Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі Ғылым комитеті «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» шаруашылық жүргізу құқығындағы республикалық мемлекеттік кәсіпорны

Республиканское государственное предприятие на праве хозяйственного ведения «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан

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

### Ғылыми журнал БИОҚАУІПСІЗДІК ЖӘНЕ **БИОТЕХНОЛОГИЯ**

Научный журнал БИОБЕЗОПАСНОСТЬ И БИОТЕХНОЛОГИЯ

> The scientific journal **BIOSAFETY AND BIOTECHNOLOGY**



### Бас редакторы

### б. ғ. д., қауымдастырылған профессор, ҚР ЖҒА академигі

### К.Д. Закарья

#### Редакция алқасы:

Абдураимов Е.О. в. ғ. д. (Қазақстан), бас ред. орынбасары

Абеуов Х.Б. в. ғ. к. қауымдастырылған проф. (Қазақстан)

Айкимбаев А.М. м. ғ. д., проф. (Қазақстан)

Баракбаев К.Б. в. ғ. к. (Қазақстан)

Булатов Е.А. б. ғ. к. (Қазақстан)

Герилович А.П. в. ғ. д., проф. (Украина)

Risatti G. PhD, проф. (Америка құрама штаттары)

Еспембетов Б.А. в. ғ. к. (Қазақстан)

Касенов М.М. в. ғ. к. (Қазақстан)

**Kock R.** PhD, проф. (Ұлыбритания)

Кошеметов Ж.К. б. ғ. д. (Қазақстан)

Кутумбетов Л.Б. в. ғ. д., қауымдастырылған проф. (Қазақстан)

Кыдырбаев Ж.К. в. ғ. к., проф. (Қазақстан)

Мамбеталиев М. в. ғ. к., қауымдастырылған проф. (Қазақстан)

Мырзахметова Б.Ш. б. ғ. к. (Қазақстан)

Наханов А.К. б. ғ. к. (Қазақстан)

Нургазиев Р.З. в. ғ. д., проф. (Қыргызстан)

Нурпейсова А.С. в. ғ. магистрі (Қазақстан)

Орынбаев М.Б. в. ғ. к., проф. (Қазақстан)

Рсалиев А.С. а-ш. ғ. к. (Қазақстан)

Саттори И. в. ғ. д., проф. (Тәжікістан)

Султанкулова К.Т. б. ғ. к., проф. (Қазақстан)

Сайдулдин Т.С. в. ғ. д., проф. (Қазақстан)

Стукова М.А. м. ғ. к. (Ресей)

Червякова О.В. б. ғ. к. (Қазақстан)

Корректорлар: Г.А. Абильдаева, Г.Э. Каюпова

#### ҒЫЛЫМИ ЖУРНАЛ «БИОҚАУІПСІЗДІК ЖӘНЕ БИОТЕХНОЛОГИЯ»

### ISSN 2707-7241

Құрылтайшы: ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖЖҚ РМК

Қазақстан Республикасының Ақпарат және қоғамдық даму министрлігінің Ақпарат комитетінде 20.11.2019 ж. №**КZ33V00017380** куәлікпен тіркелген

Мерзімділігі: жылына 4 рет Тиражы: 200 дана

Редакцияның мекен-жайы 080409, Жамбыл облысы, Қордай ауданы, Гвардейский қтк.,

Б. Момышұлы к-сі, 15.

тел. (726-36) 7-22-28, ішкі 112.

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

© Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты, 2020

### Главный редактор д-р биол. наук, ассоциированный профессор, академик AEH PK

#### К.Д. Закарья

#### Редакционная коллегия

Абдураимов Е.О. д-р вет. наук (Казахстан), зам. главного редактора

Абеуов Х.Б. канд. вет. наук, ассоц. проф. (Казахстан)

Айкимбаев А.М. д-р мед. наук, проф. (Казахстан)

Баракбаев К.Б. канд. вет. наук (Казахстан)

Булатов Е.А. канд. биол. наук (Казахстан)

Герилович А.П. д-р вет. наук, проф. (Украина)

Risatti G. PhD, проф. (США)

Еспембетов Б.А. канд. вет. наук (Казахстан)

Касенов М.М. канд. вет. наук (Казахстан)

**Kock R.** PhD, проф. (Великобритания)

Кошеметов Ж.К. д-р биол. наук (Казахстан)

Кутумбетов Л.Б. д-рвет. наук, ассоц. проф. (Казахстан)

Кыдырбаев Ж.К. канд. вет. наук, проф. (Казахстан)

Мамбеталиев М. канд. вет. наук, ассоц. проф. (Казахстан)

Мырзахметова Б.Ш. канд. биол. наук (Казахстан)

Наханов А.К. канд. биол. наук (Казахстан)

Нургазиев Р.З. д-р вет. наук, проф. (Кыргызстан)

Нурпейсова А.С. магистр вет. наук (Казахстан)

Орынбаев М.Б. канд. вет. наук, проф. (Казахстан)

Рсалиев А.С. канд. с.-х. наук (Казахстан)

Саттори И. д-р вет. наук, проф. (Таджикистан)

Султанкулова К.Т. канд. биол. наук, проф. (Казахстан)

Сайдулдин Т.С. д-р вет. наук, проф. (Казахстан)

Стукова М.А. канд. мед. наук (Россия)

Червякова О.В. канд. биол. наук (Казахстан)

Корректоры: Г.А. Абильдаева, Г.Э. Каюпова

### НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ «БИОБЕЗОПАСНОСТЬ И БИОТЕХНОЛОГИЯ» ISSN 2707-7241

Учредитель: РГП на ПХВ «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК

Свидетельство о постановке на учет периодического печатного издания в Комитете информации Министерства информации и общественного развития Республики Казахстан № **KZ33V00017380**, выданное 20.11.2019 г.

Периодичность: 4 раза в год Тираж: 200 экземпляров

Адрес редакции: 080409, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, ул. Момышулы 15, тел. (726-36) 7-22-28, вн. 112. www: biosafety.kz, E-mail: unots@biosafety.kz

© Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, 2020

3

## Editor in chief Doctor of Biology Sciences, the associated professor, academician of the ANS RK K.D. Zakarya

#### Editorial board:

Abduraimov E.O. Doc. Vet. (Kazakhstan), deputy editor-in-chief

**Abeuov Kh.B.** Cand. Vet., Assoc. Prof. (Kazakhstan)

Aikimbayev A.M. Doc. Med., Prof. (Kazakhstan)

Barakbayev K.B. Cand. Vet. (Kazakhstan)

**Bulatov E.A.** Cand. Biol. (Kazakhstan)

**Gerilovich A.P.** Doc. Vet., Prof. (Ukraine)

Risatti G. PhD., Prof. (USA)

**Espembetov B.A.** Cand. Vet. (Kazakhstan)

Kassenov M.M. Cand. Vet. (Kazakhstan)

**Kock R.** PhD., Prof. (United Kingdom)

Koshemetov Zh.K. Doc. Biol. (Kazakhstan)

**Kutumbetov L.B.** Doc. Vet., Assoc. Prof. (Kazakhstan)

**Kydyrbayev Zh.K.** Cand. Vet., Prof. (Kazakhstan)

Mambetaliyev M. Cand. Vet., Assoc. Prof. (Kazakhstan)

Myrzakhmetova B.Sh. Cand. Biol. (Kazakhstan)

Nakhanov A.K. Cand. Biol. (Kazakhstan)

**Nurgaziyev R.Z.** Doc. Vet., Prof. (Kyrgyzstan)

Nurpeisova A.S. Magister Vet. (Kazakhstan)

**Orynbayev M.B.** Cand. Vet., Prof. (Kazakhstan)

Rsaliyev A.S. Cand. Agri. (Kazakhstan)

Sattori I. Doc. Vet., Prof. (Tajikistan)

Sultankulova K.T. Cand. Biol., Prof. (Kazakhstan)

**Saiduldin T.S.** Doc. Vet., Prof. (Kazakhstan)

Stukova M.A. Cand. Med. (Russia)

Chervyakova O.V. Cand. Biol. (Kazakhstan)

Editors: G.A. Abildayeva, G.E. Kayupova

### THE SCIENTIFIC JOURNAL «BIOSAFETY AND BIOTECHNOLOGY» ISSN 2707-7241

Founder: RGE on the basis of ECR «Research Institute for Biological Safety Problems» of the CS MES RK The certificate of registration of a periodic printed publication I the Committee of Information of the Mnistry of Information and Social Development of the Republic of Kazakhstan # KZ33V00017380, issued 20.11.2019.

Periodicity: 4 times a year Circulation: 200 copies

Editorial address: 15, B. Momyshuly street, Gvardeyskiy, Korday region, Zhambyl oblast, 080409, tel. (726-36) 7-22-28, int. 112, www: biosafety.kz, E-mail: unots@biosafety.kz

© Research Institute for Biological Safety Problems, 2020

УДК 578.823.1:72:74

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

РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Казахстан

### ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОЙ ИНФИЦИРУЮЩЕЙ И ИММУНИЗИРУЮЩЕЙ ДОЗЫ ШТАММОВ *PASTEURELLA MULTOCIDA* НА СВИНЬЯХ

**Аннотация.** В данной работе определена инфицирующая и иммунизирующая дозы штаммов *Pasteurella multocida* для свиней. Установлены титры антител в сыворотках крови иммунизированных свиней в ИФА. **Ключевые слова:** пастереллез, возбудитель, доза, иммунизация, заражение.

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

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

### ШОШҚАЛАРДА PASTEURELLA MULTOCIDA ШТАММДАРЫНЫҢ ОҢТАЙЛЫ ЖҰҚТЫРУШЫ ЖӘНЕ ИММУНИНДЕУШІ ДОЗАСЫН АНЫҚТАУ

**Аннотация.** Бұл жұмыста шошқаларға арналған Pasteurella multocida штаммдарының жұқтырушы және иммундеуші дозасы анықталған. ИФТ-да иммунделеген шошқалардың қан сарысуындағы антиденелер титрі анықталды.

Түйін сөздер: пастереллез, қощдырушы, доза, иммундеу, жұқтыру.

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

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

### DEFINITION OF OPTIMAL INFECTING AND IMMUNIZING DOSE OF PASTEURELLA MULTOCIDA STRAINS FOR PIGS

**Abstract.** In this work, infectious and immunizing doses of Pasteurella multocida strains for pigs were determined. The titers of antibodies in the blood serum of immunized pigs in ELISA were established.

**Keywords:** pasteurellosis, pathogen, dose, immunization, infection.

**Введение.** Пастереллез (лат., англ. – *Pasteurellosis*; геморрагическая септицемия) – контагиозная инфекционная болезнь животных многих видов, характеризующаяся при остром течении септическими явлениями, крупозным воспалением легких, плевритом, отеками в различных областях тела, а при подостром и хроническом течениях гнойнонекротизирующейпневмонией, поражением глаз, суставов, молочной железы и геморрагическим энтеритом [1].

К пастереллезу восприимчивы все виды домашних млекопитающих и птицы. Наиболее чувствительны буйволы, крупный рогатый скот, кролики и куры. Относительно высокую устойчивость к пастереллезу имеют лошади и плотоядные [2].

Передача возбудителя осуществляется при прямом контакте (при совместном содержании здоровых и больных животных), а также через инфицированные корма, воду, почву, предметы ухода, молоко, отходы мясоперерабатывающей промышленности, мышевидных грызунов, насекомых, дикую птицу и человека. Заражение животных возможно через органы дыхания (аэрогенный путь), травмированную кожу и слизистые оболочки. Заболеваемость и летальность при пастереллезе могут сильно варьироваться в зависимости от вирулентности возбудителя, иммунологической структуры стада, условий содержания и кормления. Болезнь наблюдается в любое время года, у свиней чаще в марте-апреле и сентябре-ноябре, у крупного рогатого скота в июле-августе и сентябре-ноябре [3].

Пастереллез свиней чаще всего встречается в виде вторичной инфекции, осложняющей чуму, грипп, рожу и другие болезни свиней. Болезнь у свиней протекает сверхостро и остро, характеризуется явлениями геморрагической септицемии, поражением легких и плевры. В случае сверхострого течения у свиней повышается температура тела (до 41-42 °C) [4]. Кожа ушных раковин и брюшной стенки становится синевато-багровой — признак слабости сердца, развивается фарингит, подкожная клетчатка в области

шеи сильно отекает. Наблюдается конъюнктивит, кровоизлияния в кожу и понос. Животные погибают при явлениях асфиксии в течение 1-3 суток [5]. При хроническом течении пастереллеза у больных свиней температура тела остается в пределах нормы, уменьшается кашель, но слабость и исхудание прогрессируют, может появиться экзема, опухают суставы. Некоторые животные выживают, но во многих случаях, болезнь обычно заканчивается смертельным исходом на 5-8 день [6].

Одним из важных моментов успешной борьбы с пастереллезом является своевременное применение средств специфической профилактики [7, 8]. Вакцины применяют с профилактической целью и вынужденно при стационарном неблагополучии хозяйств. Для пассивной иммунизации используют гипериммунные сыворотки.

В настоящее время в других странах для профилактики пастереллеза свиней рекомендуется более 15 вакцин, в основном инактивированные, такие как фармолвакцинапротив пастереллеза поливалентная (Сумская биофабрика, Украина); вакцина против пастереллеза свиней поливалентная эмульгированая (Сумская биофабрика, Украина); эмульгированная вакцина против пастереллеза свиней (ООО «Биомедродники», Россия); ассоциированная поливалентная вакцина СПС, содержащая пастереллезный антиген (УП «Витебская биофабрика», Республика Беларусь) [9].

В Республике Казахстан в целях предотвращения возникновения и распространения пастереллеза среди животных применяются закупаемые за рубежом вакцины и отечественнаявакцина, разработанная Бияшевым К.Б. и др. «Поливалентная вакцина против пастереллеза крупного рогатого скота, овец, свиней и лошадей» (утвержденная Комитетом ветеринарии МСХ РК (ТУ-12-18-10-97 от 12. 07. 97 г) [10].

Как показывает опыт, проведение работы по созданию живых вакцин против пастереллеза является актуальной задачей, имеющей научное и практическое значение. Разработка и освоение технологии изготовления противопастереллезной вакцины позволит сэкономить денежные средства, которые затрачиваются на приобретение аналогичных вакцин за рубежом.

Исходя из этого целью данной работы являлась определение инфицирующей дозы полевого изолята Pasteurella multocida и иммунизирующей дозы аттенуированного штамма Pasteurella multocida AroA на свиньях.

В соответствии с целью были поставлены следующие задачи: оценка иммунногенной активности, определить инфицирующую и иммунизирующую дозу *Pasteurella multocida*.

Материалы и методы исследований. Объектом исследования служила генетически аттенуированный штамм *Pasteurella multocida* Aro/A (Коллекционный номер/В-0050/L) [11], для определения иммунизирующей дозы, который был освежен путем высевов *in vitro* на питательных средах Brain Heart Infusion Agar (ВНІА) и Brain Heart Infusion Broth (ВНІВ) и *in vivo* через организм мышей, а также для контольного заражения эпизоотический изолят *Pasteurella multocida* (инв. № 447), выделенный от сайгаков, освеженный на теленке в 1988 году и хранившийся в музее Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности в лиофилизированном виде (в тексте как *Pasteurella multocida* Т-88) [12].

Для повышения патогенностикультур проводили последовательные пассажи на лабораторных мышах, массой 16-18 грамм. Мышам вводили 18-часовую бульонную культуру возбудителя пастереллеза подкожно в объеме 0,5 см<sup>3</sup>. На 3-4 пассажном уровне после инфицирования через 18-20 мыши пали с клиническими признаками.

После восстановления патогенных свойств культур *Pasteurella multocida* Т-88 определяли оптимальную инфицирующую дозу. Для проведения эксперимента сформировали четыре опытные группы свиней, в каждой группе по три головы, 12-18 месячного возрастаи одну контрольную группу (2 гол.)

С помощью оптического стандарта 1,5-миллиардную взвесь (Brucella) из 18-часовой культуры *Pasteurella multocida* Т-88 готовили бактериальную взвесь для заражения свиней, с целью определения инфицирующей дозы. Взвесь пастерелл разводили на фосфатно-буферном растворе хлористого натрия (рН 7,4-8,0). Поросятам вводили в области внутренней поверхности бедра подкожно в объеме 3,5 см<sup>3</sup> изолята в разных дозах.

Следующим этапом наших исследований было определение иммунизирующей дозы для свиней. Для данного опыта брали три головы поросят – по 1 головы на дозу, при этом испытывали следующие дозы:  $10^5$ ,  $10^6$ ,  $10^7$  м.к. Свиней иммунизировали подкожно, в область паха, в объеме 2,5см<sup>3</sup>.

От поросят контрольной иопытных групп отбиралась кровь из артериальной вены для получения сыворотки до проведения опыта, на 7-й, 14-й, 21-й, 28-й и 30-й день после иммунизации. Сыворотка крови использовалась для постановки ИФА с целью определения титра противопастереллезных специфических антител. На 30-й день всех иммунизированных и контрольных (не иммунизированных) заражали культурой вирулентного штамма *Pasteurella multocida* Aro/A в дозе 50 м.к. (10-ти кратная минимальная инфицирующая доза), подкожно, в области паха, со стороны, противоположной месту введения материала, в объеме 3,5 см<sup>3</sup>. Результаты опытов учитывали в течение 10 сут после заражения.

В ходе испытаний за всеми животными проводилось постоянное клиническое наблюдение. Поросята находились в одинаковых условиях кормления и содержания. Павшие свиньи подвергались патологоанатомическому вскрытию.

**Результаты исследований.** В результате проведенных экспериментов по выделению, а также идентификации чистой культуры *Pasteurella multocida* выявлено, что выделенные культуры относится к серотипу В.

После освежения изолята *Pasteurella multocida* T-88 проведен основной опыт эксперимента, с целью определения инфицирующей дозы. Результаты данного опыта представлены в таблице.

Группа	Пода продолжи	No		Пало/					
жив-х	Доза введения	жив-х	7-8	10-12	15-16	18-19	21-22	71-72	Выжило
C I		1	38,8	39,0	39,3	38,8	39,0	39,0	
Свиньи І	3,5×10 <sup>5</sup> м.к.	2	38,7	39,1	39,0	39,0	38,9	38,9	
группы	3,3^10 M.K.	3	38,5	38,4	39,0	39,0	38,9	39,0	0/3
C		1	38,8	38,9	39,3	38,8	39,0	39,0	
Свиньи II	3,5×10 <sup>6</sup> м.к.	2	38,7	38,9	38,9	39,0	39,0	38,9	
группы		3	38,5	38,4	39,0	39,0	38,9	39,0	0/3
C III		1	38,8	39,1	39,2	39,9	42,0	-	
Свиньи III	3,5×10 <sup>7</sup> м.к.	2	38,9	39,1	39,5	39,8	41,5	-	1
группы		3	38,4	39,4	39,3	39,9	41,2	-	3/0
		1	38,7	41,8	42,9	-	-	-	
Свиньи IV группы	3,5×10 <sup>8</sup> м.к.	2	38,8	41,6	42,7	-	-	-	2/0
		3	38,7	41,7	42,8	-	-	-	3/0

Таблица – Инфицирования свиней и результаты термометрии

Результаты приведенных данных в таблице показывает, что введение доз  $3.5 \times 10^5$ ;  $3.5 \times 10^6$  м.к. изолята *Pasteurella multocida* Т-88 не вызывает гибель животных, подопытные поросята весь срок наблюдения оставались здоровыми и живыми. Температура тела были в пределах нормы (рисунок 1A).

Примечание: «-» – павшие

У поросят III-группы наблюдалось угнетение, слабость, с последующим переболеванием. Колебания между нормальной температуры составило 2,9-3,0 °C, что является не нормой. Через 8-9 часов после введения материала наблюдали истечения из носовой полости, слюнотечение, угнетение, взъерошенность, что указывает на характерные признаки пастереллёза. Животные пали через 24-40 часов после заражения (рисунок 1Б).

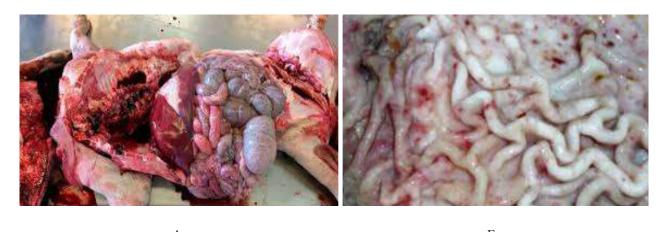
У поросят IV группы через 8-12 часов после заражения отмечается резкое повышение температуры тела от  $41,8\,^{\circ}$ С до  $42,9\,^{\circ}$ С. Как видно из таблицы, свиньи IV группы, пали через 16-18 часов с соответствующими симптомами.



А Б (А – доза заражения  $3.5\times10^5$  м.к., Б – дозы заражения  $3.5\times10^7$  м.к. и  $3.5\times10^8$  м.к.) Рисунок 1 – Определение инфицирующей дозы для поросят

При патологоанатомическом вскрытии у павших свиней отмечали септицемию с множественными кровоизлияниям (рисунок 2A) на серозных, слизистых оболочках, в паренхиматозных органах, на коже, особенно резко выражены на слизистой гортани, надгортанника, трахеи, легочной и грудной плевре. В легких застой крови, отдельные дольки геморрагически инфильтрированы. Желудок и кишечник в состоянии острого катарально-геморрагического воспаления (рисунок 2Б). Также, при гистологическом

исследовании отмечали сильное набухание и разрыхление стенки сосудов, кровоизлияния, застойную и воспалительную гиперемию. В подкожной клетчатке, бронхиальных лимфоузлах, печени и в суставах обнаруживали очаги некроза.



(А – множественное кровоизлияния во внутренних органах; Б – в кишечнике) Рисунок 2 – Патологоанатомическое вскрытие павших поросят

Для определения иммунизирующей дозы поросят разделили на 5 групп и иммунизировали препаратом в следующих дозах:  $10^5$  (1 гол 1 группа),  $10^6$  (1 гол 2 группа),  $10^7$  (1 гол 3 группа),  $10^8$  (2 гол 4 группа),  $10^9$  (2 гол 5 группа) м.к. Через 7,14 суток у животных из каждой группы брали кровь для проведения серологического исследования. На 15-й день после первой иммунизации проводили вторичную иммунизацию.

По литературным данным [13], для образования стабильного иммунитета на 6-12 месяцев, бактериологическую суспензию вводят 2-кратно с интервалом в 15-20 дней в следующих дозах: первый раз взрослым свиньям — по 5 мл; поросятам — по 3 мл на голову; повторно: взрослым свиньям — по 8 мл, молодняку — по 5 мл. После введения материала у животных может наблюдаться повышение температуры на 0,5-1 °C и местная реакция в виде незначительных припухлостей.

