды.

Түйінді сөздер: сақтау әдістері, лиофилизация, қорғаныш орта, вакциналық препараттар

KEY PRINCIPLES AND TECHNOLOGICAL FEATURES OF THE LYOPHILIZATION PROCESS

Berdibaeva A.B.

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

Abstract. This review article discusses the methods and technologies of vaccine lyophilization. It analyzes the main stages of the process as well as certain approaches to optimizing sublimation conditions to improve the efficiency and quality of the final product. Special attention is paid to the role of protective media in ensuring the stability, safety, and biological activity of vaccines, as well as in expanding their storage and transportation conditions. The presented review provides a comprehensive overview of the current state of lyophilization technologies in vaccine production and identifies promising directions for future research in this field.

Keywords: storage methods, lyophilization, protective media, vaccine preparations

ДАННЫЕ ОБ АВТОРАХ

1. Мауленбай Акерке Даулеткызы, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Казахстан ORCID 0000-0001-9535-2997, maulenbay.id@gmail.com

2. Килибаев Санат Серикович, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Казахстан, ORCID 0000-0001-9203-2189, sanat.kilibaev@mail.ru

Кенжебаева Маржан Кулкубековна, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Казахстан ORCID 0000-0001-6666-6532, kenzhebaeva80k@mail.ru

Мамбеталиев Муратбай, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Казахстан, ORCID 0000-0001-6034-6642, m.mambetaliyev@mail.ru

Азанбекова Молдир Абдильдаевна, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Казахстан, ORCID 0000-0002-5807-7604, azanbekova.m@biosafety.kz

Валиева Айсулу Дулатбековна, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Казахстан, ORCID 0009-0008-9853-142X, a.dulatbekovna@biosafety.kz

Сәрсенқұлова Нұрайым Айбекқызы, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Казахстан, ORCID 0000-0001-9930-0297, nuraiym.sarsenkulova@mail.ru

Туысқанова Мөлдір Сержанқызы, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Казахстан, ORCID 0000-0001-6565-082X, monica_94@list.ru

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

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

Кадырова Балзия Бахытовна, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Казахстан, ORCID 0009-0001-3209-2312, kadyrova.b@biosafety.kz

Ашимова Алия Абылкаировна, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Казахстан, ORCID 0009-0007-5302-1648, a.ashimova@biosafety.kz

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

3. Баракбаев Кайнар Базаркулович, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Казахстан, ORCID 0000-0002-7701-5142, k.barakbayev@biosafety.kz

Алиева Алина Бейсеновна, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Казахстан, ORCID 0009-0002-2998-2610, a.aliyeva@biosafety.kz

Серикбайов Оразбек Нурлибайұғлы, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Казахстан, ORCID 0002-0008-6139-5524, o.oralbek@biosafety.kz

Айдарбекова Динара Болатовна, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Казахстан, ORCID 0009-0001-5926-0160, d.aidarbekova@biosafety.kz

Алмас Ермукан Канатович, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Казахстан, ORCID 0009-0001-2098-644X, ye.almas@biosafety.kz

4. Юсупов Малик Реимжанович, ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Казахстан, ORCID 0000-0002-3810-2286, malik_imhana@mail.ru

Арысбекова Алтынай Танибергеновна, ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Казахстан, ORCID 0000-0002-3246-9095, al_tuna@mail.ru

Бегасыл Кобейхан Сапарханұлы, ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Казахстан. thekobi2014@gmail.com, ORCID 0000-0002-1570-2035

Адамбаева Акмарал Ауелхановна, ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Казахстан, aaakmaral@mail.ru, ORCID 0000-0002-6093-7853

Айтлесова Роза Балтабаевна, ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Казахстан, rozaitlesova@mail.ru, ORCID 0009-0003-3633-3982

Көшкінбай Нұржан Жомартұлы, ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный

институт», Казахстан, koshkinbay.nurzhan@mail.ru, ORCID 0009-0007-5228-5342

Нурпейсова Айнур Султановна, ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Республика Казахстан, ainurnurpeisova@mail.ru, +7 701 811 34 27, ORCID 0000-0002-7039-5621

Абай Жандос Сайлаубекұлы, ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Казахстан, abaizh097@mail.ru, +7 776 980 3621, ORCID 0000-0003-1822-1437

Касенов Мархабат Мелисбекович, ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Казахстан, kassenov_mm@mail.ru, +7 701 585 05 58, ORCID 0000-0001-6124-703X

5. Жунушов Асанкадыр Темирбекович, Институт биотехнологии Национальной академии наук КР, г. Бишкек, Кыргызская Республика, ORCID 0000-0003-2044-7849, zhunushov.asankadyr@gmail.com

6. Бердибаева Аида Бердибаевна, Институт биотехнологии Национальной академии наук КР, г. Бишкек, Кыргызская Республика

ТРЕБОВАНИЯ К НАУЧНЫМ СТАТЬЯМ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В ЖУРНАЛЕ

Правила для авторов

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

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

КАК ПОДГОТОВИТЬ СТАТЬЮ В ЖУРНАЛ

1. Требования к рукописям, направляемым в журнал

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

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

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

2. Язык статьи

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

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

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

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

3. Титульный лист (метаданные статьи).