Обсуждение результатов. При проведении опытов были получены следующие данные: титр специфических противопастереллезных антител в первой группе на 14, 21 сутки был на уровне от 0 до 1:200. К 30-му дню титр антител в сыворотках крови иммунизированных поросят составил 1:400. Во второй опытной группе титр специфических антител в сыворотках крови, полученных от иммунизированных против пастереллеза поросят, составил до иммунизации – 0, на 28-й день с момента иммунизации – 1:200-1:400, на 30-й день – 1:800 (очень слабо). При исследовании проб, полученных от поросят третьей группы, получили следующие результаты: до иммунизации – 0-1:200, 21-й день – 1:400, 30-й день – 1:800. При исследовании проб сыворотки крови от поросят четвертой группы, привитых в дозе 2,5 см<sup>3</sup>×10<sup>8</sup> м.к., было установлено, что до иммунизации титр антител был в пределах 0-1:200, на 21-й день после иммунизации – 1:400, на 28-й день 1:1600, на 30-й день – 1600. Показатели по изменению титра антител в сыворотках крови, полученных от поросят пятой группы, были следующими: до иммунизации – 0, на 7-й день – 1:400, на 21-й день – 1:800, на 30-й день повышается до 1:1600. Полученные результаты показаны на рисунке 3.

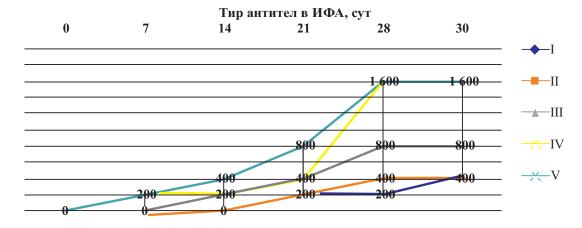


Рисунок 3 – Динамика титра антител в ИФА до и после двукратной иммунизации Pasteurella multocida Aro/A

У поросят контрольной группы титр антител на протяжении всего опыта находился в пределах 0. Результаты ИФА через 7, 14 суток после иммунизации свидетельствуют о том, что практически все реакции были отрицательными. На 14-й день среагировали положительно свиньи, иммунизированные вторично, в дозе  $2,5 \times 10^8$  м.к. Самые низкие показатели титр антител были у свиней, иммунизированных в дозе  $2,5 \times 10^5$  м.к., которые появились на 28-е сутки после вторичной иммунизации. По литературным данным [14], особенностей пост иммунных реакций при первичной и повторной иммунизации (от 20 до 40 суток) не устанавливается и необходимо избегать нарушений схемы проведения иммунизации, так как это приводит к снижению эффективности иммунопрофилактики пастереллеза свиней.

Резюмируя результаты проведенных опытов, можно предположить, что наиболее перспективным методом повышения иммунного ответа на *Pasteurella multocida* AroA является двукратное иммунизация с интервалом 14-15 дней.

После определения титров антител в сыворотках крови на 30-й день иммунизации подопытных свиней заразили контрольным штаммом *Pasteurella multocida* T-88 в дозе  $3.5 \times 10^7$  м.к. В ходе экспериментов установили, что не заболели поросята, иммунизированные дозами  $2.5 \times 10^8$ ,  $2.5 \times 10^9$  м.к., тогда как остальные поросята, иммунизированные дозой  $2.5 \times 10^5$ ,  $2.5 \times 10^6$ ,  $2.5 \times 10^7$  заболели и пали с специфическими клиническими симптомами в течение 24-72 суток, в зависимости от дозы.

По результатам наших исследований была установленаинфицирующая доза, которая составила  $-3.5\times10^7$  м.к. и определена иммунизирующая доза  $-2.5\times10^8$  и  $2.5\times10^9$  м.к., которая защищает животных от контрольного заражения *Pasteurella multocida*.

**Заключение.** Таким образом, по результатам проведенных исследований определена инфицирующая доза контрольного штамма *Pasteurella multocida* T-88 для свиней, которая составляет  $3.5 \times 10^7$  м.к. и выбрана оптимальная иммунизирующая доза аттенуированного штамма *Pasteurella multocida* AroA –  $2.5 \times 10^8$  м.к. которая обеспечивает иммунитет у свиней при подкожном введении от пастереллеза.

#### ЛИТЕРАТУРА

- 1 Rimler R.B., Rhoades K.R. Pasteurella and Pasteurellosis. London: Academic Press, 1989. P. 37-73.
- 2 Rhoades K.R., Rimber R.B. Capsular groups of Pasteurella multocida isolated from avian hosts // Avian Dis. 1987. Vol. 31. P. 895-898.
- 3 Хазипов Н.Н., Камалов Б.В., Закиров И.Р. Иммунопрофилактика крупного рогатого скота // Казань, 2012.-5-7 с.
- 4 Белкин Б.Л., Прудников В.С., Малахова Н.А., Уразаев Д.П. Болезни молодняка свиней с диарейным и респираторным синдромом, диагностика, лечение и профилактика. М.: Колос, 2007. С. 24.
- 5 Куриленко А.Н., Крупальник В.Л., Пименов Н.В. Бактериальные и вирусные болезни молодняка сельскохозяйственных животных. М.: Колос, 2006. 210 с.
- 6 Гусев В.В., Приходько С.М., Павлов С.И., Теймуразов М.Г. Мониторинг бактериальных инфекций в промышленном свиноводстве // Ветеринария. -2004. -№ 2. -C. 7-8.
- 7 Бойков Т.З., Рахманов А.М. Основные инфекционные болезни свиней и их специфическая профилактика в современных условиях // Актуальные проблемы инфекционной патологии животных. Материалы международной научной конференции, посвященной 45-летию ФГУ «ВНИИЗЖ» Ред. кол. В.А. Мищенко и др. 30-31 октября 2003. Владимир, 2003. С. 87-90.
- 8 Максимович В.В., и др. Безвредность вакцин против пастереллеза животных, приготовленных на основе масляных адъювантов Монтаниде ИЗА // Сб. науч. тр. Витебская ордена «Знак Почета» гос. акад. вет. мед. Витебск, 2001. Т. 37. Ч. 2. С. 100-101.
- 9 Гвоздев С.Н. Подбор оптимальной иммунизирующей дозы и производственные испытания инактивированной эмульгированной вакцины против пастереллеза свиней // Ученые Записки УО ВГАВМ. -2012.-T.48.-Вып. 1.-С. 9-11.
- 10 Утвержденная Комитетом ветеринарии МСХ РК (ТУ-12-18-10-97 от 12. 07. 97 г. 10. Медицинские Диссертации http://medical-diss.com/veterinariya/nauchnye-osnovy sovershenstvova-niya-veterinarnogo-dela-v-respublike-kazahstan-v-usloviyah-ekonomicheskoy-reformy#ixzz6P1ts GWkE
- 11 Кайсенов Д.Н., Алиева А.Б., Далбаев Н.К., Кошеметов Ж.К., Баракбаев К.Б. Определение оптимальной иммунизирующей дозы аттенуированного штамма Pasteurella multocida ARO/A на животных // Исследования и результаты, КазНАУ. -2017. -№ 3 (75). C. 46-51.
- 12 Алиева А.Б., Кайсенов Д.Н., Далбаев Н.К., Баракбаев К.Б. Определение заражающей дозы изолята Pasteurella multocida на разных видах животных // Вестник государственного университета им. Шакаримаг. Семей. -2017. -№ 3 (79). C. 298-303.
- 13 Hussani S.N. A taxonomic study of strains of P. multocida from a variety of animals and geographical sources // Ph.D., Thesis Univ. London, 1975.
- 14 Вакцина против пастереллеза свиней инактивированная эмульгированная, 200 доз ФГУ ВНИИЗЖ, Россия // http://xn----9sbemm0b5a.xn--p1ai/catalog/detail.php?ELEMENT ID=436

### М. Мамбеталиев, С.С. Килибаев, Ж.С. Абсатова, М.А. Азанбекова, М.К. Кенжебаева, К.Д. Жугунисов

РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Казахстан m.mamabetaliyev@biosafety.kz

### ИММУНОГЕННЫЕ СВОЙСТВА ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ОСПЫ ВЕРБЛЮДОВ

**Аннотация.** В данной статье представлены результаты изучения иммуногенных свойств вакцины против оспы верблюдов, разработанной на основе гомологичного аттенуированного вируса из штамма «КМ-40». Исследования, проведенные в лабораторных условиях показали, что разработанная вакцина безвредна, иммуногенна – в полевой дозе методом скарификации поверхности кожи, у привитых животных невосприимчивость к эпизоотическому штамму вирусу оспы верблюдов наступает на 7 сут и сохраняется до 12 мес (срок наблюдения).

Ключевые слова: вирус, вакцина, биологическая активность, иммуногенность, длительность.

### М. Мамбеталиев, С.С. Килибаев, Ж.С. Абсатова, М.А. Азанбекова, М.К. Кенжебаева, К.Д. Жугунисов

БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми зерттеу институты». Гвардейск қтк, Қазақстан,

### ТҮЙЕ КҮЛІНЕ ҚАРСЫ ВАКЦИНАНЫҢ ИММУНОГЕНДІК ҚАСИЕТІ

**Аннотация.** Бұл мақалада әлсіретілген гомологты КМ-40 вирус штаммы негізінде жасалған түйе күліне қарсы вакцинаның иммуногендік қасиеттерін зерттеу нәтижелері келтірілген. Зертханалық жағдайда жүргізілген зерттеулер өндірілген вакцинаның зиянсыз және иммуногенді екендігін көрсетті. Сонымен бірге вакцинаның егу дозасы терінің беткі қабығын тырнау әдісімен вакцинацияланған жануарларда түйе күлі вирусының эпизоотиялық штамына төзімділік 7 күн ішінде пайда болып 12 айға дейін (байқау кезеңі) сақталатындығын көрсетті.

Түйін сөздер: вирус, вакцина, биологиялық белсенділік, иммуногенділік, ұзақтығы.

### M. Mambetaliyev, S.S. Kilibayev, Zh. Absatova, M. Azanbekova, M. Kenzhebayeva, K. Zhygunissov

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

#### IMMUNOGENIC CHARACTERISTICS OF VACCINE AGAINST CAMELPOX

**Abstract**. The results of the study of immunogenic characteristics of vaccine against the camelpox developed on the basis of homologous attenuated virus from "KM-40" strain are presented in this article. Studies carried out under the laboratory conditions showed that the developed vaccine is harmless, immunogenic – in the field dose by the method of skin surface scarification. Non-resistance of the vaccinated animal to epizootic strain of camelpox virus occurs for 7 days and retains up to 12 months (observation period).

Keywords: virus, vaccine, biological activity, immunogenicity, duration.

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

К успешному развитию верблюдоводства в республике наряду с другими причинами, также отрицательно влияет экономические ущербы, наносимые эпизоотией оспы верблюдов. При этом экономический ущерб слагается из гибели и выбраковки заболевшего молодняка и больших материальных затрат на проведение охранно-карантинных, профилактических и других мероприятий по ликвидации эпизоотии.

Оспа верблюдов – контагиозная болезнь, возбудитель которой относится к семейству *Poxviridae*, подсемейству *Chordopoxvirinae* и роду *Orthopoxvirus* с образованием характерной узелково-пустулезной оспенной сыпи на коже и слизистых оболочках. Болезнь молодняка протекает в тяжелой форме с 30 %

летальностью. У взрослых животных (старше 4 лет), несмотря на ярко выраженный генерализованный процесс, смертность не превышает 4-7 % [2-5].

Оспа верблюдов (ОВ) встречается практически в каждой стране, где разводятся верблюды, за исключением Австралии и Южной Америки. Вспышки отмечались на Ближнем Востоке (Бахрейн, Иран, Ирак, Оман, Саудовская Аравия, Объединенные Арабские Эмираты и Йемен), в Азии (Афганистан и Пакистан), в Африке (Алжир, Египет, Эфиопия, Кения, Мавритания, Марокко, Нигер, Сомали и Судан) и в южных районах России и Индии [6, 7, 8].

По данным ветеринарной отчетности вспышки ОВ в Казахстане периодически наблюдались в Мангистауской и Атырауской (Гурьевкой) областях республики в 1930 году, 1942-1943 годы, 1965-1967 годы, 1968-1969 годы и в 1996 год [4, 9, 10].

Во время вспышки в 1996 году в Мангистауской области из восьми тысяч голов верблюдов заболело 830, из них 43 — пало [11]. После последней вспышки в 1996 году ОВ среди верблюдов Мангистауской области, вновь регистрируется с лета 2019 года (диагноз лабораторно подтвержден сотрудниками «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан (НИИПББ) в декабре 2019 года (не опубликованные данные).

Иммунитет у естественно переболевших животных сохраняется до 20-25 лет, т.е. практически пожизненно. Верблюжата, родившиеся от переболевших оспой верблюдиц, не восприимчивы к вирусу до половозрелого возраста. Характер иммунитета кожно-гуморальный. Об этом свидетельствует присутствие в сыворотке крови переболевших животных вируснейтрализующих антител и невосприимчивость верблюдов к повторному заражению гомологичным вирусом оспы. Верблюжата, находящиеся в период эпизоотии под маткой, как правило, оспой не заболевают или переболевают сравнительно легко и кратковременно [12].

Благополучие хозяйств по опасным инфекционным болезням может быть осуществлено только путем создания иммунного поголовья животных с помощью специфической профилактики [13], а также строгим соблюдением общих ветеринарно-санитарных правил. Это требование относится и к OB.

В купировании очага и контроля за ситуацией, традиционно использовались как живые, так и инактивированные препараты. Известно, что по многим параметрам живые вакцинные препараты превосходят убитые вакцины [4].

В мире имеются 4 производителя живой аттенуированной вакцины – Россия, ОАЭ, Иордания и Египет, а также единственный производитель инактивированной вакцины из Марокко [14, 15].

Кроме того относительно недавно в Судане разработана вакцина из аттенуированного штамма «СМLV/115» вируса ОВ и испытана на животных [16]. Согласно сообщениям авторов, при тестировании данной вакцины, у подкожно иммунизированных животных не наблюдались клинические признаки болезни или кожных поражений, вырабатывались антитела с низким уровнем и клеточно-опосредованный иммунный ответ, и животные противостояли заражению вирулентным штаммом CMLV.

В НИИПББ для профилактики и борьбы с инфекцией, в рамках проекта грантового финансирования 2527/ГФЗ-2013 «Разработка технологии изготовления вакцины против оспы верблюдов» в 2013-2015 годы, была разработана вакцина и испытана в лабораторных условиях на верблюдах.

В данной статье представлены результаты лабораторных исследований иммуногенных свойств разработанной вакцины против ОВ.

**Материалы и методы**. *Штаммы вируса*. Аттенуированный штамм «КМ-40» вируса ОВ, который использован для изготовления живой вакцины, получен из эпизоотического штамма «М-96» вируса оспы верблюдов путем 40 последовательных пассажей на 11 сут куриных эмбрионах [17]. Для оценки протективных свойств вакцины использован контрольный эпизоотический штамм «М-96» вируса ОВ.

Животные. В экспериментах по оценке иммуногенных свойств использованы 12-18 мес возраста верблюды, полученные из благополучных по ОВ хозяйств в количестве 7 гол.

Для определения безвредности вакцины против OB использованы белые мыши с массой 18-21 г (20 гол) и морские свинки с массой 300-700 г (10 гол).

Развивающиеся куриные эмбрионы (РКЭ), культура клеток, питательные среды и растворы. Работа проведена с использованием РКЭ 10-11-суточного возраста и первично-трипсинизированной культуры клеток почки ягненка (ПЯ), последняя получена из лаборатории «Клеточная биотехнология» НИИПББ.

В качестве питательной среды при культивировании вируса ОВ в культуре клеток ПЯ использована питательная среда пристеночная (ПСП), содержащая в своем составе 2-5 % сыворотки крупного рогатого скота (КРС), инактивированной при 56 °C в течение 30 мин и антибиотики — бензилпенициллина натриевая соль —  $100 \, \text{ЕД/мл}$ , стрептомицина сульфат —  $100 \, \text{мг/мл}$ , нистатин —  $0.25 \, \text{ЕД/мл}$ . Кроме указанных компонентов добавлен  $600 \, \text{мкг/мл}$  глютамина; рН готовой поддерживающей среды доведен до 7.2- $7.4 \, \text{путем}$  добавления  $7.5 \, \%$  раствора бикарбоната натрия.

*Контроль стерильности вакцины*. Стерильность вакцины против ОВ определена по ГОСТ 28085 «Препараты биологические. Методы биологического контроля стерильности».

Определение биологической активности вакцины. Титр биологической активности вакцины определен

с использованием культуру клеток ПЯ по общепринятой методике [18] и рассчитан по методу [19].

*Иммунизация животных*. Иммунизация верблюдов вакциной проведена на выстриженном, выбритом и обработанном этиловым спиртом участке кожи области бедра путем скарификации в объеме по 0,1 мл (2 капли), содержащего  $5\cdot 10^4$  ЭИД $_{50}$ . При этом вакцина разведена в  $50\,\%$  растворе глицерина. За экспериментальными животными ведено ежедневное наблюдение с измерением температуры тела.

Контрольное заражение иммунизированных верблюдов. По достижению срока контрольного заражения (при определении срока наступления иммунитета на 7, 14 и 21 сут и продолжительности иммунитета через 12 мес после иммунизации) иммунизированные верблюды подвергнуты инфицированию эпизоотическим штаммом «М-96» вируса ОВ (доза  $10^5\,{\rm H}{\rm J}_{\rm 50}/0,1\,$  мл) методом скарификации.

Определение титра вируснейтрализующих антител. Вируснейтрализующая активность антител в сыворотках крови иммунизированных животных определена в реакции нейтрализации (PH) с постоянной дозой вируса и разведениями сыворотки по общепринятой методике [20] с использованием культуры клеток ПЯ.

Учёт результатов. Учёт результатов иммунизации и контрольного заражения проведен по данным клинических наблюдений (по общему состоянию организма животного, характеру реакции на месте введения вируса и термометрией) и обнаружению ВНА в сыворотках крови животных. За титр антител исследуемой сыворотки принимали то ее разведение, которое еще сдерживает развитие ЦПД вируса в 50 % зараженной культуры клеток.

Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с вычислением среднего арифметического значения (X) и квадратической ошибки (m) при помощи компьютерных программ «Microsoft Office Excel 2010» и GraphPad Prizm 6.

**Результаты исследований.** Экспериментальная серия вакцины приготовлена из расплодки матриксного штамма «КМ-40» вируса ОВ на 11 сут РКЭ с добавлением защитной среды, состоящей из 6,5 % пептона в конечной концентрации. Биологическая активность в культуре клеток ПЯ составляет (6,50  $\pm$  0,14) lg ЭИД $_{\rm so}$ /мл.

Перед изучением иммуногенных свойств проведены исследования по проверке стерильности и безвредности препарата. Установлено, что экспериментальная серия вакцины против ОВ является стерильным и безвредным препаратом. При этом стерильность вакцины испытана согласно по ГОСТ 28085-2013 с использованием питательных сред Сабуро, МПА, МПБ, МППБ и на контаминацию микоплазмами – питательной среды Хейфлика, где питательные среды оставались чистыми. Безвредность вакцины против ОВ проверены на мышах и морских свинках путем подкожного введения в объеме по 0,1 мл/гол и 0,3 мл/гол, соответственно. У всех привитых животных в месте введения препарата за 10 сут наблюдения не отмечено патологических изменений (очаги некроза, гнойного воспаления).

Определение срока наступления иммунитета у верблюдов, привитых вакциной против OB. С целью определения срока наступления иммунитета у привитых животных разработанной вакциной против OB проведена иммунизация верблюдов ранее определенной нами полевой дозе равной  $5\cdot10^4$  ЭИД $_{50}$ /гол в объеме по 0,1 мл. Значение температуры тела вакцинированных верблюдов представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Температура тела верблюдов, вакцинированных против OB при определении срока наступления иммунитета

Поряд- ковый		Сроки после иммунизации в сут и температура тела в °C														
номер живот-ных	1	2	3	4	5	6	7 8 9 10 11 12 13 14 15 21									
1	37.7	7.7 38.1 38.0 37.5 37.0 37.1 37.0 37.2, проведено контрольное заражение														
2	37.1	37.0	37.2	37.3	37.1	37.3	37.4	37.5	37.3	37.4	37.1 37.2 37.3 37.3, проведено кон-трольное заражение					
3	37.4	37.6	37.8	37.5	37.1	37.2	37.5	37.5	37.4	37.5	37.3	37.4	37.7	37.6	37.4	37.3, проведе-но контрольное зараже-ние

Из данных таблицы 1 видно, что у всех испытуемых верблюдов после иммунизации температура тела была в пределах физиологической нормы.

На 7 сут после иммунизации у них отмечали образование единичных папул только на месте скарификации, которые затем переходили в пустулы и везикулы (рисунок 1a, 1б, 1в). После чего на 11-14 сут везикулы лопались и образовались оспенные корочки.



Рисунок 1 – Оспенные образования на месте скарификации кожи верблюдов, иммунизированных вакциной против OB

После иммунизации животных с 2 по 7 сут, затем на 14 и 21 сут (до контрольного заражения) были взяты сыворотки крови для определения в РН динамики образования ВНА к вирусу ОВ (таблица 2).

Таблица 2 – Динамика образования ВНА в сыворотках крови верблюдов, иммунизированных против ОВ при определении срока наступления иммунитета

Порядковый номер животных	Срок взятия крови, сут	Титр ВНА, $\log_2$ (X $\pm$ m)		
	2	0,00		
	3	0,00		
1	4	0,00		
1	5	0,00		
	6	$0.83 \pm 0.17$		
	7	$1,00 \pm 0,00$		
	1	0,00		
	2	0,00		
	3	0,00		
2	4	0,00		
2	5	0,00		
	6	$0.83 \pm 0.17$		
	7	$1,33 \pm 0,33$		
	14	$1,67 \pm 0,33$		
	2	0,00		
	3	0,00		
	4	0,00		
3	5	0,00		
3	6	0,00		
	7	$0.83 \pm 0.17$		
	14	$1,00 \pm 0,00$		
	21	$2,33 \pm 0,33$		
Нормальная сыворотка крови верблюда	0,00	0,00		

Как видно из данных таблицы 2, что раннее образования ВНА к вакцинному вирусу ОВ обнаружены начиная с 6-7 сут срока в титрах от  $(0.83 \pm 0.17) \log_2$  до  $(1.33 \pm 0.33) \log_2$ . По мере отдаление срока иммунизации наблюдался рост ВНА и на 21 сут данный показатель составил  $(2.33 \pm 0.33) \log_2$  против 178 ТЦД $_{50}$  вируса ОВ.

На 7, 14 и 21 сут после иммунизации по одному верблюду подвергли контрольному заражению эпизоотическим штаммом «М-96» вируса ОВ в дозе  $10^5$  ИД<sub>50</sub>/0,1 мл (на 7 сут инфицирован верблюд №1, на 14 сут – верблюд №2 и на 21 сут – верблюд №3). Показатели температуры тела представлены на рисунке 2.

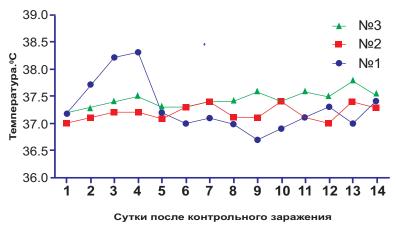


Рисунок 2 — Температурная реакция верблюдов, подвергнутых контрольному заражению эпизоотическим штаммом «М-96» вируса ОВ при определении срока наступления иммунитета

Из данных рисунка 2 видно, что из 3 верблюдов, инфицированных эпизоотическим штаммом «М-96» в разные сроки, только у верблюда №1 (7 сут после иммунизации) на 3-4 сут после контрольного заражения отмечено повышение температуры тела на 1 °С. Следует отметить, что несмотря на низкий уровень ВНА в организме данного животного, развитие

инфекционного процесса оспы не произошло.

Таким образом, в результате проведенных исследований было установлено, что у верблюдов, иммунизированных вакциной из аттенуированного штамма «КМ-40» вируса ОВ в полевой дозе  $5\cdot10^4$  ЭИД $_{50}$ /гол, невоспримчивость к эпизоотическому вирусу ОВ наступает на 7 сут. Вируснейтрализующие антитела в титрах  $(0.83\pm0.17)\log_2$  до  $(1.33\pm0.33)\log_2$  достаточны для обеспечения защиты от патогенного вируса в дозе  $10^5$  ИД $_{50}$ .

Определение продолжительности иммунитета у верблюдов, привитых вакциной против ОВ. Продолжительность иммунитета у привитых вакциной против ОВ определена с использованием 3 животных. Отбор сывороток крови у вакцинированных животных для исследования в РН на наличие ВНА к вирусу ОВ проведен вначале с 1 по 7 сут, затем ежемесячно в течение года. Результаты измерения температуры тела животных представлены на рисунке 3.

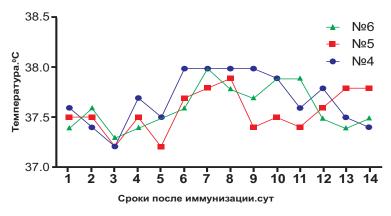
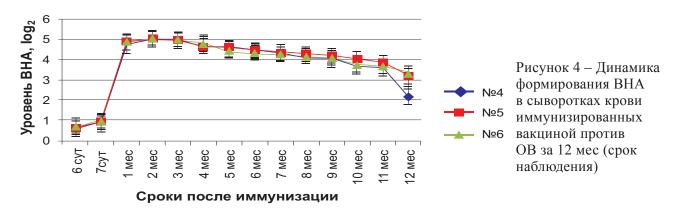


Рисунок 3 — Температурная реакция верблюдов на введение вакцины против ОВ при определении продолжительности иммунитета

Данные рисунка 3 показывают, что у иммунизированных животных температура тела за период наблюдения в течение 14 сут была в пределах физиологической нормы. Однако незначительная реакция животных на введение вакцины отмечалась на 5-8 сут с повышением температуры тела на 0,5-0,7 °С, не превышая при этом физиологической нормы.

Для изучения динамики формирования ВНА к вирусу ОВ, а также их сохранения в организме иммунизированных животных проведен ежемесячный отбор сывороток крови в течение года с одновременным осмотром их общего состояния. При этом у всех испытуемых верблюдов, проявление каких-либо клинических признаков, как оспы, так и других заболеваний за период наблюдения не зарегистрировано.

Результаты исследования сывороток крови иммунизированных верблюдов в РН на наличие ВНА к вирусу оспы представлены на рисунке 4.



Как видно из данных рисунка 4, у иммунизированных верблюдов формирование ВНА к вирусу ОВ наблюдается в незначительных титрах  $(0.58 \pm 0.08) - (0.75 \pm 0.00)$  с 6-7 сут срока, а к 2 месячному сроку процесс образования антител достигает до максимума  $-(5.02 \pm 0.02)$   $\log_2$ . Затем данный показатель, постепенно снижаясь к 12 мес сроку составляет  $\sim (2.89 \pm 0.66)$   $\log_2$  против от 66 ТЦД<sub>50</sub> до 380 ТЦД<sub>50</sub> вируса. Однако при сравнении цифровых значений среднего титра антител за 9-й месяц с максимальным значением титра с 2 месячным поствакцинальным периодом, разница статистически не существенная (Р>0,5-0,2), а различия в титрах ВНА за 10-12 мес с вышеуказанным сроком иммунизации — существенно значимы (Р<0,05 - 0,02).

Для определения напряженности иммунитета через 12 мес проведено контрольное заражение вакцинированных верблюдов эпизоотическим штаммом «М-96» вируса ОВ в дозе  $10^5$  ИД $_{50}/0$ ,1 мл.

Данные температурной реакции иммунизированных животных на контрольное заражение эпизоотическим вирусом представлены на рисунке 5.

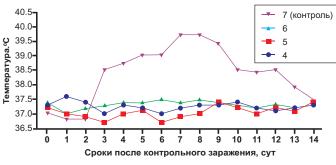


Рисунок 5 — Температурная реакция иммунизированных верблюдов на контрольное заражение эпизоотическим штаммом «М-96» вируса ОВ

Как видно из данных рисунка 5, иммунизированные животные не реагировали на контрольное заражение эпизоотическим штаммом вируса ОВ температурными реакциями и другими клиническими признаками оспы (рисунок 6).



Рисунок 6 – Кожный покров иммунизированных животных после контрольного заражения через 12 мес при определении напряженности и продолжительности иммунитета против OB

Тогда как у контрольного верблюда с 4 сут срока после заражения наблюдалось повышение температуры тела до 39,8 °C, отмечалось проявление клинической картины, характерное для ОВ (рисунок 7).



а – обширные струпы в местах скарификации кожи

 $\delta$  – оспинки на кожном покрове при генерализации оспенного процесса

 в – оспинки на кожном покрове при генерализации оспенного процесса

Рисунок 7 – Генерализация оспенного процесса у контрольного верблюда (№7) при определении продолжительности иммунитета у вакцинированных животных против OB

Таким образом, разработанная вакцина против ОВ при введении методом скарификации в полевой дозе  $5\cdot 10^4$  ЭИД $_{50}$  вызывает в организме иммунизированных животных формирование ВНА начиная с 6-7 сут срока, которые сохраняются в течение 12 мес (срок наблюдения) в титрах, обеспечивающих невосприимчивость иммунизированных животных к эпизоотическому штамму вируса в дозе  $10^5$  ИД $_{50}$ .

**Обсуждение**. При возникновении опасных инфекционных болезней среди животных главным образом необходимо создавать иммунное поголовье животных с помощью специфической профилактики и строго соблюдать общие ветеринарно-санитарные правила. Известно, что при создании иммунного поголовья против той или иной инфекции, по многим параметрам живые вакцинные препараты превосходят убитые вакцины [4].

В Республике Казахстан вопросами разработки научно-обоснованной технологии производства вакцины и контроля за эпизоотической ситуацией оспы, за исключением НИИПББ, никто до настоящего времени не занимался, хотя ситуация в республике по этой инфекции и количество возросшего поголовья требуют этого. В связи с периодическим возникновением ОВ (через каждые 20-25 лет) среди животных Мангистауской области и отсутствием в республике собственной вакцины, в рамках вышеуказанного проекта грантового финансирования в 2013-2015 годы в НИИПББ КН МОН РК была разработана технология изготовления вакцины против ОВ из аттенуированного штамма гомологичного вируса.

Как правило, иммуногенность вакцин, находится в прямой зависимости от концентрации антигена в прививной дозе, то есть чем выше активность препарата, тем более значительной иммуногенностью он обладает, вызывая при введении у животных напряженный иммунитет в короткие сроки и на длительный период [21, 22]. В результате применения разработанной технологии нами была изготовлена экспериментальная серия вакцины против ОВ из штамма «КМ-40» с высокой биологической активностью  $(6,50\pm0,14)$  lg  $(6,50\pm0$ 

При проверке иммуногенных свойств данной вакцины было установлено, что у животных, иммунизированных методом скарификации в дозе  $5\cdot 10^4$  ТЦД $_{50}/9$ ИД $_{50}/0$ ,1 мл, раннее образования ВНА к вакцинному вирусу ОВ наблюдается с 6-7 сут срока в титрах от  $(0.83\pm0.17)\log_2$  до  $(1.33\pm0.33)\log_2$ , данный уровень антител достаточен для обеспечения защиты от патогенного вируса в дозе  $10^5$  ИД $_{50}$ . Полученные результаты превосходят российской вакцины, изготовленной на основе вируса осповакцины, по сроку наступления (21 сут) и дозе иммунизации ( $10^5$  ЭИД $_{50}$ ). Кроме того результаты по сроку наступления нашей вакцины согласуются с данными [16], где образование вируснейтрализующих антител также наблюдали в первую неделю после иммунизации. Авторы отмечают, что верблюды, иммунизированные низкой дозой, показали относительно более низкий титр антител по сравнению с верблюдами, получившими большие дозы вакцины ( $1\times10^{5.8}$  и  $3\times10^{5.8}$  ТЦД $_{50}/$ мл штамма «СМLV/115»).

По мере отдаление срока иммунизации нашей вакциной против OB наблюдался рост BHA и на 21 сут данный показатель составил  $(2,33 \pm 0,33) \log_2$  против 178 ТЦД<sub>50</sub> вируса OB.

Одним из наиболее важных качеств вакцины является ее протективность, т.е. способность вакцины вызывать состояние невосприимчивости. Невосприимчивость иммунизированных животных определяют путем заражения их определенной дозой контрольного штамма вируса соответствующей инфекции. Установлено, что вакцина из аттенуированного штамма «КМ-40» вируса ОВ при иммунизации в дозе  $5 \cdot 10^4 \, \mathrm{ЭИД}_{50}$  вызывает в организме животных формирование ВНА, которые сохраняются в течение 12 мес (срок наблюдения) в титрах, обеспечивающих невосприимчивость животных к эпизоотическому штамму вируса в дозе  $10^5 \, \mathrm{ИД}_{50}$ . Полученные нами данные превосходят показатели, полученные Nguyen-Ba-Vy et al., 1996 [23] при изучении безопасности и иммуногенности аттенуированного «VD47/25» вируса ОВ.

Анализируя результаты, полученные в ходе проверок иммуногенных свойств разарботанной вакцины установлено, что образование у животных на месте введения вакцины папулы (прививаемость вакцины) характеризует невоспримчивость животных к заражению эпизоотическим штаммом вируса.

Учитывая во внимание данное явление, примененное в свое время в профилактике натуральной оспы вирусом осповакцины (ортопоксвирусы) у людей, а также применяемое в настоящее время при проверке иммуногенных свойств вакцины против контагиозной эктимы овец и коз из рода парапоксвирусы [24], есть возможность оценки иммуногенных свойств вакцины против ОВ без проведения контрольного заражения эпизоотическим штаммом вируса, не создавая при этом очага инфекции.

Заключение. В результате проведенных исследований по определению срока наступления иммунитета установлено, что у верблюдов, иммунизированных разработанной вакциной против ОВ в полевой дозе  $5\cdot10^4$  ЭИД $_{50}$ /гол, невоспримчивость к эпизоотическому вирусу ОВ наступет на 7 сут. Вируснейтрализующие антитела в титрах  $(0.83\pm0.17)\log_2-(1.33\pm0.33)\log_2$ , формированные за указанный срок достаточны для обеспечения защиты от вирулентного вируса ОВ в дозе  $10^5$  ИД $_{50}$ 

При изучении продолжительности иммунитета установлено, что у животных вакцинированных полевой дозой ( $5 \cdot 10^4 \, \mathrm{ЭИД}_{50}$ ) разработанной вакцины против OB напряженный иммунитет сохраняется в течение 12 мес (срок наблюдения) в титрах, обеспечивающих невосприимчивость иммунизированных животных к вирулентному штамму вируса OB в дозе  $10^5 \, \mathrm{ИД}_{50}$ ;

Вакцина против оспы верблюдов, после апробационного испытания в Комитете ветеринарного контроля и надзора Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан, по своим иммунобиологическим характеристикам имеет возможность внедрению в ветеринарную практику.

#### ЛИТЕРАТУРА

- 1 Ручкина Г.А., Вахитова Р.З. Верблюдоводство: Учебное пособие для студ. вузов. Костанай: ТОО «Костанайполиграфия», 2008. 142 с: пл. 41р.
- 2 Борисович Ю.Ф., Скалинский Е.И. Вирус оспы верблюдов: руководство по ветеринарной вирусологии / под ред. В.Н. Сюрина. М., 1966. С. 632-633.
  - 3 Петунин Ф.А. Оспа верблюдов в Туркмении // Матер. междунар. науч. конф. 1958. С. 53-56.
- 4 Садыков Р.Г. Оспа верблюдов в Казахстане и некоторые свойства ее возбудителя: автореф ... канд. вет. наук: 16.00.03. Алма-Ата, 1971. С.25.
- 5 Росляков А.А., Садыков Р.Г. Электронно-микроскопическое изучение вируса оспы верблюдов // Тр. АЗВИ. Алма-Ата, 1969. Т. 15. С. 23-26.
  - 6 Mayer A., Czerny C.-P. Chapter 4. Camelpox virus. In: Virus Infections of Vertebrates. 1990. Vol. 3.
- 7 Dinter Z., Morein B., eds. Infections of Ruminants, Elsevier Science Publisher B.V., Amsterdam, The Netherlands. 19-22.
- 8 Wernery U., Meyer H., Pfeffer M. Camelpox in United Arab Emirates and its prevention // Camel Prac. and Res. 1997. Vol. 4 (2). P. 135-139.
  - 9 Сюрин В. Лабораторная диагностика вирусных болезней животных. М.: Колос, 1972. 414 с.
- 10 Борисович Ю.Ф., Скалинский Е.И. Вирус оспы верблюдов: руководство по ветеринарной вирусологии / под ред. В.Н. Сюрина. М., 1966. С. 632-633.
- 11 Булатов Е. А., Мамадалиев С. М., Мамбеталиев М., Битов Н. Т. О циркуляции вируса оспы верблюдов в Мангистауской области Республики Казахстан в скрытой форме // Актуальные вопросы ветеринарной биологии. -2010. № 3 (7). С.10-13.
- 12 Abu Elzein E.M., Gameel A.A., Ramadan R.O. et al. An eruptive moderate form of camelpox infection in dromedary camels (Camelus dromedarius) in Saudi Arabia // Rev. Sci. Tech. 1999. Vol. 18. P. 749-752.
  - 13 Duraffour S., Meyer H., Andrei G., Snoeck R. Camelpox virus. Antiviral Res. 2011. 92 (2). P. 167-186.
- 14 EL-Harrak M., Loutfi C., Bertin F. Isolement et identification du virus de la variole du dromadaire au Maroc // Ann. Rech. Vet. 1991. Vol. 22. P. 95-98.
- 15 EL-Harrak M. Isolation of camelpox virus, development of an inactivated vaccine and prophylactic application in Morocco // Int. meeting on camel production and future perspectives. Al Ain, 1998. 736.
- 16 Abdellatif M.M., Ibrahim A.A., Khalafalla A.I. Development and evaluation of a live attenuated camelpox vaccine from a local field isolate of the virus // Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. 2014. 33 (3). P. 831-838.
- 17 Булатов Е.А. Изучение биологических свойств вируса оспы верблюдов: автореф. ... канд. биол. наук: 03.00.06. Алматы, 2010. С. 51-52.
- 18 Сюрин В.Н. Ветеринарная вирусология: учеб. пособие для вузов / В.Н. Сюрин, Р.В. Белоусова, Н.В. Фомина, М: Колос, 1984. 264-272 с.
- 19 Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints // Am. J. Hyg. 1938. P. 493-497.
- 20 Beard C.W. Serologic procedures. In Isolation and identification of avian pathogens (S.B. Hitchner, C.H. Domermuth, H.G. Purchase, J.E. Williams, eds). 2nd Ed. American Association of Avian Pathologists, Jacksonville. Florida, 1983. 129-134.
- 21 Альбицкая Н.Б. Сравнительное изучение реактогенности и иммуногенности оспенной вакцины при получении донорского противооспенного иммуноглобулина // В кн.: Вирусные и бактерийные препараты. Томск, 1983. Т.32. С. 80-83.
- 22 Абдрахманов С.К. Разработка технологии получения высокоактивной вирусвакцины против болезни Ауески и ее применение для иммунизации животных: дис ... канд. вет. наук: 16.00.03. Гвардейский, 1997. С.43-44.
- 23 Nguyen-Ba-Vy, Guerre L., Saint-Martin G. Preliminary study of the safety and immu-nogenicity of the attenuated VD47/25 strain of camelpox virus // Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop. 1996. Vol. 49 (3). P. 189-194.
- 24 Баракбаев К.Б. Разработка ассоциированной вакцины против контагиозной эктимы и оспы овец: дис ... канд. вет. наук: 16.00.03 / Баракбаев Кайнар Базаркулович. Алматы, 2007. 158 с.

### Б.Ш. Мырзахметова, А.К. Наханов, А.М. Исимов, Л.Б. Кутумбетов

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

### ПОДДЕРЖАНИЕ И ПРОИЗВОДСТВО ПЕРЕСЕВАЕМОЙ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ИЗ ТЕСТИКУЛЯРНОЙ ТКАНИ ЯГНЯТ В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ

**Аннотация.** В работе описаны результаты экспериментов по испытанию технологических параметров сохранения, поддержания, производства клеточной массы пересеваемой популяции клеток тестикулярной ткани ягненка в лабораторных условиях. Установлено, что клеточную популяцию 32 пассажного уровня можно поддерживать непрерывными пассажами путем пересева, используя малые концентрации посевных клеток и производить клеточную массу путем посевов повышенных концентраций, а также сохранять длительное время криоконсервацией, используя специальную протективную среду.

**Ключевые слова:** технология, вирус, культивирование, сохранение, поддержание, производство, клеточная культура, тестикулярная культура клеток ягненка, пассаж, титр.

### Б.Ш. Мырзахметова, А.К. Наханов, А.М. Исимов, Л.Б. Кутумбетов

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

### ЗЕРТХАНАЛЫҚ ЖАҒДАЙДА ДАМЫЛСЫЗ ӨСУГЕ БЕЙІМДЕЛГЕН ҚОЗЫНЫҢ ЖЫНЫСТЫҚ ҰЛПАСЫНАН АЛЫНҒАН ЖАСУША ӨСІНДІСІН САҚТАУ ЖӘНЕ КӨБЕЙТУ

**Аннотация.** Мақалада зертхана жағдайында дамылсыз өсіріліп келе жатқан қозының жыныстық ұлпасынан алынған жасуша өсіндісін сақтау және көбейту технологияларының көрсеткіштерін сынама зерттеулерінің нәтижелері келтірілген. Алынған нәтижелерге қарағанда, айтылған жасушалардың 32-ші дүркін өсіндісін концентрациялық мөлшерін азайта сеуіп ұзақ өсіруге, көбейте сеуіп мол өсінді алуға және оларды арнайы сақтағыш ортада сұйық азотқа салып, өзгеріссіз ұзақ уақыт сақтауға болатыны анықталды.

**Түйін сөздер:** технология, вирус, өсіру, сақтау, ұстау, өндіріс, жасуша өсіндісі, қозы мүшесінің тестикулярлы жасушасы, пассаж, титр.

### B.Sh. Myrzakhmetova, A.K. Nakhanov, A.M. Issimov, L.B. Kutumbetov

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

### THE MAINTENANCE AND PRODUCTION OF TRANSFERABLE CULTURE OF CELLS FROM TESTICULAR TISSUE LAMB UNDER LABORATORY CONDITIONS

**Abstract.** In this work there are results of experiments on technology parameters of preservation, maintenance, production testing of cell mass, passages in laboratory conditions of cell population of testicular lamb tissue are described. It is settled that it is possible to maintain by continuous passages the cell population of 32-d passage level, using little cell concentrations; and to produce cell mass by passage with over concentration, also to maintain cry preservation for long time using special protective medium.

**Keywords:** technology, virus, cultivation, preservation, maintenance, production, cell culture, testicular lamb, passage, titer.

Введение. В практике вирусологии культуры клеток занимают одно из основных положений, играя роль продуцента различных вирусов in vitro [1, 2, 3, 4, 5]. За более чем вековой период становления и развития этой отрасли с целью использования в работах по выделению и культивированию вирусов получены несколько десятков культур клеток различного происхождения, которые способны поддерживаться в условиях лаборатории вне зависимости от организма донора [6, 7, 8]. Использование таких клеток в лабораторной и другой практике отличается технологичностью, оперативностью, стандартностью и не высокой себестоимостью [9, 10, 11]. Однако, получение, сохранение, поддержание и производство пересеваемых клеток требует строгого обеспечения их требуемыми питательными веществами, соблюдения определенных технологических параметров культивирования, пересева, консервации и защиты от посторонних загрязнителей биологического происхождения [12, 13]. Несоблюдение стандартных для

каждого вида культуры клеток правил поддержания часто приводит к отрицательным изменениям их морфофункциональных свойств или полной гибели [14, 15].

Настоящая работа посвящена изучению и установлению некоторых технологических параметров поддержания и сохранения морфофункциональных характеристик пересеваемой культуры клеток, полученной из тестикулярных клеток ягненка, которая по данным предварительных исследований обладала достаточной чувствительностью к ряду вирусных возбудителей болезней животных.

Методика исследований. В исследованиях использовали популяцию тестикулярных клеток ягненка, поддерживаемую последовательными пересевами, на уровне 32 пассажа. Пересев клеток осуществляли путем трипсинизации с помощью 0,25 % раствора трипсина и 0,02 % раствора версена, подогретых до 37 °С. Посев и выращивание трипсинизированных клеток осуществляли в стеклянных матрасах разной объемной емкости. Культивирование проводилось стационарным способом при температуре (37 ± 0,5) °С. Для выращивания клеток использовали питательную среду ПСП, содержащую в составе сыворотку крови крупного рогатого скота в количестве 2-10 %. Пересев поддерживаемой культуры клеток проводили после формирования плотного монослоя клеток. Количество водородных ионов в питательной среде и растворах поддерживали на уровне 7,0-7,2 и регулировали добавлением 7,5 % раствора бикарбоната натрия. Концентрацию посевных клеток подсчитывали с помощью камеры Горяева и регулировали до необходимой путем центрифугирования при 1000 g или разбавлением питательной средой и раствором Хенкса.

Поддержание и сохранение культуры клеток проводили в одних опытах путем непрерывных пассажей с помощью пересевов, а в других – криоконсервацией в жидком азоте при температуре минус 196 °C с последующей проверкой на жизнеспособность через определенные промежутки времени.