Титульный лист должен включать следующую информацию:

- 1) код МРНТИ (Международный рубрикатор научно-технической информации; определяется по ссылке <http://grnti.ru/>)
- 2) название статьи (лаконично и информативно. Заголовки часто используются в информационно-поисковых системах. По возможности избегайте сокращений и формул)
- 3) инициалы и фамилии авторов (пожалуйста, четко фамилии (имена) каждого автора и проверьте правильность написания всех имен)

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

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

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

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

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

4. План построения оригинальных статей

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Примеры оформления ссылок:

Статья в периодическом издании (журнале)

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

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

Книги

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

Материалы конференций

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

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

Интернет-источники

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

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

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

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

5. Оформление обзоров и кратких сообщений

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

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

6. Особенности оформления таблиц, рисунков

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

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

КАК ПОДАТЬ СТАТЬЮ НА РАССМОТРЕНИЕ

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

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

Перед отправкой рукописи убедитесь, что:

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

7. К сведению авторов

К статье прилагаются:

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

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

Вид рецензирования – двойное «слепое» рецензирование, то есть и автор, и рецензент остаются анонимными. Рукопись направляется на отзыв члену редколлегии и рецензенту; в спорных случаях по усмотрению редколлегии привлекаются дополнительные рецензенты; на основании экспертных заключений редколлегия определяет дальнейшую судьбу рукописи: принятие к публикации в представленном виде, необходимость доработки или отклонение. В случае необходимости рукопись направляется авторам на доработку по замечаниям рецензентов и редакторов, после чего она повторно рецензируется, и редколлегия вновь решает вопрос о приемлемости рукописи для публикации. Переработанная рукопись должна быть возвращена в редакцию в течение месяца после получения авторами отзывов; в противном случае рукопись рассматривается как вновь поступившая. Рукопись, получившая недостаточно высокие оценки при рецензировании, отклоняется как не соответствующая уровню или профилю публикаций журнала.

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

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

Наш адрес:

080409, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, ул. Момышулы 15

ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности»

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

E-mail: unots@biosafety.kz

Публикация в журнале для авторов **бесплатна**.

НАЗВАНИЕ

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

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

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

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

Как использовать данный шаблон

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

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

Введение

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

Материалы и методы

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

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

При необходимости этот раздел может быть разделен на подразделы.

Подраздел

Результаты

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

Подраздел

Таблицы и рисунки

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

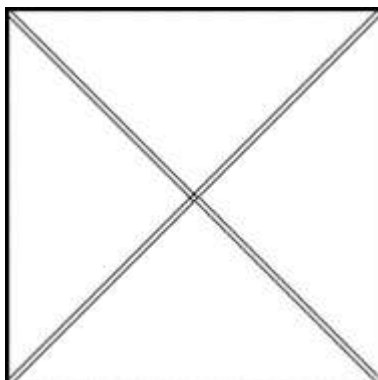
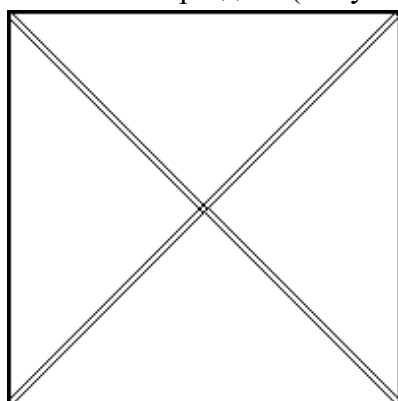


Рисунок 1 – Это рисунок. Схемы имеют такое же форматирование

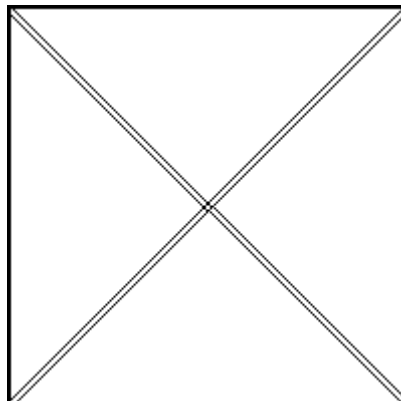
Таблица 1 – Это таблица. Таблицы следует размещать в основном тексте рядом с местом первого упоминания

Заголовок 1	Заголовок 2	Заголовок 3
вводные 1	данные	данные
вводные 2	данные	данные ¹
¹ Примечания к данным таблицы разместить под таблицей.		

Продолжить текст раздела (Рисунок 2).



(а)



(б)

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

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

Обсуждение

Авторы должны обсудить полученные результаты и то, как их можно интерпретировать с точки зрения предыдущих исследований и рабочих гипотез. В обсуждении можно привести возможные объяснения сходства и противоречий с другими аналогичными исследованиями. В

максимально широком контексте следует обсудить выводы и их значение. Также в данном разделе могут быть выделены будущие направления исследований.

Заключение

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

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

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

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

Литература

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

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

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

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

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

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

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

References

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

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

Например:

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

МАҚАЛА ТАҚЫРЫБЫ

Аты Tегі¹, Аты Tегі², Аты Tегі²,*

¹ Жұмыс орны

² Жұмыс орны

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

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

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

TITLE

Firstname Lastname¹ , Firstname Lastname² , Firstname Lastname² .*

¹ Affiliation

² Affiliation

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

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

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