**Основные результаты исследований.** При непрерывном пассировании сроки пересевов регулировали использованием разных посевных концентраций клеток. С помощью малых концентраций клеток обеспечивали замедленное пассирование, а с использованием средних и повышенных концентраций клеток - обычное и ускоренное пассирование. Данные пассирований клеток при различных посевных концентрациях приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Продолжительность	

Посевная концентрация клеток, тыс/см <sup>3</sup>	Сроки формирования монослоя клеток, сут	Сроки сохранения монослоя клеток, сут	Продолжительность пассажа, сут
50±10	15	10 (15)	25-30
100±20	5	7 (12)	12-17
250±20	2-3	5 (9)	8-12
500±50	1	4 (7)	5-8

Примечание - в скобке показаны сроки сохранения монослоя при использовании среды с пониженной (2-5 %) концентрацией сыворотки крови

Как видно из результатов, приведенных в таблице 1, используя малые концентрации клеток и питательную среду с низким количественным содержанием сыворотки крови, можно замедлить частоту пассирований клеточной культуры и проводить их пересев один раз в месяц, уменьшая тем самым трудовые и экономические затраты на поддержание культуры клеток в жизнеспособном состоянии. Положительной чертой данного способа поддержания культуры клеток является то, что из поддерживаемой популяции можно сразу наращивать производственные партии клеток для репродукции вируса и таким образом сохраняется оперативность процесса изготовления вакцины или другого биопрепарата с использованием популяции данных клеток. Отрицательной стороной данного способа можно признать то, что невозможно сохранять клетки на заданном пассажном уровне, и повышенную вероятность контаминации посторонними микроорганизмами (бактерии, микоплазмы, вирусы) в процессе пересевов и замены питательной среды.

Криоконсервацию клеток осуществляли с помощью жидкого азота. С этой целью суспензию клеток, собранную из матрасов путем трипсинизации, концентрировали осаждением, вносили в защитную среду, состоящую из 20 % ДМСО, 10 % сыворотки крови крупного рогатого скота и 70 % среды ПСП, помещали в криопробирки производства фирмы ТРР, которых подвергали охлаждению при температуре минус 70 °C в течение 18 час. Затем клетки в ампулах или флаконах погружали в жидкий азот (минус 196 °C) и где хранили их до исследования. Для проведения исследований криопробирки с клетками выгружали из жидкого азота не ранее чем через 30 суток и помещали в водяную баню с температурой 37-38 °C. После полного размораживания клетки высевали в сосуды для культивирования с ростовой питательной средой, содержащей 10 % сыворотки крови крупного рогатого скота. За расконсервированными клетками наблюдали в течение срока формирования монослоя и восстановления исходных морфофункциональных свойств. Результаты сохранения клеток путем криоконсервации и восстановления их морфофункциональных характеристик приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты криоконсервации и морфофункциональные параметры клеток после размораживания из глубокой заморозки

				Парам	етры оценки кл	еток	
Консервант	Генера-ция клеток, пассаж	Кол-во живых клеток, %	Кол-во мертвых клеток, %	Адге- зия, %	Сроки формир. моно- слоя, сут	Морфо- логия клеток	Вклю-чения: вакуоли/ зернис-тость, %
Без консер- ванта	До консерв. (32 пасс.)	98	2	90	3	Полиго- нальные	0/0
ДМСО,	После размораж. (33 пасс.)	92	8	70	5	Полиго- нальные	30/50
сыворотка	34 пассаж	s 95 5		80	5	Полиго- нальные	10/30
крови, среда ПСП	35 пассаж	97	3	90	4	Полиго- нальные	0/10
	36 пассаж	96	4	90	3	Полиго- нальные	0/0
Среда ПСП,	После размораж. (33 пасс.)	73	27	45	12	Полиго- нальные	50/80
сыворотка крови	34 пассаж	87	13	85	На 10 сут. не сформ. (срок набл.)	Полиго- нальные	70/80

Как видно из данных таблицы 2, культура клеток 32 пассажа до криоконсервации обладала высокой жизнеспособностью, адгезивностью и пролиферативной активностью, на которые указывают показатели 98 % жизнеспособности популяции клеток, 90 % адгезивность и способность формировать монослой на 3-ие сутки после высева. В то время как после криоконсервации жизнеспособность и ростовые свойства клеток несколько изменились в зависимости от использованного криопротектора. Культура клеток с криопротектором, содержащим ДМСО, сыворотку крови и питательную среду ПСП, после расконсервирования сохранила жизнеспособность на 92 %, адгезивность до 70 % и обладала способностью формировать монослой клеток в течение 5 суток. В последующих двух пассажах культура клеток полностью восстановила свои морфофункциональные свойства. В то время как аналогичная популяция культуры клеток, стабилизированная защитной средой, содержащей только сыворотку крови и питательную среду ПСП, обладала пониженной жизнеспособностью и пролиферативной активностью. После расконсервирования жизнеспособными оказались только 73 % клеток, из которых менее половины обладали адгезивностью, а монослой сформировался только после 12 суток культивирования. После размораживания в течение двух пассажей в цитоплазме клеток, криоконсервированных стабилизирующими средами, сохранялась зернистость. Она была менее заметна и непродолжительна при использовании криопротектора с содержанием ДМСО.

Обсуждение полученных данных. Данные проведенных исследований показали, что культуру пересеваемых тестикулярных клеток ягненка можно без особых трудовых и экономических затрат сохранить в замороженном состоянии и после расконсервирования проводить размножающие пересевы. Морфофункциональные свойства размороженных клеток восстанавливаются до исходных значений после 3-4 пассажей. Для сохранения жизнеспособности криоконсервируемых клеток необходимо использовать защитную среду с определенным компонентным составом. В наших исследованиях удовлетворительной для протекции клеток оказалась среда, содержащая в своем составе ДМСО (20 %), сыворотку крови крупного рогатого скота (10 %), среду ПСП (70 %). Описанный метод гарантирует длительную сохранность выбранной популяции клеток без пассажных сдвигов и исключает контаминацию посторонними микроорганизмами. Незначительным недостатком данного метода является необходимость восстановительных 2-3 пассажей клеток после расконсервирования их из замороженного состояния в смеси со стабилизирующей средой перед производственной расплодкой.

**Заключение.** Клеточную популяцию 32 пассажного уровня можно поддерживать непрерывными пассажами путем пересева, используя малые концентрации посевных клеток и производить клеточную массу путем посевов повышенных концентраций, а также сохранять длительное время криоконсервацией, используя специальную протективную среду.

#### ЛИТЕРАТУРА

1 Герасимов В.Н. Получение, содержание и использование постоянных линий клеточных культур в ветеринарной вирусологии // Современные аспекты патологии животных. - Владимир, 1999. - С. 152-161.

- 2 Миронова Л.Л. Опыт получения и применения первичных и перевиваемых культур клеток // Культивирование клеток животных и человека: Тез. докл. Пущино, 1992. С. 96-103.
- 3 Аспанидзе Б.П. Первичные и диплоидные культуры клеток легкого плода коровы для вирусологических исследований: автореф. дис. ... канд. наук. М., 1987.
- 4 Zhou J.S., Ma H.L., Guo Q.S. Culturing of ovine testicular cells and observation of pathological changes of the cell inoculated with attenuated sheep pox virus // Chinese J Vet Sci Technol. 2004. 34. P. 71-74.
- 5 Осидзе В.Ф. Перспективы в области культивирования клеток и вирусов // Тр. ВГНКИ ветеринарных препаратов. -1977. T. 23. C. 11-20.
- 6 Фрешни Р. Культура животных клеток. Методы // Наращивание животных клеток в культуре. М., 1989. C. 56-107.
  - 7 Сюрин В.Н. Руководство по ветеринарной вирусологии // М.: Колос, 1966. 670 с.
- 8 Новохатский А.С., Михайлова Г.Р., Царева А.А. и др. Каталог перевиваемых клеточных линий // ВИНИТИ. М., 1979. Т. 3.-89 с.
  - 9 Hay R.J. The seed stock concept and quality control for cell lines // Anal Biochem. 1988. 17. P. 225-237.
- 10 Требования к перевиваемым линиям клеток, используемым для производства биологических препаратов // Комитет экспертов ВОЗ по стандартизации биологических препаратов // Докл. ВОЗ. 1988. № 7451.
- 11 Патент РК № 5034. Способ получения субстрата-продуцента вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота, используемого для производства вакцины // Мырзахметова Б.Ш., Кутумбетов Л.Б.; Нур-Султан, 2020.
- 12 Каган Г.Я. Влияние микоплазма-инфекции культур клеток на репродукцию, цитопатическое действие и гемагглютинирующую способность некоторых вирусов // Вопросы вирусологии. М., 1968. 5. C.606-607
- 13 Грещенко В.В. Влияние контаминации на некоторые свойства первично-трипсинизированной культуры клеток почки эмбриона свиньи // Бюлл. ВИЭВ. 1979. Вып. 37. С. 66-69.
- 14 Манин Б.Л., Кузнецова Е.Г., Коропова Н.В. и др. Мониторинг микоплазменной контаминации постоянных клеточных культур // Актуальные проблемы инфекционной патологии животных. Владимир, 2003. C. 250-253.
- 15 Голубев Д.Б., Соминина А.А., Медведева М.Н. Руководство по применению клеточных культур в вирусологии. Л.: Наука, 1976. С. 222-223.

УДК 34.25.05.;34.25.19.

# Г.Д. Наханова, М.С. Сейсенбаева, Н.К. Оразымбетова, Ж.Б. Кондибаева, Ж.К. Кошеметов РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Казахстан ribsp@biosafety.kz

### КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ШТАММА «КОРДАЙ» БОЛЕЗНИ АУЕСКИ

Аннотация. Приведены результаты исследований по культивированию штамма «Кордай» болезни Ауески (БА). Было проведено сравнительное исследование для определения восприимчивости различных клеточных линий к вирусу БА. Тестировались клеточные системы: культуры клеток почки африканской зеленой мартышки – VERO, почки сирийского хомячка – BHK-21, почки теленка – ПТ, почки молодого бычка – MDBK, почки овцы – ПО. Наиболее активные вируссодержащие суспензии получены на культуре клеток ВНК-21 и ПО. Разработаны оптимальные условия культивирования штамма «Кордай» вируса БА в перевиваемой культуре клеток ВНК-21. При этом установлено, что максимальное накопление вируса происходит через 24-48 часов при заражающей дозе 0,1 ТЦД<sub>50</sub>/см³. Представленный способ культивирования вируса болезни Ауески позволит получать диагностические препараты (антигены), пригодные для использования их при получении специфических сывороток, и для постановки серологических тест-систем при болезни Ауески Ключевые слова: вирус болезни Ауески, штамм «Кордай», цитопатическое действие, культура клеток.

Г.Д. Наханова, М.А. Сейсенбаева, Н.К. Оразымбетова, Б.М. Исмагамбетов, Ж.К. Кошеметов ҚР БҒМ ҒК«Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМК, Гвардейский қтп., Қазақстан

### АУЕСКИ АУРУЫНЫҢ «ҚОРДАЙ» ШТАМЫН ӨСІРУ

**Аннотация.** Ауески ауруының (AA) «Қордай» штаммын өсіру бойынша зерттеу нәтижелері келтірілген. АА вирусына әр түрлі жасушалық желілердің сезімталдығын анықтау үшін салыстырмалы зерттеу жүргізілді.

Келесі жасушалық жүйелер: африкалық жасыл маймылбүйрегі — VERO, сириялық атжалманбүйрегі — BHK-21 бүйрек, бұзау бүйрегі — ПТ, жас бұқа бүйрегі — МДВК, қойдың бүйрегі — ПО жасушалық жүйелер сыналынды. Ең белсенді вирусы бар суспензиялар ВНК-21 және ПО жасушаларының өсіндерінде алынды. ВНК-21 жасушаларының өсіндерінде АА вирусының «Қордай» штаммын өсірудің оңтайлы жағдайлары анықталды. Бұл ретте вирустың максималды жиналуы 24-48 сағаттан кейін 0,1 ТЦД $_{50}$ /см $^3$  жұқтырғыш дозасында жүретіні анықталды

**Түйін сөздер:** Ауески ауруының вирусы, «Кордай» штаммы, цитопатиялық әсер, жасушалар өсіндері.

### G.D. Nakhanowa, I.O. Seisenbaev, N.K. Orazymbetova, B.M. Ismagambetov, Zh.K. Koshemetov

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

### CULTIVATION OF A STRAIN OF "KORDAY" AUJESZKY'S DISEASE

**Abstract.** The results of studies on the cultivation of a strain of "Korday" Aujeszky's disease. A comparative study was conducted to determine the susceptibility of different cell lines to the Aujeszky's disease virus. Cell systems were tested: kidney cultures of the African green monkey VERO, kidneys of the Syrian hamster VNK-21, kidneys of a calf, kidneys of a young bull, and kidneys of a sheep. The most active virus-containing suspensions were obtained on the culture of kidneys of the Syrian hamster and kidneys of a sheep. Optimal conditions for cultivation of the "Kordai" strain of the Aujeszky's disease virus in the transplanted culture of kidneys of the Syrian hamster cells have been developed. It was found that the maximum accumulation of the virus occurs after 24-48 hours at an infecting dose of 0.1 TCD<sub>50</sub>/cm<sup>3</sup>.

Keywords: virus of Aujeszky's disease, the strain of "Korday", cytopathic effect, cell culture.

**Введение.** Болезнь Ауески (БА) впервые описана в 1813 году в США как заболевание телят, а в 1902 году венгерский ученый А. Ауески установил небактериальную природу возбудителя заболевания, определенного позже как герпесвирус. Заболевание встречается на всех континентах, протекает в форме энзоотии, и наибольший экономический ущерб приносит свиноводству и пушному звероводству.

БА является очень заразной, экономически значимой болезнью свиней. Эта вирусная инфекция имеет тенденцию вызывать поражение центральной нервной системы (ЦНС) у молодых животных, респираторные заболевания у свиней старшего возраста и репродуктивные потери у свиноматок. Уровень смертности у очень молодых поросят может быть высоким, хотя пожилые животные обычно выздоравливают. Переболевшие свиньи могут скрытно переносить вирус и могут возобновить его передачу в более позднее время. Другие виды животных могут быть заражены, когда они контактируют с инфицированными свиньями или употребляют зараженные сырые ткани свиньи, что приводит к неврологическим поражениям, которые обычно приводят к летальному исходу в течение нескольких дней. Например, в Китае были замечены серьезные вспышки БА у крупного рогатого скота заразившиеся от свиней. Кроме того, тысяча фермерских норок и лис умерли после кормления зараженной печенью свиньи.

БА может привести к торговым ограничениям, а также к экономическим потерям в странах, где она является эндемической. Это остается серьезной проблемой среди одомашненных свиней в некоторых частях мира. Варианты, которые недавно вызвали вспышки среди вакцинированных свиней в Китае, могут вызывать особую озабоченность. Во многих странах, включая США и Канаду, с помощью программ была ликвидирована эта болезнь у домашних свиней. Тем не менее, вирусы часто сохраняются у диких свиней и кабанов и могут быть источником заражения домашних свиней. Вирусы диких животных также спорадически вызывают БАу других животных, особенно у охотничьих собак [1].

Вирус размножается во множестве клеточных культур разных видов. Наиболее используемыми клеточными линиями являются клеточные линии свиней PK-15, SK, SK-6, ПП, ПТ-80 и СПЭВ, клеточная линия хомяка ВНК-21, клеточные линии кролика RK-13 и NRK, клеточная линия крупного рогатого скота MDBK, клеточная линия кошки CRFK, клеточная линия собак MDCK и клеточная линия обезьян Vero. Также используются первичные клеточные культуры из почек свиней, телят, ягнят, кроликов и собак, из семенников свиней и телят, а также из эмбрионов кур [2-4].

Большое количество культур клеток и разрозненные данные по их использованию побудило нас к проведению исследований по подбору наиболее чувствительной культуральной системы для вируса БА штамма «Кордай», с последующим на основании проведенного опыта приготовления диагностических препаратов.

**Материалы и методы исследований.** *Вирус*. В работе был использован штамм «Кордай» вируса БА. Культуры клеток и питательные среды. Для наработки активных вируссодержащих суспензий вируса БА использовали перевиваемые культуры клеток почки африканской зеленой мартышки – VERO, почки сирийского хомячка – ВНК-21, почки теленка – ПТ, почки молодого бычка – MDBK, почки овцы – ПО, выращенные в 1,5 л матрасах.

Для всех культур клеток использовали поддерживающую питательную среду VERO и питательную среду ПСП, с рН-7,8, добавлением 2 % инактивированной бычьей сыворотки, 100 ЕД/мл пенициллина, 0,1 мкг стрептомицина и 1 % глютамина.

Для определения биологической активности БА культуру клеток заражали каждым разведением вирусной суспензии (по четыре пробирки с культурой клеток для каждого разведения). Для этого, в каждую пробирку с монослоем культуры клеток с помощью пипетки стерильно вносили по  $0.2 \, \mathrm{cm}^3$  каждого разведения ( $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-8}$ ) вируса. Затем пробирки помещали в термостат, обеспечивающий температуру нагрева плюс ( $37 \pm 0.5$ ) °C, и выдерживали в течение часа, затем добавляли по  $1 \, \mathrm{mn}$  среды и оставляли культивировать в течение пяти суток. Биологическую активность полученных материалов определяли путем титрования в соответствующих культурах, титр вируса рассчитывали по методу Рида и Менча[5].

*Метод постановки реакции диффузионной преципитации*. В 1,5 % агаре Дифко, приготовленном в веронал-мединаловом буфере с рН-8,6, по трафарету с помощью металлической трубки делали лунки диаметром 0,5 см<sup>3</sup> на расстоянии 0,3-0,4 см друг от друга.

Для обнаружения антигена или антител в испытуемых пробах РДП ставили одновременно с двумя стандартными (специфическим и нормальным) компонентами реакции. После постановки реакции чашки Петри закрывали крышками, ставили под стеклянный колпак и выдерживали (24–48) ч при 37 °С во влажной камере. Реакцию считали положительной, если между лунками с испытуемыми антигенами и специфической сывороткой через указанное выше время имелись линии преципитации по характеру идентичные линиям в контроле. При отсутствии линий преципитации между указанными компонентами реакцию считали отрицательной.

**Полученные результаты исследований.** По литературным данным вирус БА хорошо размножается в культурах клеток ПСГК, ВНК-21 и VERO [6, 7].

Вирус вызывает два типа цитопатического действия (ЦПД) на клетки: образование синцитий и округление клеток. Оба типа приводят к лизису клеток. Синцитии в основном обнаруживается в высоковирулентных вирусных изолятах, тогда как клеточное округление в изолятах с более низкой вирулентностью. Это различие особенно заметно в первичных клетках почек свиньи, тогда как в других клеточных культурах смешанные формы появляются в соответствии с распространенностью одного из двух типов ЦПД.

В связи с этим, мы в своих исследованиях, с целью получения культуральных суспензий с высокой инфекционной активностью, испытывали для репродукции данного вируса культуры клеток VERO, ВНК-21, ПТ, МДВК и ПО.

Для определения оптимальной заражающей дозы вносили в матрас из расчета 0,4; 0,2; 0,1; 0,02 и 0,01  $\text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ . На указанных клеточных линиях штамм «ВГНКИ» накапливался через 1-2 суток после заражения в стационарных условиях в титрах 5,25-7,5  $\text{lgTLД}_{50}/\text{см}^3$ . На всех культурах клеток было проведено по 3 пассажей. Сбор вирусного сырья проводили через 18, 24, и 48 часов при поражении монослоя на 80 и 100 %. Результаты накопления вируса болезни Ауески представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Накопление вируса болезни Ауески	, сроки культивирования,	биологическая и антигенная
ак	гивность	

Поположил	Культура клеток								
Параметры	ВНК-21	Vero	ПО	МДВК	ПТ				
Сроки наступления ЦПД, сут	2-4	5-8	2-4	6-9	4-6				
Биологическая активность, lgTЦД <sub>50</sub> /см <sup>3</sup>	8,25±0,25	5,25±0,25	7,5±0,25	6,25±0,25	6,7±0,25				
Активность специфического антигена в									
РДП	1:8-1:16	1:4-8	1:8	1:8	1:8				

Установлено, что высокая биологическая активность штамма «Кордай» вируса БА наблюдается при использовании культуры клеток ПО, ПТ и МДВК. Но более высокая биологическая активность (8,25 lg ТЦД<sub>со</sub>/см<sup>3</sup>) получена при использовании культуры клеток ВНК-21.

Для определения сроков культивирования штамма «Кордай» вируса БА *in vitro* нами была проведена серия экспериментов по изучению динамики репродукции данного возбудителя в культуре клеток ВНК-21 в зависимости от множественности инфицирующей дозы. Для этого 1-2 сут пробирочную культуру клеток ВНК-21 инфицировали штаммом «Кордай» вируса БА с множественностью 0,01;0,05;0,1;0,5 и 1,0 ТЦД $_{50}$  кл. После адсорбции вируса на клетках в течение 1 ч при  $(37\pm1)$  °C вируссодержащий материал удаляли, вносили поддерживающую среду и инкубировали систему вирус-клетка при температуре  $(37\pm1)$  °C в течение 2-3 сут. Ежедневно проводили контроль состояния клеточного монослоя на наличие ЦПД вируса БА путем просмотра под микроскопом. Динамику накопления штамма «Кордай» вируса БА в культуре клеток ВНК-21 изучали по показателям биологической и антигенной активностей вируссодержащих суспензий, полученных на разных сроках инкубирования после инфицирования различными дозами вируса. Полученные в процессе исследования результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Определение оптимальной инфицирующей дозы штамма «Кордай» вируса БА в культуре клеток ВНК-21

Испытанная	Проявление ЦПД	Средние показатели репродукции штамма «Кордай» вируса БА (X±m)					
заражающая доза вируса, ТЦД <sub>50</sub> /кл	вируса, сут	Биологическая активность, $\lg \mathrm{T} \coprod_{50} / \mathrm{cm}^3$	Антигенная активность (РДП)				
0,01	3	7,25±0,00	1:2				
0,05	3	8,25±0,00	1:2				
0,1	2	8,75±0,25	1:4 – 1:8				
0,5	1 – 2	8,50±0,25	1:4 – 1:8				
1,0	1 – 2	8,25±0,00	1:2 – 1:4				

Из данных, представленных в таблице 2 видно, что оптимальная инфицирующая доза штамма «ВГНКИ» вируса БА в исследуемой культуральной системе составила 1 ТЦД $_{50}$ /клетку, так как при использовании данной дозы наблюдается максимальное накопление специфического антигена, которое происходит на 2 сут культивирования. Показатели репродукции (биологическая активность) данного штамма вируса БА, в среднем, составили: 8,75 lg ТЦД $_{50}$ /см $^3$ , а активность приготовленных антигенов в РДП 1:4-1:8. При высокой множественности инфицирования, 1,0 ТЦД $_{50}$ /кл, наблюдается более быстрое развитие цитодеструкции, уже на 1-2 сут культивирования с высокимипоказателями биологической активности, но полученные вируссодержащие суспензии обладали низким уровнем антигенной активности, который составил, в среднем 1:2-1:4.

**Обсуждение результатов.** Таким образом, оптимальная заражающая доза штамма «Кордай» вируса БА составляет  $0.1 \text{ТЦД}_{50}$ /кл, со сроком культивирования вируса 36 ч, при котором поражается 90-95 % монослоя культуры клеток.

Результаты проведенных нами исследований показали, что применение параметров, отработанных для выращивания штамма «Кордай» вируса БА в монослое клеток ВНК-21 стационарным методом, позволило получить культуральную суспензию данного возбудителя с биологической активностью, составившей, в среднем  $(8,75\pm0,25)$  lg  $\text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ .

Для изучения температурно-временных условий культивирования вируса болезни Ауески, использовали пробирочную культуру клеток ВНК-21. Монослой культуры клеток ВНК-21 заражали штаммом «Кордай» вируса БА и выдерживали при температуре 37 °C в течение 1 часа, для контакта монослоя с вирусом.

После контакта монослоя с вирусом в культуру клеток добавляли поддерживающую среду Игла Мем по  $1.0~{\rm cm^3}$  и культивировали в течение  $1-9~{\rm cytok}$ , при разных температурных режимах от  $(24\pm1)~{\rm ^{\circ}C}$ ,  $(31\pm1)~{\rm ^{\circ}C}$  и  $(37\pm1)~{\rm ^{\circ}C}$  с ежедневным просмотром под микроскопом до проявления ЦПД вируса, со сменой поддерживающей среды с добавлением  $2~{\rm ^{\circ}M}$  нормальной сыворотки КРС. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Определение оптимальных температурно-временных условий культивирования вируса БА

Т		Сутки									
Температурные режимы	1 2 3 4 5 6 7					8	9				
24°C±1°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
31°C±1°C	-	-	-	+	+	+	+	+	+		
37°C±1°C	-	+	+	+	+	-	-	-	-		
Примечания											
1 «-» - отсутствие ЦПД вируса											
2 «+» - наличие ЦПД в	ируса										

Из данных таблицы 3 видно, что при температуре культивирования 37 °C штамма «Кордай» вируса БА ЦПД вируса развивалось между 2-3 сутками после заражения культуры клеток, поражение монослоя культуры клеток достигало 80-90 %, а при температуре 31 °C на 5-9 сутки, поражение монослоя культуры клеток достигало примерно 30-40 % (визуально), при температуре 24 °C (комнатной температуре) на протяжении 9 суток ЦПД в монослое культуры клеток не наблюдалось.

Полученные данные свидетельствуют о том, что для вируса БА оптимальной температурой культивирования является  $(37 \pm 1)$  °C.

Заключение. Разработаны оптимальные условия культивирования вируса болезни Ауески, штамма «Кордай», в перевиваемой культуре клеток ВНК-21, которые предполагают культивирование возбудителя в течение 24-72 часов со множественностью инфицирования 0,1 ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>.

Было установлено, что максимальное накопление вирусов происходит через 24-48 часов при заражающей

дозе 0,1 ТЦД<sub>50</sub>/см<sup>3</sup>. Наиболее активные вируссодержащие суспензии получены на культуре клетке ПО и ВНК-21. Культуру клеток ВНК-21 в последующем будем использовать для наработки активных вируссодержащих суспензии и приготовлении специфических антигенов болезни Ауески.

#### ЛИТЕРАТУРА

- 1 Spickler A.R. Aujeszky's Disease Retrieved from http://www.cfsph.iastate.edu/FastFacts/pdfs/aujeskys\_disease F.pdf. 2017.
  - 2 Wittmann G. Aujeszky's disease // Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. 1986. 5 (4). P. 959-977.
- 3 Spickler Anna Rovid. Aujeszky's Disease // Retrieved from http://www.cfsph.iastate.edu/DiseaseInfo/factsheets.php. 2017.
- 4 Преображенская А.С., Дяченко С.А., Матвеева И.Н., Попова В.М. Культура клеток для репродукции полевого изолята вируса болезни Ауески // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. -2015. -№ 7. C. 46-48
- 5 Reed L.J., Muench H. A simple method of estimating fifty percent endpoints // The American Journal of Hygiene. 1938. 27. P. 493-497.
- 6 Белоконь В.С., Мищенко В.А., Корниенко Л.Е. Сравнительная оценка чувствительности к вирусу болезни Ауески разных систем культивирования // Биотехн. вет. преп.: Мат. науч. практ. конф. 25-26 октября 1993.- Харьков, 1993.- 14 с.
- 7 Мищенко А.В., Яременко П.А., Захаров В.М. и др. Экологические особенности вируса болезни Ауески // Болезнь Ауески. Сборник научных работ. Владимир, 2001. С.23-35.

УДК 571.27: 615.37

### А.С. Нурпейсова, М.М. Касенов, К.К. Джекебеков, Р.Т. Абитаев, Б.М. Хайруллин, Н.Н. Асанжанова, Ж. Кыдырбаев

РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Казахстан ainurnurpeisova@mail.ru

### КОМИССИОННЫЕ ИСПЫТАНИЯ ОПЫТНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СЕРИИ ВАКЦИН ИНАКТИВИРОВАННОЙ ЭМУЛЬГИРОВАННОЙ ПРОТИВ ГРИППА ПТИЦ СУБТИПА Н7

**Аннотация.** В данной статье представлены результаты комиссионныго испытания опытнопроизводственной серии вакцин инактивированной эмульгированной против гриппа птиц субтипа H7.

На основе проведенных работ было установлено, что опытно-производственной серии вакцин инактивированной эмульгированной против гриппа птиц субтипа Н7, разработанные в РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, соответствуют инструкции по изготовлению и контролю стандарта организации СТ 405-1919-04 ГП-096-2017.

Учитывая угрозу заноса гриппа птиц субтипа Н7 на территорию Казахстана из неблагополучных сопредельных стран актуальным становится вопрос специфической профилактики гриппа птиц указанного субтипа.

Ключевые слова: вакцина, грипп птиц субтипа Н7, опытно-производственная серия.

### А.С. Нурпейсова, М.М. Касенов, К.К. Джекебеков, Р.Т. Абитаев, Б.М. Хайруллин, Н.Н. Асанжанова, Ж. Кыдырбаев

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

## ҚҰС ТҰМАУЫНЫҢ Н7 СУБИПІНЕ ҚАРСЫ ИНАКТИВТЕЛІП ЭМУЛЬДЕНГЕН ВАКЦИНАСЫНЫҢ ТӘЖІРИБЕЛІК-ӨНДІРІСТІК СЕРИЯСЫН КОМИССИЯЛЫҚ СЫНАҚТАН ӨТКІЗУ

**Анотация.** Мақалада құс тұмауының Н7 субипіне қарсы инактивтеліп эмульденген вакцинасының тәжірибелік-өндірістік сериясын комиссиялық сынақтан нәтижелері келтірілген.

Жүргізілген жұмыстардың негізінде, Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі Ғылым

комитетінің «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларын ғылыми-зерттеу институты» РМК-да жасалған құс тұмауының Н7 субипіне қарсы инактивтеліп эмульденген вакцинасының тәжірибелік-өндірістік сериясы СТ 405-1919-04 ГП-096-2017 өндіру және бақылау жөніндегі ұйым стандартына сәйкес келеді.

Тұмау жұқтыру қаупі бар көршілес елдерден Қазақстан аумағына Н7 құс тұмауының Н7 субтипнің енгізбеу мақсаттағы аталмыш тұмаудың алдын-алу мәселесі өзекті болып отыр.

Түйін сөздер: вакцина, құс тұмауының Н7 субтипі, тәжірибелік-өндірістік серия.

### A.S. Nurpeisova, M.M. Kassenov, K.K. Zhekebekov, R.T. Abytaev, B.M. Khairullin, N.N. Assanzhanova, Zh. Kydyrbayev

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

### COMMISSION TESTS OF THE EXPERIMENTAL PRODUCTION SERIES OF VACCINES OF INACTIVATED EMULTIED AGAINST INFLUENZA OF SUBTYPE H7

**Abstract.** This article presents the results of commission tests of the experimental production series of vaccines of inactivated emultied against influenza of subtype H7.

Based on the work carried out, it was found that the experimental production series of the vaccines of inactivated emultied against influenza of subtype H7 developed at the RSE "Research Institute for Biological Safety Problems" of the Committee of Science of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan comply with the instructions for the production and control of organization standard No. 405-1919-04  $\Gamma\Pi$ -096-2017.

Given the threat of the introduction of avian influenza subtype H7 into the territory of Kazakhstan from unfavorable neighboring countries, the issue of specific prophylaxis of avian influenza of the indicated subtype becomes urgent.

**Keywords:** vaccine, avian influenza subtype H7, experimental production series.

**Введение.** Согласно литературным данным высокопатогенный грипп птиц вызывается в основном субтипами Н5 и Н7, которые служат причиной эпизоотий [1-3].

В последние годы в популяциях диких и домашних птиц практически во всех европейских странах и в ряде стран Африки, Азии и Ближнего Востока обнаружены высокопатогенные варианты разной вирулентности вируса гриппа А субтипа Н7 [3].

Учитывая угрозу заноса гриппа птиц субтипа Н7 на территорию Казахстана из неблагополучных сопредельных стран актуальным становится вопрос специфической профилактики гриппа птиц указанного субтипа.

В Казахстане в условиях Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности (НИИПББ) разработана технология изготовления инактивированной эмульгированной вакцины против гриппа субтипа Н5. В связи с участившимися случаями вспышек высокопатогенного гриппа птиц среди домашних и диких птиц в мире перед нами была поставлена задача об актуализации штаммового состава существующей коммерческой вакцины к циркулирующим штаммам вируса гриппа субтипа Н7. В этой связи НИИПББ в 2017 году приобрел по линии Всемирной организации здравоохранения из сервисной лаборатории Национального института биологических стандартов и контроля, Великобритания (National Institute for Biological Standards and Control – NIBSC, UK) рекомбинантные штаммы вируса гриппа субтипа Н7:

- рекомбинантный штамм NIBRG-267 (H7N9) вируса гриппа, полученный методом обратной генетики в Национальном институте биологических стандартов и контроля. Штамм представляет собой реассортантный вирус, полученный путем обратной генетики. Штамм содержит гены гемагглютинина и нейраминидазы вируса A/Shanghai/2/2013(H7N9) и гены PB2, PB1, PA,NP, M,NS от вируса A-PuertoRico/8/34 (H1N1).
- рекомбинантный штамм NIBRG-268 (H7N9) вируса гриппа, полученный методом обратной генетики в том же институте. Штамм содержит гены гемагглютинина и нейраминидазы вируса A/Anhui/1/2013(H7N9) и гены PB2, PB1, PA,NP, M,NS от вируса A -PuertoRico/8/34 (H1N1).

Приготовление инактивированных вакцин против гриппа птиц субтипа Н7 проводилось согласно ранее разработанной технологии коммерческой вакцины против гриппа птиц субтипа Н5.

Далее приказом Генерального директора института были проведены комиссионные испытания по контролю опытно-производственной серии вакцин инактивированной эмульгированной против гриппа птиц субтипа Н7 (№72П от 16.04.2019 года). Испытания проводились на базе «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК согласно стандарту организации СТ 405-1919-04 ГП-096-2017.

**Методика исследований.** Согласно стандарту организации СТ 405-1919-04 ГП-096-2017 контроль инактивированной эмульгированной вакцины против гриппа птиц субтипа Н7 включает в себя следующие

параметры контроля: определение стерильности, бактериальной и грибковой контаминации испытуемых вакцин проводили согласно ГОСТ 28085-2013 [4], определение физико – химических свойств и концентрации водородных ионов (рН), контроль стабильности вакцины методом центрифугирования и термостатирования, определение кинематической вязкости, оценка безвредности/ареактогенности и определение иммуногенности.

**Полученные результаты исследований.** Комиссионные испытания проводили на базе НИИПББ в аккредитованной испытательной лаборатории «Контроля технологии и биопрепаратов». Для этой цели использованы общую пробу из каждой вакцины.

Определение стерильности, бактериальной и грибковой контаминации испытуемых вакцин проводили согласно ГОСТ 28085-2013. В результате чего, все среды оставались чистыми в течение срока наблюдения от бактериальной и грибковой контаминации, стерильность вакцин соответствует требованию СТ 405-1919-04 ГП-096-2017.

Результаты определения физико-химических свойств и концентрации водородных ионов (pH) вакцин инактивированных эмульгированных из рекомбинантных штаммов NIBRG-267 (H7N9) и NIBRG-268 (H7N9) представленыв таблице 1.

Таблица 1- Результаты контроля физико-химических свойств вакцин против гриппа птиц субтипа Н7

Параметры контроля	Технические (технологические) требования к ветеринарному препарату	Результаты контроля качества		
1	2	3		
Вакцина инактивированная э	із штамма NIBRG-267 (H7N9)			
Физико-химические свойства вакцины (Внешний вид, лекарственная форма, форма фасовки, наличия посторонних примесей, плесени)	1. Лекарственная форма — эмульсия. Внешний вид вакцины — однородная эмульсия белого цвета. Допускается частичное расслоение эмульсии, легко восстанавливаемое при встряхивании.	Однородная эмульсия белого цвета. Имеется частичное расслоение эмульсии, легко восстанавливаемое при встряхивании.		
Концентрация водородных ионов (рН)	Показатели водородных ионов – 6,8 – 7,4.	7,4		
Вакцина инактивированная э	мульгированная против гриппа птиц субтипа Н7 и	з штамма NIBRG-268 (H7N9)		
1	2	3		
Физико-химические свойства вакцины (Внешний вид, лекарственная форма, форма фасовки, наличия посторонних примесей, плесени)	1. Лекарственная форма — эмульсия. Внешний вид вакцины — однородная эмульсия белого цвета. Допускается частичное расслоение эмульсии, легко восстанавливаемое при встряхивании.	Однородная эмульсия белого цвета. Имеется частичное расслоение эмульсии, легко восстанавливаемое при встряхивании.		
Концентрация водородных ионов (рН)	Показатели водородных ионов – 6,8 – 7,4.	6,8		

По результатам контроля стабильности вакцин методом центрифугирования в каждой из трех пробирок с испытуемыми вакцинами в процессе визуального контроля не обнаружено никаких изменений содержимого и высота столба прозрачной фракции, сформировавшейся в верхней части пробирки, не превышала 30 мм.

По результатам контроля стабильности вакцин методом термостатирования в течение всего срока наблюдения в каждой из трех пробирок с испытуемыми вакцинами в процессе визуального контроля не обнаружена прозрачная водная фракция на дне пробирки и не наблюдалось полное расслоение эмульсии на составляющие компоненты. В процессе испытаний было не значительное появление прозрачной или желтоватой масляной фракции в верхней части пробирки, что легко устранялось встряхиванием, что не является признаком расслоения.

Стабильность вакцины инактивированной эмульгированной из рекомбинантного штамма NIBRG-267 (H7N9) и рекомбинантного штамма NIBRG-268 (H7N9) из эпизоотически актуальных штаммов соответствует требованию СТ 405-1919-04  $\Gamma$ П-096-2017.

Определение кинематической вязкости проводили при помощи капиллярного вискозиметра, метод основан на определении времени истечения через капилляр определенного объема жидкости из измерительного резервуара. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты контроля кинематической вязкости эмульсии вакцины

Наименование вакцины	Повтор- ность испыта- ний	Время t сек.	t, среднее сек.	Вязкость V	Неопределённость опыта
----------------------	------------------------------------	-----------------	-----------------------	---------------	------------------------

27

Вакцина инактивированная эмульгиро-	1	37,8			
ванная против гриппа птиц субтипа Н7 из	2	37,0	37	37,0	<u>+</u> 0,00907
штамма NIBRG-267 (H7N9)	3	38,0			
Вакцина инактивированная эмульгиро-	1	38,0			
ванная против гриппа птиц субтипа Н7 из	2	38,0	38,0	37,3	+0,00894
штамма NIBRG-268 (H7N9)	3	38,0			_ /

Кинематическая вязкость испытуемых вакцин в составило 37,0-37,3 мм<sup>2</sup>/с. Кинематическая вязкость вакцин против гриппа птиц субтипа H7 соответствуют требованию СТ 405-1919-04 ГП-096-2017.

Безвредность испытуемых вакцин проверяли на цыплятах в возрасте 30 суток, массой не ниже 100 г, из хозяйств благополучных по острым инфекционным заболеваниям и серонегативных к вирусу гриппа птиц типа А. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты определения безвредности/ареактогенности вакцин против гриппа птиц субтипа H7 у цыплят

Наименование испытуемых вакцин	Количество птиц в опыте, гол	Результаты наблюдения за птицами (местная реакция)	Тканевая реакция на месте введения вакцины
Вакцина инактивированная эмульгированная против гриппа птиц субтипа Н7 из штамма NIBRG-267 (H7N9)	10		
Вакцина инактивированная эмульгированная против гриппа птиц субтипа Н7 из штамма NIBRG-268 (H7N9)	10		

#### Примечания

1 «+» реакция незначительная (единичное дисткретное разрастание волокнистой соединительной ткани белого цвета, диаметром 2,0 - 2,5 мм;

По результатам контроля безвредности/реактогенности и авирулентности испытуемых вакцин в течение 10 сут после введения вакцины у привитых птиц каждой группы не отмечались клинические признаки заболевания гриппом (депрессия, потеря чувствительности, синюшность видимых слизистых оболочек, гребня и сережек и др.), а также гибели птицы. На месте введения вакцины не отмечались признаки воспаления. У некоторых птиц наблюдалась местная реакция в виде припухлости, которая полностью рассасалась в течение 3-5 дней без применения.

Согласно отмеченным результатам, вакцины инактивированные эмульгированные против гриппа птиц субтипа H7 из эпизоотически актуальных рекомбинантных штаммов соответствуют требованию CT405-1919-04 ГП-096-2017.

Иммуногенность и эффективность вакцин против гриппа птиц субтипа H7 исследовали на 90 цыплятях, восприимчивых к вирусу гриппа, в возрасте старше 30 суток, с живой массой не ниже 100 г, из хозяйств благополучных по острым инфекционным заболеваниям и серонегативных к вирусу гриппа типа A.

Для определения динамики накопления среднегеомерических антител птиц, привали инактивированной эмульгированной вакциной из рекомбинантного штамма NIBRG-267 (H7N9) и рекомбинантного штамма NIBRG-268 (H7N9) в дозе 0,5 мл. За подопытными птицами вели клиническое наблюдение в течение 28 суток, по истечению 28 суток после вакцинации у всех вакцинированных птиц отбирали пробу сывороток крови и исследовали в РТГА для определения уровня антител против гриппа птиц субтипа H7. Результаты исследований приведены в таблице 4.

Таблица 4 – Титр антител в сыворотках крови у вакцинированных птиц, исследованных в РТГА

			-					
	No	Титр ан-	No	Титр ан-	No	Титр ан-	№	Титр ан-
Наименование вакцины		тител в	•	тител в		тител в		тител в
	птиц	РТГА	птиц	РТГА	птиц	РТГА	птиц	РТГА
D	1	1:8	6	1:64	11	1:128	16	1:32
Вакцина инактивированная	2	1:8	7	1:128	12	1:128	17	1:32
эмульгированная против грип-	3	1:8	8	1:32	13	1:32	18	1:64
па птиц субтипа H7 из штамма NIBRG-267 (H7N9)	4	1:8	9	1:128	14	1:32	19	1:128
NIBRO-207 (117N9)	5	1:8	10	1:64	15	1:64	20	1:128

<sup>2 «-»</sup> отсутствие реакции.

	1	1:128	6	1:128	11	1:128	16	1:64
Вакцина инактивированная	2	1:128	7	1:64	12	1:128	17	1:32
эмульгированная против грип-	3	1:8	8	1:64	13	1:64	18	1:32
па птиц субтипа H7 из штамма NIBRG-268 (H7N9)	4	1:8	9	1:128	14	1:64	19	1:64
	5	1:8	10	1:128	15	1:64	20	1:64

Из данных таблицы 4 видно, что по результатам контроля антигенной активности (иммуногенности) титр антител сыворотках крови в РТГА после однократной вакцинации инактивированной эмульгированной вакциной против гриппа птиц из рекомбинантного штамма NIBRG-267 (H7N9) был в пределах 1:8 и 1:128. Вакцина инактивированная эмульгированная против гриппа птиц из рекомбинантного штамма NIBRG-268 (H7N9) также обуславливает напряженный иммунитет против гриппа птиц субтипа H7 у привитых птиц, при этом титр антител в сыворотке крови в РТГА после однократной вакцинации на 28 сутки был в пределах 1:8 и 1:128. Результаты исследований средного геометрического титра (СГТ) приведены на рисунке 1.

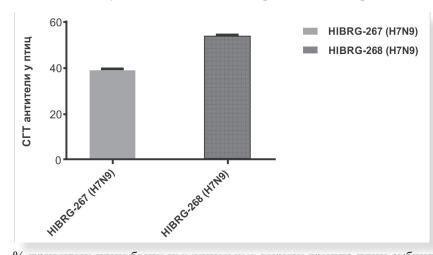


Рисунок  $1-C\Gamma T$  антител у птиц на 28 сутки после однократной вакцинации, привитых вакцинами против гриппа птиц субтипа H7 из рекомбинантных штаммов

Данные рисунка 1 показывают, что вакцины против гриппа птиц субтипа Н7 обладают выраженной антигенной активностью. СГТ антител у птиц, привитых вакциной из рекомбинантного штамма NIBRG-267 (H7N9) составил 1:39,26, при этом 75

% привитых птиц были иммунными к вирусу гриппа птиц субтипа H7, титры антител превышали 1:16. Более иммуногенной оказалась вакцина из рекомбинантного штамма NIBRG-268 (H7N9). СГТ на 28 сутки после иммунизации составил 1:53,83, что в несколько раз превышает аналогичные показатели вакцины из штамма NIBRG-267 (H7N9). Все птицы привитые вакциной из рекомбинантного штамма NIBRG-268 (H7N9) были иммунными, то есть вакцина обладала 85 % иммуногенностью.

Заключение. Таким образом, в результате исследований вакцины против гриппа птиц субтипа H7 на соответствие стандарту организации СТ 405-1919-04 ГП-096-2017 установлено, что вакцина против гриппа птиц из рекомбинантного штамма NIBRG-267 (H7N9) по внешнему виду представляет собой стойкую однородную эмульсию белого цвета, без посторонних примесей, концентрация водородных ионов (pH) вакцины составляет (7,4  $\pm$  0,188), стабильность вакцины соответствует требованиям СТ 405-1919-04 ГП-096-2017, кинематическая вязкость вакцины достигает 37,013 мм²/сек, что соответствует требованиям СТ 405-1919-04 ГП-096-2017. По стерильности вакцина соответствует требованиям ГОСТ 28085-2013. Вакцина авирулентна, безвредна и нетоксична для птиц. Также вакцина обуславливает создание 75 % напряженного иммунитета против гриппа птиц субтипа H7 на 28 сутки после однократной вакцинации.

Результаты комиссионных испытаний вакцины против гриппа птиц субтипа H7 из эпизоотически актуального, рекомбинантного штамма NIBRG-268 (H7N9) на соответствие стандарту организации СТ 405-1919-04 ГП-096-2017 показали, что вакцина по внешнему виду представляет собой стойкую однородную эмульсию белого цвета без посторонних примесей. Концентрация водородных ионов (pH) вакцины составляет ( $6,8\pm0,00226$ ). Стабильность вакцины соответствует требованиям СТ 405-1919-04 ГП-096-2017. Кинематическая вязкость вакцины достигает 37,3 мм²/сек, что соответствует требованиям СТ 405-1919-04 ГП-096-2017. По стерильности вакцина соответствует требованиям ГОСТ 28085-2013. Вакцина авирулентна, безвредна и нетоксична для птиц. Вакцина обуславливает создание 85 % напряженного иммунитета против гриппа птиц субтипа H7 на 28 сутки после однократной вакцинации.

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках программно-целевого финансирования О.0878 «Ветеринарная безопасность территории Республики Казахстан: эпизоотологический мониторинг, испытание, внедрение и коммерциализация средств специфической профилактики и диагностики особо опасных инфекционных заболеваний» (ИРН ВR06249226) при финансировании Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан договор № 28 от 10 сентября 2018 года.

#### ЛИТЕРАТУРА

- 1 Senne D.A. Avian influenza in North and South America, the Caribbean, and Australia, 2006-2008 //Avian Dis. − 2010. − №54. − P. 179-186.
- 2 Brown I.H. Summary of avian influenza activity in Europe, Asia and Africa, 2006-2009 // Avian Dis.  $-2010. N_{2}54. P. 187-193.$ 
  - 3 Swayne D.E., Suarez D.L. Highly pathogenic avian influenza // Rev Sci Tech. −2000. −№19 (2). −P. 463-82.
- 4 Средства лекарственные биологические для ветеринарного применения. Метод бактериологического контроля стерильности. ГОСТ 28085-2013 (http://docs.cntd.ru/document/ 1200104835)

#### УДК 619.614.48

В.Ю. Сущих<sup>1</sup>, Л.Ю. Лухнова<sup>2</sup>, Б. Канатов<sup>1</sup>, К. Нурлан<sup>1</sup>, С. Дюсенов<sup>1</sup>, М. Юсупов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт»

Министерства сельского хозяйства Республики Казахстана, Алматы, Казахстан

<sup>2</sup>Национальный научный центр особо опасных инфекций им. Масгута Айкимбаева Министерства

Здравоохранения Республики Казахстан, Алматы, Казахстан

## ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА «БА-12», ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОВЕРХНОСТНОЙ ОБРАБОТКИ ПОЧВЫ, ОБСЕМЕНЕННОЙ СПОРАМИ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ И ВЕТЕРИНАРНЫХ ОБЪЕКТОВ

Аннотация. Территория Казахстана является неблагополучной по сибирской язве, официально регистрируемая с 1935 года, в настоящее время риск возникновения вспышек сохраняется. Одна из причин – наличие зараженных возбудителем сибирской язвы территорий, почвенных очагов сибирской язвы. В настоящее перечень дезинфицирующих средств ограничен. Актуальными являются разработки, проводимые с целью создания новых композиций, обладающих спороцидными свойствами для обработки почвы, обсемененной спорами сибирской язвы. Нами разработано и проведено испытание нового дезинфицирующего ветеринарного средств «БА-12» и для поверхностной обработки почвы ветеринарных объектов.

Ключевые слова: сибирская язва, дезинфицирующие средства, почвенные очаги сибирской язвы.

В.Ю. Сущих<sup>1</sup>, Л.Ю. Лухнова<sup>2</sup>, Б. Канатов<sup>1</sup>, К. Нурлан<sup>1</sup>, С. Дюсенов<sup>1</sup>, М. Юсупов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> «Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты» ЖШС

Қазақстан Республикасы Ауыл шаруашылығы министрлігі, Алматы, Қазақстан

<sup>2</sup> «Масғұт Айқымбаев атындағы аса қауіпті инфекциялар ұлттық ғылыми орталығы»

Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігі, Алматы, Қазақстан

### «БА-12» ЗАРАРСЫЗДАНДЫРУ ҚҰРАЛЫНЫҢ ҚАСИЕТТЕРІН ТОПАЛАҢ ҚАУАШАҒЫМЕН ЗАҚЫМДАЛҒАН ТОПЫРАҚТЫ ЖӘНЕ ВЕТЕРИНАРИЯЛЫҚ НЫСАНДАРДЫҢ БЕТТЕРІН ӨҢДЕУДЕ ПАЙДАЛАНУ ҮШІН ЗЕРТТЕУ

Аннотация. Қазақстан аумағы 1935 жылдан бастап ресми тіркелетін топалаң бойынша қолайсыз болып табылады, қазіргі уақытта өршу қаупі сақталуда. Себептердің бірі – топалаң қоздырушысын жұқтырған аумақтардың, топалаңның топырақ ошақтарының болуы. Қазіргі уақытта зарарсыздандыру құралдарының тізімі шектеулі. Топалаң қауашағымен зақымдалған топырақты өңдеу үшін спороцидтік қасиеттері бар жаңа композицияларды жасау мақсатында жүргізілетін әзірлемелер өзекті болып табылады. Біз топырақ пен ветеринариялық нысандардың беттік өңдеу үшін жаңа «БА-12» дезинфекциялық ветеринариялық құралын әзірлеп, сынақтан өткіздік.

Түйін сөздер: топалаң, зарарсыздандырғыш құралдар, топалаңның топырақтық ошақтары.

V.Y. Sushshikh<sup>1</sup>, L.Y. Lukhnova<sup>2</sup>, B. Kanatov<sup>1</sup>, K. Nurlan<sup>1</sup>, C. Dyusenov<sup>1</sup>, M. Yusupov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>LLP "Kazakh Scientific Research Veterinary Institute" Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan, Almaty, Kazakhstan

<sup>2</sup>National Scientific Center for Especially Dangerous Infections named after Masgut Aikimbayev of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan, Almaty, Kazakhstan

## THE STUDY OF THE PROPERTIES OF THE DISINFECTANT "VA-12", FOR THE USE OF SURFACE TREATMENT OF SOIL, SEEDED WITH ANTHRAX SPORES AND VETERINARY FACILITIES

Abstract. The territory of Kazakhstan is unsuccessful for anthrax, officially registered since 1935, at present

the risk of outbreaks remains. One of the reasons is the presence of territories infected with the causative agent of anthrax, soil foci of anthrax. The current list of disinfectants is limited. Developments carried out with the aim of creating new compositions with sporocidal properties for treating soil seeded with anthrax spores are relevant. We have developed and tested a new BA-12 disinfecting veterinary product for surface treatment of veterinary facilities.

**Keywords:** anthrax, disinfectants, soil foci of anthrax.

Введение. Сибирская язва – особо опасная инфекционная болезнь сельскохозяйственных и диких животных, а также человека, продолжает оставаться серьёзной проблемой для ветеринарии и здравоохранения почти во всем мире. Это связано с тем, что основной естественной средой обитания возбудителя сибирской язвы Bacillus anthracis служит живой теплокровный организм и субстраты окружающей среды, прежде всего, почва. Экономический ущерб при сибирской язве довольно значительный т.к. летальность среди мелкого рогатого скота и лошадей выше 90 %. Одна из причин – наличие зараженных возбудителем сибирской язвы территорий, почвенных очагов сибирской язвы [1, 2]. Болезнетворные микроорганизмы, в частности *В. anthracis*, представляют серьезную угрозу здоровью человека и животных. Несмотря на значительные успехи в области вакцинопрофилактики, изобретения новых антибиотиков, проблема лечения, профилактики и ликвидации сибирской язвы далека до завершения. Применение бактерицидных средств для предупреждения и контроля распространения B. anthracis в окружающей среде в настоящее время является общепринятым. Как известно, дезинфицирующее средство, используемое для деконтаминации загрязненных патогенами объектов, должно отвечать основным требованиям: обладать выраженным биоцидным эффектом; хорошо растворяться, иметь длительные сроки хранения, быть экологически безопасным и др.; не оказывать токсического и аллергизирующего действия на персонал; совместно с используемым оборудованием для дезинфекции иметь экономически оправданную стоимость.

Вопросами поиска и разработки дезинфицирующих препаратов занимаются во всем мире. В настоящее перечень дезинфицирующих средств ограничен. Актуальными являются разработки, проводимые с целью создания новых композиций, обладающих спороцидными свойствами для обработки почвы, обсемененной спорами сибирской язвы. Нами разработано и проведено испытание нового дезинфицирующего ветеринарного средств «ВА-12».

**Материалы и методы.** Работа по испытанию бактерицидных и спороцидных свойств проводилась в соответствии с действующими методиками [3, 4, 5] со штаммами микроорганизмов, полученными из отдела бактериологии ТОО «КазНИВИ».

Для культивирования штаммов был использован агар Хоттингера, бульон Хоттингера (pH - 7,2-7,4) аминный азот 120 мг/мл.

Изучены морфологические, культуральные, биохимические свойства тест-штаммов микроорганизмов ( $Bacillus\ cereus,\ B.\ anthracis\ N ext{$} e$ 

При изучении спороцидной активности дезинфицирующего средства «ВА-12» в качестве тестмикроорганизмов были использованы штаммы (таблица 1):

- 1) Bacillus cereus;
- 2) B. anthracis №55 (вакцинный);

Таблица 1 – Свойства спорообразующих тест штаммов сибирской язвы, используемых для контроля спороцидных свойств дезинфицирующего средства «ВА-12»

IIImov n. u. v	Наличие: капсулы/		Активно	СТЬ	Чувстви-		Поличи
Штаммы	токсина; гены- cap/ pag	«Жемчужное ожерелье»	фосфатазная	лецити- назная	Чувстви- тельность к бактери- офагу	Гемолиз	Наличие спор
B. anthracis №55	-/+	+	-	-	+	-	90 %
B. cereus	-/-	-	+	+	-	+	90 %

Тест-штаммы микроорганизмов *Bac. cereus*, *Bac. anthracis* №55 для получения споровой формы выращены на агаре Хоттингера с аминным азотом 120 мг %, при температуре  $(37 \pm 1)$  °C в течение двух суток в термостате, а затем еще в течение 7-12 суток при температуре  $(20 \pm 1)$  °C. На 9-е и 12-е сутки роста, штаммы были исследованы на интенсивность спорообразования микроскопированием мазка, окрашенным по Граму. Было исследовано 10 полей зрения, количество спор составляет 90 % (таблица 1).

В лабораторных условиях спороцидные свойства «ВА-12» изучали двумя методами: 1) с использованием

батистовых тест-объектов, обсемененных споровыми суспензиями – *Bacillus cereus*, *Bacillus anthracis* № 55, *B. anthracis* Ценковского № 71/12 и погружением их в дезинфицирующий раствор; и 2) в почву.

Для лабораторных и полевых испытаний были использованы стерильные батистовые тест-объекты размером  $2\times2$  см<sup>2</sup>, которые помещали в чашку Петри, заливали приготовленной рабочей суспензией тест - штаммов микроорганизмов  $(2\times10^9)$  спор в 1 мл.

В лабораторных условиях при проведении опытов тест-объекты, контаминированные тест-штаммами микроорганизмов, выдерживали в дезинфицирующем средстве «БА-12». В опытах были использованы различные концентрации рабочих растворов препарата — 0,5 %, 1 %, 3 %, 5 %, 7 %, 10 %, 15 % и 20 % с выдерживанием их при экспозициях: 60 мин, 24 часа, 48 часов, 72 часа и 5 суток. Оценку результатов проводили с использованием контролей. Первый контроль — обсемененные спорами батистовые тест-объекты без выполаскивания в стерильной водопроводной воде, но с экспозицией в дезинфицирующем растворе. Второй контроль — тест-объект, выполасканный в водопроводной воде. Третий контроль — тест-объект без контакта с дезинфицирующим раствором и без выполаскивания.

Опытные и контрольные батистовые тест-объекты помещали в питательный бульон с инкубацией в течение 5 суток при 37 °C, после чего делали высев на плотные питательные среды с последующей инкубацией в течение 5 суток в термостате при 37 °C.

В лабораторных условиях было проведено изучение спороцидных свойств дезинфицирующего средства «БА-12» для обработки почвы, обсемененной спорами сибирской язвы. В пластмассовую емкость помещали батистовые тесты, пропитанные спорообразующими микроорганизмами, на которые помещали разные типы почв. При этом, количество почвы составляло 2,0 кг, а количество опытного дезинфицирующего средства «БА-12» - 700,0 мл (согласно расчету по объему обрабатываемой поверхности), экспозиция 24 часа, 48 часов, 3, 5 и 10 суток. Затем тест-объекты после выполаскивания в водопроводной воде помещали на жидкие и плотные питательные среды с последующей инкубацией в течение 5 суток в термостате при 37 °C. В опыте были использованы разные типы почв (нестерильные чернозем, глина и песок).

Учет результатов проводили визуально и под микроскопом. Отсутствие роста микроорганизмов на питательных средах свидетельствует об эффективности дезинфицирующего средства «БА-12».

Спороцидные свойства препарата были изучены на территории ТОО «Байсерке-Агро», расположенного недалеко от южной столицы Казахстана, г. Алматы. ТОО «Байсерке-Агро» занимается разведением племенного крупного рогатого скотамолочного и мясного, мелкого рогатого скота — овец. Кроме того, имеются лошади чистокровных верховых пород, верблюды. В животноводческом комплексе ТОО «Байсерке-Агро» Алматинской области стойловая технология содержания животных. Изучение дезинфицирующих свойств препарата «БА-12» проводили в помещении животноводческого комплекса ТОО «Байсерке-Агро» для содержания крупного рогатого скота, на площади в 165 м², в отсутствие животных. Перед применением дезинфектанта «БА-12» проводили механическую очистку поверхностей от органических и механических загрязнений.

При помощи гидропульта обрабатывали различные поверхности животноводческого комплекса: пол, стены, окна, кормушки и поилки. До обработки дезинфицирующим средством «БА-12», а затем после, стерильными марлевыми тампонами делали смывы со всех опытных поверхностей.

Смывы высевали на бактериальные питательные среды и инкубировали в термостате при температуре (37  $\pm$  0,5) °C в течение 24 часов. С целью определения видового состава микрофлоры проводили посев материала на бактериальные питательные среды — мясопептонный агар, мясопептонный бульон и мясопептонный печеночный бульон под вазелиновым маслом.

Качество дезинфекции оценивали в сравнительном аспекте, т.е. по выделению изолятов из смывов, сделанных на животноводческом комплексе ТОО «Байсерке-Агро» до и после обработки дезинфицирующим раствором «БА-12». Эксперименты по обеззараживанию объектов проводили трехкратно. Критерием оценки активности дезинфицирующих свойств испытуемого препарата «БА-12» являлось отсутствие роста 99,99 % микроорганизмов на питательных средах.

Основные результаты исследования. Визуальный осмотр внешнего вида, прозрачности дезинфицирующего средства проводили при дневном естественном освещении и комнатной температуре. Дезинфицирующее ветеринарное средство «ВА-12» представляет собой прозрачную жидкость, от бесцветной до темно-желтого цвета, с характерным запахом. Предназначено для проведения профилактической и вынужденной дезинфекции ветеринарных объектов и почвы, состоит из двух растворов, основного и буферного. В состав основного раствора средства входят: дидецилдиметиламмония хлорид (6,83 %), дидецилдиметиламмония бромид (12,5 %), глутаровый альдегид (11,0 %), изопропиловый спирт (40,5 %) и вода очищенная (до 100 %). В состав буферного раствора входит - карбамид (50 %), изопропиловый спирт (6,5 %) и вода очищенная (до 100 %). Для приготовления концентрированного раствора дезинфицирующего ветеринарного средства «ВА-12» необходимо 1 (один) литр буферного раствора внести в 8 литров воды, после тщательного перемешивания добавить 1 (один) литр основного раствора «БА-12» и еще раз все тщательно перемешать. Возможно выпадение осадка. Из концентрированного раствора дезинфицирующего ветеринарного средства «БА-12» готовили рабочие растворы согласно таблицы 1.

Приготовление рабочих растворов дезинфицирующего ветеринарного средства «БА-12» проводили согласно, таблицы 2.

Таблица 2 – Приготовление рабочих растворов дезинфицирующего ветеринарного средства «БА-12»

Приготовление рабочих растворов дезинфицирующее ветеринарное средство «БА-12»									
Концентрация раствора	Н	на 1 л раствора			на 10 л раствора				
(по препарату в %)	Количество основного «БА-12» (мл)	сновного «БА- буферного Вода		Количество основного «БА-12» (мл)	Количество буферного «БА-12» (мл)	Вода (мл)			
5	50	50	900	500	500	9000			
7	70	70	860	700	700	8600			
10	100	100	800	1000	1000	8000			
20	200	200	600	2000	2000	6000			

Изучение спороцидной активности препарата «ВА-12» в лабораторных условиях (первый способ) на батистовых тестах показало, что эффективность данного раствора отмечается в 5 %, 7 %, 10 %, 15 % и 20 % концентрациях и экспозиции 60 минут, и, более. Препарат в 1 % и 3 % концентрации не подавляет рост тест-культур (таблица 3).

Таблица 3 – Результаты лабораторного изучения спороцидной активности дезинфицирующего средства «БА-12» на батистовых тестах

	Вид микроорганизма							
Конц. раствора	B. anthracis Ценковкого71/12, B. cereus, B. anthracis № 55							
«БА-12» (%)		Время выдержки в термостате при t – 37,5 °C						
	60 мин	24 часа	енковкого71/12, <i>B. cereus</i> , <i>B. anthracis</i>	5 сут				
1 %	+	+	+	+	+			
3 %	+	+	+	+	+			
5 %	_	_	_	_	_			
7 %	_	_	_	_	_			
10 %	_	_	_	_	_			
15 %	_	_	_	_	_			
20 %	_	_	_	_	_			
Контроль NaOH(10 %)	_	_	_	_	_			

Примечания

Изучение спороцидной активности «БА-12» при обеззараживании почвы в лабораторных условиях (второй способ) с использованием различных типов почвы (нестерильные чернозем, глина и песок) представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты изучения спороцидной активности ДС «ВА-12» в лабораторных условиях на различных типах почв

	Вид микроорганизма									
Концентрация раствора	B. anthracis Ценковкого71/12, B. cereus, B. anthracis № 55									
«БА-12» (%)		Время выдержк	и в термостате і	при t − 37,5 °C						
(D) 1-12// (70)	24 часа	48 часа	72 часа	5 сут	10 сут					
	Тип почвы – чернозем (не стерильный)									
5 %	+	+	+ 1	+	+					
7 %	_	_	_	_	_					
10 %	_	_	_	_	_					
15 %	_	_	_	_	_					
20 %	_	_	_	_	_					
Контроль NaOH (10 %)	_	_	_	_	_					
	Тип почвы – глина (не стерильная)									
5 %	+	+	+	+	+					
7 %	_	_	_	_	_					

<sup>+ -</sup> рост культуры микроорганизма

<sup>- -</sup> отсутствие роста культуры микроорганизма

10 %	_	_	_	_	_			
15 %	_	_	_	_	_			
Контроль NaOH (10 % )	_	_	_	_	_			
Тип почвы – песок (не стерильный)								
5 %	+	+	+	+	+			
7 %	_	_	_	_	_			
10%	_	_	_	_	_			
15 %	_	_	_	_	_			
Контроль NaOH (10 %)	_	_	_	_	_			
Применание	-		-					

Примечание

- + рост культуры микроорганизма
- - отсутствие роста культуры микроорганизма

Из данных таблицы 4 следует, что эффективность данного раствора отмечается в 7 %, 10 %, 15 % и 20 % концентрации и экспозиции 60 минут, и, более. Препарат в 5 % концентрации не подавляет рост споровых тест-культур.

Результаты испытания дезинфицирующего средства на животноводческом комплексе ТОО «Байсерке-Агро» до обработки дезинфицирующим раствором «БА-12» показали, что отмечалась высокая обсемененность животноводческих объектов микроорганизмами. Результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Результаты исследования смывов на объектах животноводческого комплекса ТОО «Байсерке-Агро» до обработки дезинфицирующего средства «БА-12»

Места смывов	Рост микроорганизмов (родовое название)							
MICCIA CMBIBOB	Staphylococcus	Ŝtreptococcus	Escherichia	Bacillus				
Перегородка	+	+	+	_				
Дверь	+	+	+	_				
Пол	+	+	+	+				
Стены	+	+	+	_				
Поилка	+	+	+	_				
Кормушка	+	+	+	_				

Определение микроорганизмов проводили до рода. В смывах с пола были животноводческого комплекса выделены спорообразующие изоляты рода *Bacillus*, с других объектов помещения были выделены вегетативные формы микроорганизмов *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Escherichia*.

Исследования показали, что при использовании раствора «ВА-12» в концентрации 0,5 % и максимальной экспозиции действия раствора, т.е. 180 минут, отмечен рост микроорганизмов из образцов, полученных из смывов поверхности пола, кормушек и поилок. При увеличении концентрации растворов от 1,0 % до 10,0 %, 20 % рост культур на всех исследуемых поверхностях отсутствовал, при экспозиции от 60 минут и выше (таблица 6).

Таблица 6 – Результаты исследования смывов на объектах животноводческого комплекса ТОО «Байсерке-Агро» после обработки дезинфицирующим средством «БА-12»

Маста откупал		Концентрация дезинфицирующего средства «ВА-12»							
Места смывов	0,5	Концентрация дезинфицирующего средства «Подобра предста предс	10	20					
Перегородка	+	_	_	_	_	_			
Дверь	+	_	_	_	_	_			
Пол	+	+	+	+	_	_			
Стены	+	_	_	_	_	_			
Поилка	+	_	_	_	_	_			
Кормушка	+	_	_	_	_	_			

**Обсуждение.** Впервые проведены комиссионные испытания дезинфицирующего средства «ВА-12» в лабораторных условиях в областях Казахстана на разных типах почвы. Результаты опытов показали, что новый дезинфицирующий раствор «ВА-12» обладает спороцидными свойствами и может быть использован для поверхностного обеззараживания почвенных очагов сибирской язвы.

Дезинфицирующее ветеринарное средство «БА-12» обладает высокой антимикробной активностью - бактерицидными, спороцидными свойствами при обеззараживании ветеринарных объектов, обсемененных вегетативными и споровыми формами микроорганизмов. Испытание дезинфицирующего ветеринарного средства «ВА-12» при обеззараживании ветеринарных объектов, показало, что препарат можно использовать

для проведения профилактической и вынужденной дезинфекции ветеринарных объектов, обсемененных вегетативными и споровыми формами микроорганизмов.

Заключение. Дезинфицирующее средство «БА-12», испытанное в лабораторных и полевых исследованиях обладает спороцидными свойствами, в концентрациях 10-20 %, в объеме не менее 10,0 л на 1 м³ может быть использовано для обработки почвы и уничтожения спорообразующих микроорганизмов, включая споры сибирской язвы. Препарат проходит дальнейшие испытания для последующей регистрации в Республике Казахстан.

В результате опытов установлено, что дезинфицирующее средство «БА-12» в 1,0-20,0 % концентрациях при норме расхода  $0,5\,\,\mathrm{n/m^2}$  и экспозиции  $60\,$  минут на всех поверхностях животноводческого помещения обладает выраженной дезинфицирующей активностью. На основании проведенных испытаний можно рекомендовать применение дезинфицирующего средства «БА-12» для проведения профилактической и вынужденной (текущей и заключительной) дезинфекции объектов ветеринарного надзора, обсемененные споро- и не спорообразующими микроорганизмами.

Таким образом, результаты экспериментов показали, что ДС «БА-12» обладает спороцидными свойствами и, согласно инструкции № 0001-06/13-В по применению может быть использовано для целей дезинфекции объектов ветеринарного надзора.

#### ЛИТЕРАТУРА

- 1 Кадастр почвенных очагов сибирской язвы на территории Республики Казахстан. Алматы, 2017. 263 с
- 2 Лухнова Л.Ю., Избанова У.А., Мека-Меченко Т.В., Некрасова Л.Е., Атшабар Б.Б., Казаков В.С., Сущих В.Ю., Оспанова Г.М. Сибирская язва в 2016 году в Казахстане // «Медицина». Алматы, 2017. №5/179. С. 56-62.
- 3 Приказ «Об усилении мер профилактики по сибирской язве в Республике Казахстан». № 725/575. Астана, 2004. 25 с.
- 4 Методические указания по проведению лабораторных предрегистрационных испытаний средств дезинфекции, предстерилизационной очистки, стерилизации и антисептиков. № 133 от 04.09.2008 г. Астана, 2008.
- 5 Методы лабораторных исследований и испытаний дезинфекционных средств для их оценки, эффективности и безопасности. Руководство Р 4.2.2643-10. Дата введения: 2 июня 2010 года. Москва, 2010.

### УДК 619:616-097/637:981.42:632.2 (575.3)

#### Р.М. Шарипов<sup>1</sup>, Ш.А. Барамова<sup>2</sup>, Д.М. Мирзоев<sup>3</sup>, Х.И. Раджабов<sup>4</sup>, Р.А. Атовуллозода<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Институт ветеринарии Таджикской академии сельскохозяйственных наук,

Душанбе, Республика Таджикистан

<sup>2</sup>Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт, Алматы, Казахстан <sup>3</sup>Таджикский аграрный университет имени Шириншох Шотемур,

Душанбе, Республика Таджикистан

<sup>4</sup>Институт ветеринарии Таджикской академии сельскохозяйственных наук, Душанбе, Республика Таджикистан

душаное, Респуолика таджикистан <sup>5</sup>Институт ветеринарии Таджикской академии сельскохозяйственных наук,

-институт ветеринарии таджикской академий сельскохозяйственных наук, Душанбе, Республика Таджикистан

rustamvet@mail.ru; mirzoev.d.m@mail.ru; rajabov.h 1971@mail.ru, rajabmurod69@mail.ru

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЕДИНОГО ЦВЕТНОГО АНТИГЕНА КАЗАХСКОГО НИВИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ БРУЦЕЛЛЁЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА МЕТОДОМ КОЛЬЦЕВОЙ РЕАКЦИИ С МОЛОКОМ В РЕСПУБЛИКЕ ТАДЖИКИСТАН

Аннотация. В статье приведены результаты оценки Единого цветного антигена «КазНИВИ» по сравнению с другими коммерческими диагностикумами, использующимися по традиционному методу кольцевой реакции с молоком. Испытания свидетельствуют о его высокой чувствительности, что подтверждено большим числом проб, выявленных с его помощью от больных бруцеллёзом коров. Кроме того, данный антиген, позволяет исследовать не только свежее, но и прокисшее молоко, т.е. сыворотку в полевых и лабораторных условиях в ПРА. Этот признак является одним из достоинств препарата, так как доставляемое на исследование молоко из хозяйств часто прокисает из-за длительности и отсутствия условий транспортировки. В таких случаях в качестве диагностикума может быть использован предлагаемый Единый цветной антиген КазНИВИ.

35

**Ключевые слова:** бруцеллёз, крупный рогатый скот, Единый цветной антиген, молоко, кольцевая реакция, полевые условия.

### Р.М. Шарипов<sup>1</sup>, Ш.А. Барамова<sup>2</sup>, Д.М. Мирзоев<sup>3</sup>, Х.И. Раджабов<sup>4</sup>, Р.А. Атовуллозода<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Тәжік ауыл шаруашылығы ғылым академиясының Ветеринарии институты, Душанбе, Тәжікстан Республикасы

<sup>2</sup> Қазақ ғылыми-зерттеу ветеринария институты, Алматы, Қазақстан

<sup>3</sup> Шириншох Шотемур атындағы Тәжік аграрлық университеті, Душанбе, Тәжікстан Республикасы

<sup>4</sup> Тәжік ауыл шаруашылығы ғылым академиясының Ветеринарии институты, Душанбе, Тәжікстан Республикасы

<sup>5</sup> Тәжік ауыл шаруашылығы ғылым академиясының Ветеринарии институты, Душанбе, Тәжікстан Республикасы

### ТӘЖІКСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНДА СҮТПЕН САҚИНАЛЫ РЕАКЦИЯСЫ ӘДІСІМЕН ІРІ ҚАРА МАЛДЫҢ БРУЦЕЛЛЕЗІН БАЛАУ ҮШІН ҚАЗАҚ ҒЗВИ БІРЫҢҒАЙ ТҮСТІ АНТИГЕНІН ПАЙДАЛАНУ НӘТИЖЕЛЕРІ

Аннотация. Мақалада сүтпен сақиналы реакциясы дәстүрлі әдісі бойынша қолданылатын басқа коммерциялық диагностикумдармен салыстырғанда «ҚазҒЗВИ» бірыңғай түсті антигенін бағалау нәтижелері келтірілген. Сынаулар оның жоғары сезімталдығын көрсетеді, бұл бруцеллезбен ауыратын сиырлардан оның көмегімен анықталған сынамалар санының көптігімен расталды. Сонымен қатар, бұл антиген тек балғын ғана емес, сонымен қатар қышқыл сүтті, яғни дала және зертханалық жағдайларда сарысуды зерттеуге мүмкіндік береді. Бұл сипаты препараттың артықшылықтарының бірі болып табылады, өйткені шаруашылықтардан зерттеуге жеткізілетін сүт тасымалдау шарттарының ұзақтығына және болмауына байланысты жиі ашып кетеді. Мұндай жағдайларда диагностикум ретінде ҚазҒЗВИ ұсынылған бірыңғай түсті антигенін пайдалануға болады.

Түйін сөздер: бруцеллёз, мүйізді ірі қара, бірыңғай түсті антиген, сүт, сақиналы реакция, дала жағдайында.

### R.M. Sharipov<sup>1</sup>, Sh.A. Baramova<sup>2</sup>, D.M. Mirsoev<sup>3</sup>, H.I. Rajabov<sup>4</sup>, R. Atovullozoda<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Veterinary Institute of Tajik Academy of Agricultural Sciences, Dushanbe, the Republic of Tajikistan

<sup>2</sup>Kazakh Scientific-Research Veterinary Institute, Almaty, Kazkhstan

<sup>3</sup>Tajik Agrarian University named after Shirinshoh Shotemur, Dushanbe the Republic of Tajikistan <sup>4</sup>Veterinary

Institute of Tajik Academy of Agricultural Sciences, Dushanbe, the Republic of Tajikistan

<sup>5</sup>Veterinary Institute of Tajik Academy of Agricultural Sciences, Dushanbe, the Republic of Tajikistan

## RESULTS OF THE USE OF THE SINGLE COLOR ANTIGEN "KAZNIVI" FOR DIAGNOSTIC OF BRUCELLOSIS OF CATTLE BY THE METHOD OF THE RING REACTION WITH MILK IN THE REPUBLIC OF TAJIKISTAN

**Abstract.** The article presents the results of the estimation of the "KazNIVI" Single Color Antigen in comparison with other commercial diagnosticums using the traditional method of ring reaction with milk. Tests indicate its high sensitivity, which is confirmed by the large number of samples identified with it from cows diseased with brucellosis. In addition, this antigen allows investigate not only fresh, but also sour milk, i.e. whey in the field and laboratory conditions in direct agglutination reaction. This feature is one of the advantages of the antigen, since the milk delivered to the investigation from farms often turns sour due to the duration and lack of transportation conditions. In such cases, the proposed single color antigen "KazNIVI" can be used as a diagnosticum.

**Keywords:** brucellosis, cattle, single color antigen, milk, ring reaction, field conditions.

**Введение.** Одним из основных составляющих оздоровительных противобруцеллезных мероприятий, наравне с применением средств специфической профилактики, является своевременная диагностика заболевания животных, результаты которой зависят, в первую очередь, от чувствительности и специфичности используемых диагностических препаратов [1, 2]. В этой связи, качество и биологические характеристики диагностикумов должны отвечать международным стандартным требованиям [3, 4].

Цель наших исследований заключалась в определении диагностической ценности нескольких коммерческих антигенов, используемых при исследовании молока коров в кольцевой реакции (КР), в т.ч.: антигена английского производства "Standardized Brucell Milk Ring Test Antigen» (Антиген № 1); цветного антигена НПО "Antigen» (РК) (Антиген № 2), официально применяемого в Республиканской диагностической ветеринарной лаборатории (г. Душанбе); цветного антигена КазНИВИ, используемого

только для исследования молока (Антиген № 3) и Единого цветного антигена КазНИВИ, предназначенного для применения сразу в нескольких диагностических тестах – в РА, ПРА/РБП, РСК/РДСК и КР с молоком (Антиген № 4).

**Материалы и методы исследований.** Испытание эффективности приведённых диагностикумов проводилось путём исследования 131 пробы в кольцевой реакции с молоком крупного рогатого скота, доставленных в Институт ветеринарии из Пенджикентского района Согдийской области, Дангаринского и Фархорского районов Хатлонской области.

Постановку КР проб молока проводили по общепринятой методике с параллельным исследованием контрольных проб свежего молока от здоровых коров с добавленными в них позитивными (положительными) и негативными (отрицательными) сыворотками крови.

Основные результаты исследований. Результаты проведённых исследований отражены в таблице.

Таблица – Эффективность диагностикумов различных производителей при постановке кольцевой реакции с молоком

	число проб	Использованные при постановке КР диагностикумы										
Наименование районов		Антиген №1 "Standardized Brucell Milk Ring Test Antigen»		Антиген №2 Цветной антиген НПО "Antigen» (РК)		Антиген №3 Цветной антиген КазНИВИ		Антиген №4 Единый цветной антиген КазНИВИ				
Har J	Ч.			Пози	тивные	показания КР с	молоком	[				
		Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%	Абс. число	%			
Фархорский	58	3	5	4	6,9	6	10,3	6	10,3			
Дангаринский	45	2	4,5	3	6,6	4	8,9	4	8,9			
Пенджикентский	28	1	3,5	2	7,0	3	10,7	3	10,7			
Итого:	131	6	4,6	9	6,9	13	10,0	13	10,0			

Как видно, наименьшим уровнем чувствительности при исследовании молока животных в КР обладал Антиген № 1, который обнаружил только 6 коров, положительно реагирующих на бруцеллёз среди 131 обследованных животных, что составило 4,6 %. Значительно выше оказалась эффективность Антигена №2, с которым положительно реагировало 9 проб молока (6,9 %) животных. Наибольшее число животных реагировало положительно в кольцевой реакции с молоком с Антигенами № 3 и № 4, произведённых в ТОО «Казахский НИВИ». При учёте результатов КР с помощью антигенов КазНИВИ были выявлены положительные реакции в 13 пробах из 131, что составило 10 %. При этом результаты КР с данными антигенами при исследовании молока коров совпадали в 100 % случаях. Все четыре опытных антигена оказались специфичными, что подтверждается результатами исследований контрольных проб молока.

Обсуждение полученных данных. Таким образом, разработанные в Казахском НИВИ цветные антигены № 3 и 4 показали наиболее высокую эффективность при исследовании молока коров в сравнении с двумя другими коммерческими диагностикумами. Как видно, Антиген №3 и Антиген №4 обладают одинаковой чувствительностью, так как обнаруживали идентичное количество положительно реагирующих на бруцеллёз животных. Однако, Антиген №3 может применяться только для исследования молока коров. Антиген №4 обладает преимуществом, заключающемся в том, что может одновременно использоваться как для исследования молока в КР, так и в ПРА/РБП, РА, РСК/РДСК для исследования сывороток крови. Кроме того, в отличие от других коммерческих антигенов для КР он позволяет исследовать не только свежее, но и прокисшее молоко, т.е. сыворотку молока и в полевых и лабораторных условиях в ПРА. Возможность исследования сывороток молока с помощью Антигена №4 свидетельствует о существенной значимости данного препарата для лабораторной практики, так как доставляемые для исследования пробы молока из хозяйств часто прокисают из-за длительности и отсутствия условий транспортировки. В таких случаях может быть использован предлагаемый КазНИВИ диагностикум Антиген №4 – Единый цветной антиген КазНИВИ для ПРА/РБП, РА, РСК/РДСК и КР с молоком.

Проанализировав результаты серологических исследований молока коров в КР с применением четырёх различных диагностикумов, сотрудники Института ветеринарии ТАСХН пришли к заключению, что Единый цветной антиген КазНИВИ для ПРА/РБП, РА, РСК/РДСК и КР с молоком, разработанный в ТОО «КазНИВИ» МСХ РК обладает следующими преимущественными признаками:

- обладает более высокой чувствительностью, чем известные коммерческие антигены, что подтверждено большим числом выявленных с его помощью проб молока от больных бруцеллёзом животных по сравнению с другими, аналогичными диагностикумами;
  - единый цветной антиген КазНИВИ может успешно применяться, как в лабораторных, так и в полевых

условиях для исследования индивидуальных или сборных проб свежего молока животных в КР, а также сыворотки молока в ПРА, в качестве эффективного экспресс-диагностикума с целью предварительного определения эпизоотического состояния стада животных по бруцеллёзу.

Заключение. Результаты испытаний различных коммерческих антигенов в кольцевой реакции с молоком, проведённых в Институте ветеринарии ТАСХН при исследовании проб молока крупного рогатого скота, привезённых из трёх районов республики, подтвердили высокую диагностическую ценность, разработанного в ТОО «КазНИВИ» Единого цветного антигена, что позволяет рекомендовать его при обследовании животных на бруцеллёз в ветеринарной лабораторной практике.

Разработанный препарат обладает высокой чувствительностью и специфичностью и может использоваться непосредственно в полевых условиях хозяйств.

Использование Единого цветного антигена, разработанного в КазНИВИ, позволяет за короткий срок поставить диагноз на бруцеллёз, значительно сокращая время, затрачиваемое в настоящее время с помощью официально регламентированных диагностических тестов.

#### ЛИТЕРАТУРА

- 1 Alton G.G., Corner L.A., Plackett R.L. The vole of the differential complement fixation test, using rough and smooth brucella antigens, in the anamnestic test // Austr. Vet. J. 1983. Vol. 60. P. 4-6.
- 2 Григорьева Г.И., Сочнев В.В., Бацанов Н.П., Филиппов Н.В. Бруцеллы и бруцеллёз // Микробиология, иммунология и биотехнология. Н. Новгород, 1998. 245 с.
- 3 Баташев В.В. Эпидемиологическая характеристика бруцеллёза в современных условиях ведения животноводства (на примере очагов Ростовской области): автореф. дисс... канд. мед. наук. Ростов-на-Дону, 1995. 20 с.
- 4 Желудков М.М. Бруцеллёз в России: современная эпидемиология и лабораторная диагностика: автореф. дис... док. мед. Москва, 2009. С 28-31.

### МЕДИЦИНА

УДК 614:446.9

# Б.К. Салканова, Л.В. Маслова, Г.К. Досумова, Ж.К. Пралиева, Б.М. Мейрманова, А.К. Жакина, Н.Н. Илюбаева, А.Ж. Шажалиева, К.И. Рапш, А.М. Беркинбаева, А.А. Борисов, Д.С. Дагысов, Д.Ж. Мубараков

РГУ «Департамент контроля качества и безопасности товаров и услуг Акмолинской области комитета контроля качества и безопасности товаров и услуг МЗ РК», Кокшетау, Казахстан ГКП на ПХВ Акмолинский областной центр по профилактике и борьбе со СПИД, Кокшетау, Казахстан

РГУ «Департамент контроля качества и безопасности товаров и услуг Костанайской области комитета контроля качества и безопасности товаров и услуг МЗ РК», Костанай, Казахстан РГУ «Департамент контроля качества и безопасности товаров и услуг города Нур-Султан комитета контроля качества и безопасности товаров и услуг МЗ РК», Нур-Султан, Казахстан ГКП на ПХВ «Многопрофильная областная больница №2», Нур-Султан, Казахстан ГКП на ПХВ «Шортандинская районная больница» при управлении здравоохранения Акмолинской

КГУ имени Шокана Уалиханова, Кокшетау, Казахстан bolganum.s@mail.ru

области

# МОНИТОРИНГ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ COVID-19 СРЕДИ ПЕРСОНАЛА МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЙ И ГОССЛУЖАЩИХ АКМОЛИНСКОЙ ОБЛАСТИ РК ЗА ПЕРИОД С 12 МАРТА ПО 22 ИЮНЯ 2020 ГОДА

**Аннотация.** Целью статьи является анализ ИСМП среди персонала медицинских организаций и госслужащих Акмолинской области РК за период с 12 марта по 22 июня 2020 года, с положительным результатом COVID-19, регистрация, учёт, свод данных, анализ, освещение проблемных вопросов в эпиднадзоре за профпатологией в медорганизациях РК.

**Ключевые слова:** заболеваемость, случай, ИСМП/ВБИ,СОVID-19, эпидситуация, противоэпидемические мероприятия, медработники.

## Б.К.Салканова, Л.В. Маслова, Г.К. Досумова, Ж.К. Пралиева, Б.М. Мейрманова, А.К. Жакина, Н.Н. Илюбаева, А.Ж. Шажалиева, К.И. Рапш, А.М. Беркинбаева,

### А.А. Борисов, Д.С. Дагысов, Д.Ж. Мубараков

«Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігі тауарлар мен қызметтердің сапасын бақылау комитетінің Ақмола облысы бойынша тауарлар мен қызметтердің сапасы мен қауіпсіздігін бақылау бөлімі» РМУ, Көкшетау, Қазақстан

Акмола облысының ЖИТС орталығы, Көкшетау, Қазақстан

«Қазақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігі Тауарлар мен қызметтердің сапасын бақылау комитетінің Қостанай облысы бойынша тауарлар мен қызметтердің сапасы мен қауіпсіздігін бақылау департаменті» РМУ, Костанай, Казакстан

«Казақстан Республикасы Денсаулық сақтау министрлігі Тауарлар мен қызметтердің сапасын бақылау комитеті Нұр Сұлтан қаласының тауарлар мен қызметтердің сапасы мен қауіпсіздігін бақылау бөлімі» РМУ, Нұр-Сұлтан, Қазақстан

«№ 2 көпсалалы облыстық аурухана» БММК-дағы ГКП, Қазақстан, Нұр-Сұлтан Ақмола облысының денсаулық сақтау басқармасы жанындағы «Шортанды аудандық ауруханасы» Шоқан Уәлиханов атындағы КМУ, Көкшетау, Қазақстан

### 2020 ЖЫЛЛЫН НАУРЫЗ АЙЫНЫН 12 МЕН МАУСЫМ АЙЫНЫН 22 АРАЛЫҒЫНДА АКМОЛА ОБЛЫСЫНЫҢ МЕМЛЕКЕТТІК ҚЫЗМЕТКЕРЛЕРІ ЖӘНЕ МЕДИЦИНАЛЫК ҰЙЫМДАРЫ ҚЫЗМЕТКЕРЛЕРІНІҢ АРАСЫНДА **COVID-19 АУРУЫМЕН АУЫРҒАНДАР МОНИТОРИНГІ**

Аннотация. Мақаланың мақсаты – ҚР Ақмола облысының медициналық ұйымдардың қызметкерлері мен мемлекеттік қызметшілері арасындағы AIPS-ті 2020 жылдың 12 наурызынан 22 маусымына дейінгі аралықта, COVID -19 оң нәтижесімен, тіркеу, есепке алу, деректерді жинақтау, талдау, медициналық ұйымдардағы кәсіптік патологияны бақылаудағы проблемалық мәселелерді қамту.

Туйін сөздер: aypy, aypy, AIPS/VBI, COVID-19, эпидемиологиялық жағдай, эпидемияға қарсы шаралар, медицина қызметкерлері.

### B.K.Salkanova, L.V.Maslova, G.K.Dosumova, Zh.K.Pralieva, B.M. Meyrmanova, A.K.Zhakina, N.N.Ilyubaeva, A.Zh.Shazhalieva, K.I.Rapsh, A.M.Berkinbaeva, A.A.Borisov, D.S.Dagvsov, D.Zh. Mubarakov

RSI «Department for quality control and safety of goods and services of Akmola region of the Committee for quality control and safety of goods and services of the Ministry of health of the Republic of Kazakhstan», Kokshetau, Kazakhstan

RSE at the PHV «Akmola regional center for the prevention and control of AIDS», Kokshetau, Kazakhstan RSI"Department for quality control and safety of goods and services of Kostanay region of the Committee for quality control and safety of goods and services of the Ministry of health of the Republic of Kazakhstan", Kostanay, Kazakhstan

RSI"Department for quality control and safety of goods and services of the city of Nur-Sultan of the Committee for quality control and safety of goods and services of the Ministry of health of the Republic of Kazakhstan", Nur-Sultan, Kazakhstan

RSE at the PHV "Multi-field regional hospital No. 2", Nur-Sultan, Kazakhstan RSEatthePHV "Shortandyregionalhospital" under the health Department of Akmola region Sh.UalikhanovKokshetauStateUniversity, Kokshetau, Kazakhstan

### MONITORING OF THE INCIDENCE OF COVID-19 AMONG THE STAFF OF MEDICAL INSTITUTIONS AND CIVIL SERVANTS OF AKMOLA REGION OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN FOR THE PERIOD FROM MARCH 12 TO JUNE 22, 2020

**Abstract.** The purpose of the article is to analyse HAIsamong the staff of medical institutions and civil servants in Akmola region of Kazakhstan for the period fromMarch, 12 to June, 22, 2020, with a positive test result for COVID-19; to register; to account; to collect data; to analyze; and to cover problematic issues in the surveillance of occupational diseases in the healthcare organizations of Kazakhstan.

**Keywords:** incidence, case, HAIs/HAI, COVID-19, epidemiological situation, preventive measures, health care workers.

Введение. За 5 месяцев 2020 года зарегистрировано 28 случаев (сл) ИСМП (показатель 1,23 на 1000 госпитализированных), что в 1,96 раз ниже показателя 2019 года за анализируемый период (показатель 0,69 на 1000 госпитализированных). Зарегистрировано 22727 госпитализированных, на 561658 случаев ниже аналогичного периода 2019 г. - 78892, в 1,97 раз выше. Имеется тенденция к незначительному снижению токсико-септических заболеваний у новорожденных, родильниц в 2020 году − 5 случаев, из них 3 случая - в организациях родовспоможения и детства − 60 %, 2 постинъекционных осложнения (1 пациент получил инъекцию в СКО, второй - в ГБ №1 г.Нур-Султан). В 2019 году − 8 случаев ГСИ (1 сл. - осложнение, связанное с послеродовым периодом «Нагноившаяся послеоперационная рана, состояние после кесарева сечения, поздний послеродовый период»; «Флегмона послеоперационной раны» - 1 сл., сепсис новорожденного − 1 сл., СДР, неонатальная инфекция, специфичная для перинатального периода − 2 сл., пузырчатка − 3 сл., в 2018 году - 2 эндометрита; в 2017 году − 3 сл. (2 эндометрита и 1 сепсис), что превысило в 4 раза показатели 2019 года.

Имеется фон высокого риска ВУИ в стационарах родовспоможения: за 5 месяцев 2020 года – 55 сл. ВУИ, в 2,1 раз ниже аналогичного периода 2019 года – 118 сл. (в 2018 году - 109 сл., в 2017 году - 109 сл.).

За 5месяцев 2020 года - 2576 родов (на 1904 меньше 2019 г. - 4480 родов), из которых - 674 «Кесарево сечение» (меньше на 456 операций, в 2019 г. - 1060) приходится 2577 (на больше) родившихся живыми - 4449.

За 5 месяцев 2020 года проведено 2646 операций, в раз ниже уровня 2019 г. (на 9285 меньше 2019 г. - 11931), преобладают операции по экстренным показаниям - 2013 (влияние периода ЧС, отмена плановых операций, влияние на общее количество операций в 2020 г.), в 2019 г. преобладали плановые операции - 7142.

Таблица 1- Распределение по месяцам 28 случаев ИСМП за 2020 год по Акмолинской области

		Кол-	Количество случаев	Информации,	Общее			
			заболеваемости	предоставленные	кол-во	Отчёт АСУ		
№п/п	Месяцы	во сл. заб.	по экстренным	по случаям, без	сл (в	ВБИ	Разница	Рост/
JN211/11	инссяцы	по	извещения,	экстренного извещения	журна-	С	газница	сниж.)
			предоставленным	изОЗ, госорганов и	ле и	нарастанием		
	жур.		нарочно	нарочно прочих структур нароч)				
1	январь	0	0	1 (посредством ИПГО)	0	1	-	-
2	февраль	0	0	14(посредством ИПГО)	0	14	-	13
3	март	0	0	16 (посредством ИПГО)	0	16	-	2
4	апрель	0	9	9 (посредством ИПГО)	9	25	-	9
5	май	0	0	3(посредством ИПГО)	0	28	-	3
И	Ітого	0	9	28(посредством ИПГО)	9	28	-	-

Таблица 2 – Распределение 28 случаев ИСМП по нозологиям за 2020 год по Акмоле

<b>№</b> п/п	Диагноз	Кол-во сл.	Примечание
1	Послеоперационный период 6 сутки. Инфильтрат послеоперационного шва на передней брюшной стенке. Состояние после кесарева сечения, ампутация матки без придатков. Истинное приращение плаценты. Кровотечение. Рубец на матке после 3 операций. Кесарево сечение. Гемотрансфузия.	1	АО ННМЦД г.Нур-Султан
2	Корь	1	МОДБ, г.Кокшетау
3-9	Корь	7	МОДБ, г.Кокшетау
10	Постинъекционный абсцесс	1	СКО, Тайыншинский район, село Кирова
11-12	Везикулопустулёз	2	Степногорская МГБ
13-14	Пневмония	2	Степногорская МГБ
15	Постинъекционный абсцесс	1	Стацлечение в урологическом отделении ГБ №1 города Нур- Султан
16	Пневмония	1	Степногорская МГБ
17	Пневмония	1	Степногорская МГБ
18-28	Положительный результат при обследовании на COVID-19	11	В т.ч. 1 - сл летальным исходом (МОБ №2 - 8 сл., МОБ – 1 сл., Аккольская РБ – 2 сл
25	Итого	28	

В 2020 году зарегистрировано 12 сл. ИСМП среди сотрудников ЛПУ 11 сл. - медработники, в т.ч. МОБ - 1 сл., МОБ №2 - 8 сл, Аккольская РБ – 2 сл., 1 водитель МОБ №2 - 1 сл., медработник МСУ «Жануя» Целиноградского района - 1 сл.

**Материалы исследований.** Случаи инфицирования среди населения COVID-19.

**Методы исследований.** Метод описательной эпидемиологии, метод ретроспективного анализа, скрининг. **Полученные результаты исследований.** Укомплектованность кадрами: в регионе потребность в госпитальных эпидемиологах - 21,5 ставки, занято - 13 ставок, укомплектованность составила - 60,47 %; потребность в медсёстрах инфекционного контроля - 26,25 ставок, занято - 20,5 ставок, что составляет

- 78.10 %.

Распределение 11 сл. персонала МО с положительным результатом на COVID-19

- 1 сл. Д., 23 января 1961 года рождения, 59 лет, г.Нур-Султан, санитарка приёмного покоя ГКП на ПХВ «МОБ №2», протокол № 853;
- 2 сл. Н., 02 июля 1999 года рождения, 20 лет, г.Нур-Султан,медсестра приёмного покоя ГКП на ПХВ «МОБ №2», протокол № 8535;
- 3 сл. 3., 20 января 1967 года рождения, 53 года, г.Нур-Султан, медсестра хирургического отделения ГКП на ПХВ «МОБ №2», протокол № 8558;
- 4 сл. Т., 28 января 1987 года рождения, 33 года, г.Нур-Султан, медсестра ОАРИТ ГКП на ПХВ «МОБ №2», протокол № 899;
- 5 сл. Ж., 10 июля 1994 года рождения, 25 лет, г.Нур-Султан, медсестра ОАРИТ ГКП на ПХВ «МОБ №2», протокол № 892;
- 6 сл. И., 27 марта 1993 года рождения, 27 лет, г.Нур-Султан, лаборант КТ ГКП на ПХВ «МОБ №2», протокол № 34;
  - 7 сл. Ж., 01 марта 1984 года рождения, 36 лет, водитель ГКП на ПХВ «МОБ №2», протокол № 859;
- 8 сл. С., 23 сентября 1968 года рождения, 51 год, л/с от медсестра инсультного отделения ГКП на ПХВ «МОБ №2»; согласно приказа № 17 марта 2020 года медсестра провизорного отделения ГКП на ПХВ «МОБ №2»; г.Нур Султан; протокол № 12906 от 28 апреля 2020 года;
- 9 сл. Е., 1962 года рождения, 58 лет, город Акколь Аккольского района, медсестра провизорного отделения ГКП на ПХВ «Аккольская районная больница»; протокол № от 28 апреля 2020 года;
- 10 сл. С., 04 сентября 1976 года рождения, 43 года, город Акколь Аккольского района, медсестра провизорного отделения ГКП на ПХВ «Аккольская районная больница»; протокол № от 07 мая 2020 года;
- 11 сл. Р., 28 апреля 1962 года рождения, 57 лет, город Кокшетау, санитарка кожно-венерологического диспансера ГКП на ПХВ «Многопрофильная областная больница»; протокол № от 01 апреля 2020 года.

1 сл. персонала МСУ с положительным результатом на COVID-19

1 сл. - А., 14 декабря 1992 года рождения, 27 лет, посёлок «Косшы» Целиноградского района; медсестра ВОП №13 Центр семейного здоровья Косшы ТОО «Казахстанская социально-медицинская кампания «Жанұя»» - ЦСЗ Косшы ТОО КСМК «Жанұя».

Распределение 11 сл. персонала МО и 1 сл. персонала МСУ с положительным результатом на COVID-19

- 1) город Нур Султан 8: 5 медсестёр, 1 лаборант, 1 санитарка, 1 водитель;
- 2) город Кокшетау 1: санитарка;
- 3) Аккольский район 2: 1 медсестра, 1 санитарка;
- 4) Целиноградский район МСУ 1: медсестра.

Распределение 11 сл. персонала МО и 1 сл. персонала МСУ с положительным результатом на COVID-19 по профессиональному фактору

1) санитарки - 3 сл., 2) водитель - 1 сл., 3) лаборант КТ – 1 сл., 4) медсёстры - 7 сл.

Распределение 11 сл. персонала МО и 1 сл. персонала МСУ с положительным результатом на COVID-19 по полу:

1) женский - 10 сл., 2) мужской - 2 сл.

Распределение 11 сл. персонала МО и 1 сл. персонала МСУ с положительным результатом на COVID-19 по территориальности:

1) сельское население - 1 сл., городское население - 11 сл.

Распределение 11 сл. персонала МО и 1 сл. персонала МСУ с положительным результатом на COVID-19 по возрасту:

20 лет - 1 сл., 25 лет - 1 сл., 27 лет - 1 сл., 28 лет - 1 сл., 33 года - 1 сл., 36 лет - 1 сл., 43 года - 1 сл., 51 год - 1 сл., 53 года - 1 сл., 57 лет - 1 сл., 58 лет - 1 сл., 59 лет - 1 сл. C 20 до 43 лет - 7 случаев - 58, 33 % от общего числа лиц с положительным результатом; C 51 до 59 лет - 50 случаев - 50, 50 от общего числа лиц с положительным результатом.

Распределение 11 сл. персонала МО и 1 сл. персонала МСУ с положительным результатом на COVID-19 в разрезе медорганизаций:

- 1) ГКП на ПХВ «Многопрофильная областная больница №2» МОБ №2 8 сл.,
- 2) ГКП на ПХВ «Аккольская районная больница» 2 сл.,
- 3) ГКП на ПХВ «Многопрофильная областная больница» МОБ 1 сл.

8 сл - 66,66 % ГКП на ПХВ «Многопрофильная областная больница № 2»; 2 сл. - 16,66 % - ГКП на ПХВ «Аккольская районная больница»; 1 сл. - 8,33 % ГКП на ПХВ «Многопрофильная областная больница»; 1 сл. - 8,33 % приёмный покой Центра семейного здоровья Косшы ТОО «Казахстанская социальномедицинская кампания «Жанұя»».

Распределение 11 сл. персонала МО и 1 сл. персонала МСУ с положительным результатом на COVID-19 в разрезе структурных подразделений МО:

- 1 сл. приёмный покой ГКП на ПХВ «МОБ №2»;
- 2 сл. приёмный покой ГКП на ПХВ «МОБ №2»;
- 3 сл. хирургическое отделение ГКП на ПХВ «МОБ №2»;
- 4 сл. ОАРИТ ГКП на ПХВ «МОБ №2»;
- 5 сл. ОАРИТ ГКП на ПХВ «МОБ №2»;
- 6 сл. отделение функциональной диагностики, совмещённое с приёмным покоем на 1 этаже КТ ГКП на ПХВ «МОБ №2»;
  - 7 сл. водитель ГКП на ПХВ «МОБ №2»;
  - 8 сл. инсультное отделение ГКП на ПХВ «МОБ №2»; провизорное отделениеГКП на ПХВ «МОБ №2»;
  - 9 сл.- провизорное отделение ГКП на ПХВ «Аккольская районная больница»;
  - 10 сл.- провизорное отделение ГКП на ПХВ «Аккольская районная больница»;
- 11 сл.- кожно-венерологический диспансер ГКП на ПХВ «Многопрофильная областная больница» госпитальная база;

12 сл. - приёмный покой Центра семейного здоровья Косшы ТОО «Казахстанская социально-медицинская кампания «Жанұя»» - ЦСЗ Косшы ТОО КСМК.

- 1) приёмный покой 3 сл. -25 %,
- 2) ОАРИТ 2 сл. 16,66 %,
- 3) отделение функциональной диагностики, совмещённое с приёмным покоем на 1 этаже КТ 1 сл. 8,33 %,
  - 4) провизорное отделение, госпитальная база 4 сл. 33,33 %,
  - 5) хирургическое отделение 1 сл. 8,33 %,
  - 6) водитель 1 сл. 8,33 %.

Большая доля в общей структуре лиц с положительным результатом на COVID-19 приходится на ГБ - 33,336%; далее - приёмный покой MO – 25%; OAPИТ - 2 сл. - 16,66%.

По ИСМП с 17 по 24 сл. - регистрация положительного результата COVID-19 у 8 медицинских работников и 1 водителя ГКП на ПХВ «Акмолинская областная больница №2» - 9 случаев: лабораторно — 100 % подтверждены 8 случаев.

Из эпиданамнеза известно: контакт с пациентами с диагнозом «COVID-19» в ГКП на ПХВ «Многопрофильная областная больница №2» - пациентки с летальным исходом И., 01 февраля 1956 года рождения, пенсионерка, место жительства - село «Косши» Целиноградского района Акмолинской области, диагноз «Двухсторонняя пневмония тяжёлой степени. ДН III. Сесис. Септицемия. COVID-19?». Отрицательный результат протокол №7188 от 25 марта 2020 года поступил в МОБ №2 в 21час.00мин. Letalis 26 марта 2020 года в 08 час 15мин. Тело пациентки выдано родственникам без вскрытия 26 марта 2020 года.

В ходе санитарно-эпидемиологического расследования установлено: в документообороте ГКП на ПХВ «МОБ №2» зарегистрировано донесение и.о. директора ГКП на ПХВ «Многопрофильная городская больница №1» акимата города Нур-Султан о протоколе с положительным результатом на COVID-19 пациентки с летальным исходом И. Данный протокол ошибочно перенаправлен Филиалом РГП на ПХВ «Национальный центр экспертизы» КККБТУ МЗ РК в ГКП на ПХВ «Многопрофильная городская больница №1» акимата города Нур-Султан. Ошибка допущена при формировании данных результатов исследования.

Принятые меры: внеплановая проверка, предписание (в связи с завершением периода ЧС); постановление о карантине ГКП на ПХВ «МОБ №2»; определение круга контактных лиц - БК, ПК; изолирование медработников на госпитальной базе, созданной 09 апреля 2020 года - единый фильтр для персонала ЛПУ. Срок карантина с 27 марта по 09 апреля 2020 года. Источник инфекции - пациентка с летальным исходом с положительным результатом на COVID-19 И., пути передачи - артифициальный, воздушно-капельный, контактный.

Далее по 8 случаю ИСМП С.: источник инфекции - пациент с положительным результатом на COVID-19 К. - диагноз «Внебольничная двухсторонняя пневмония тяжёлой степени ДН 3. Сепсис. Септицемия. РДС тяжёлой степени. ДВС, стадия гиперкоагуляции. Артериальная гипертензия III степени COVID-19?». Изначально у пациента зарегистрирован отрицательный результат, далее при исследовании промывных

вод бронхиального дерева ФБС - положительный результат - дата забора материала - 21 апреля 2020 года. Пути передачи - артифициальный, воздушно-капельный, контактный. С. контактировала с 15 час 00 мин 21 апреля 2020 года по 22 апреля 2020 года до 10 час 30 мин, далее ввиду отрицательной динамики пациент переведён в АОРИТ, далее перевод из АОРИТ - в стационар города Нур-Султан. Ранее до пациента К. - контакт с пациентами с положительным результатом на COVID-19. Заключительная дезинфекция НЦЭ города Нур-Султан не проводилась.

Принятые меры: внеплановая проверка открыта и продлена; постановление о карантине ГКП на ПХВ «МОБ №2»; определение круга контактных лиц - по месту работы и по домашнему очагу (6 человек); изолирование медработников на госпитальной базе - фильтр, ранее использовался как провизор. Начало карантина - с 26 марта 2020 года. Госпитализация медработника, проведение заключительной дезинфекции в ГКП на ПХВ «МОБ №2» сотрудниками НЦЭ города Нур-Султан вирулицидными средствами спецоборудованиям. Контроль дезинфекции: результаты - в работе.

8 сл. выявлены активно специалистами РГУ «ДККБТУ Акмолинской области КККБТУ МЗ РК» и госпитальным эпидемиологом ГКП на ПХВ «МОБ №2», разобраны на КИК №2 от 14 апреля 2020 года; КИК №4 от 28 апреля 2020 года вышеуказанного объекта здравоохранения города Нур-Султан.

Вывод по 8 сл. ИСМП ГКП на ПХВ «МОБ №2»; источники инфекции установлены - пациенты с пациентами с положительным результатом на COVID-19, находившиеся в МОБ №2. Путь передачи - артифициальный, воздушно-капельный. Предрасполагающий фактор - нарушение чистой и грязной зон, поточности в ЛПУ, снижена настороженность персонала, недостаточное обеспечение СИЗ персонала, как следствие - ИСМП.

Вывод по 26 случаю ИСМП ГКП на ПХВ «МОБ»; источник инфекции установлен - пациент с положительным результатом на COVID-19, находившаяся в МОБ. Путь передачи - артифициальный, воздушно-капельный. Предрасполагающий фактор - поточности движения пациентов и персолнала в ЛПУ, состояние системы вентиляции, снижена настороженность персонала, как следствие - ИСМП.

По 27 случаю – Е., 1962 года рождения, 58 лет, медсестра провизора Аккольской РБ, адрес - Акмолинская область, город Акколь. Положительный результат обследования на «COVID-19» от 28 апреля 2020 года. Диагноз «Правосторонняя нижнедолевая пневмония средней степени тяжести». Круг контактных по АРБ – 62 пациента и 33 персонал, обследованы - отрицательные результаты. Лабораторно - подтверждён.

Из эпиданамнеза известно: заболела 26 апреля 2020 года, жалобы – повышение температуры до 38,7 °C, ухудшение самочувствия. Госпитализирована в провизор АРБ с 27 по 30 апреля 2020 года, далее после положительного результата – в АОПТД им. К.Курманбаева с диагнозом «Правосторонняя нижнедолевая пневмония средней степени тяжести».

Принятые меры: определение круга контактных лиц; госпитализация 33 сотрудников на 14 дней в провизор. Источник инфекции - не установлен. Пути передачи: воздушно-капельный, контактный. Случай выявлен активно теруправлением, разобран на ЛКК №18 А от 30 апреля 2020 года.

Вывод: 2 сл. ИСМП «Аккольской РБ»; источник инфекции не установлен. Путь передачи - воздушнокапельный, контактный. Предрасполагающий фактор - поточность движения пациентов и персонала в ЛПУ, состояние системы вентиляции, снижена настороженность персонала, как следствие - ИСМП.

По 28 случаю - С., 04 сентября 1976 года рождения, 43 года, санитарка провизора Аккольской РБ, адрес - Акмолинская область, город Акколь, ул. Октябрьская, дом 254. Положительный результат обследования на «COVID-19» от 07 мая 2020 года.

Круг контактных по APБ - 62 пациента и 33 персонал, обследованы - положительный результат у медсестры Е. Лабораторно - подтверждён.

Из эпиданамнеза известно: работала в провизоре с 09 апреля 2020 года по 27 апреля 2020 года в одной смене с Е., у которой 29 апреля 2020 года - положительный результат на «COVID-19». Бессимптомно. Госпитализирована в АОПТД им. К.Курманбаева с бессимптомной формой.

Принятые меры: определение круга контактных лиц; источник инфекции – установлен – медсестра провизора Е. Пути передачи: артифицинальный, воздушно-капельный, контактный. Случай выявлен активно теруправлением, разобран на ЛКК №19 от 08 мая 2020 года.

По итогам 6 месяцев 2020 года зарегистрировано 64 случая: среди госслужащих 7 случаев, среди полицейских - 3 случая, среди лаборантов - 4 случая, среди медработников – 45 случаев, 1 летальный исход - судмедэксперт, подлежат отчётности в июне 2020 года.

Заключение: 28 сл. ИСМП «Аккольской РБ»; источник инфекции установлен. Путь передачи - артифицинальный, воздушно-капельный, контактный. Предрасполагающий фактор - поточность движения пациентов и персонала в ЛПУ, состояние системы вентиляции, снижена настороженность персонала, как следствие - ИСМП. Меры - оздоровление персонала МО (предоставление действующим специалистам отгулов, отпусков, больничных, санаторно-курортное лечение) методом создания COVID бригад из студентов медучилищ, медвузов, специалистов МЗ РК на июль, август 2020 года. Медработники МСУ и других служб и ведомст не учитываются в отчёте АСУ ВБИ ДККБТУ Акмолинской области КККБТУ МЗ РК, необходимо изменение формы отчёта АСУ ВБИ с целью тотального контроля за заболеваемостью декретированного контингента - медработников всех служб и ведомств.

43

#### ЛИТЕРАТУРА

- 1 Статистические данные РГУ «ДККБТУ Акмолинской области КККБТУ МЗ РК».
- 2 Статистические данные оперативного штаба государственной комиссии.
- 3 Данные статотчётов, аналитические обзоры.

### МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

УДК 578.287

**Е.Д. Бурашев, А.У. Исабек, С.О. Садикалиева, М.М. Касенов, К.Т. Султанкулова** РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Казахстан e-mail: <a href="mailto:yerbol.bur@gmail.com">yerbol.bur@gmail.com</a>

### КРИСТАЛЛИЗАЦИЯ ОЧИЩЕННЫХ БЕЛКОВЫХ ПРЕПАРАТОВ ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ

Аннотация. В данной статье представлены результаты кристаллизации очищенных препаратов белка гемагглютинина вируса гриппа птиц. Для получения белков, чистотой не менее 95 %, были использованы методы гельфильтрации, ионообменной и афинной хромотографии. Наиболее оптимальные показатели были получены при отработке методом афинной хроматографии с ионами Co2+ в качестве адсорбента. Рост кристаллов происходил в специальных 24-луночных планшетах. Процесс формирования кристаллов занимал 48-96 ч, в то время как кристаллы максимальных размеров вырастали через ~7-9 суток (~190 ч) после начала кристаллизации. Линейные размеры кристаллов составляли от 350 до 800 мкм, высота кристаллов составляла в среднем 300 мкм (от 150 до 450 мкм). Таким образом, в результате скрининга условий кристаллизации белка гемагглютинина были подобраны оптимальные условия для выращивания кристаллов тетрагональной формы без видимых дефектов, которые будут использованы для проведения рентгеноструктурного анализа.

Ключевые слова: вирус гриппа, белок, гемагглютинин, очистка, кристаллизация.

**Е.Д. Бурашев, А.У. Исабек, С.О. Садикалиева, М.М. Касенов, К.Т. Султанкулова** ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМК, Гвардейский қтп., Қазақстан

# ҚҰС ТҰМАУ ВИРУСЫНЫҢ ТАЗАРТЫЛҒАН АҚУЫЗ ПРЕПАРАТТАРЫНЫҢ КРИСТАЛЛИЗАЦИЯСЫ

Аннотация. Бұл мақалада құс тұмауы вирусының гемагглютинин протеинінің тазартылған препараттарының кристалдану нәтижелері келтірілген. Ақуыздарды 95 % -дан кем емес мөлшерде алу үшін гельді сүзу, ион алмасу және аффиндік хроматография әдістері қолданылды. Ең оңтайлы көрсеткіштер адсорбент ретінде Co2 + иондарымен жақындық хроматографиясын тексеру кезінде алынды. 24-ұңғыма арнайы тақталарда кристалды өсу болды. Кристалдану процесі 48-96 сағатты құрады, ал максималды мөлшердегі кристаллдар кристалдану басталғаннан кейін ~ 7–9 күнде (~ 190 сағат) өсті. Кристалдардың сызықтық өлшемдері 350-ден 800 микронға дейін, кристалдардың биіктігі орташа есеппен 300 мкм (150-ден 450 микронға дейін) болды. Осылайша, гемагглютинин ақуызының кристалдану жағдайларын скрининг нәтижесінде рентгендік дифракцияны талдау үшін қолданылатын, көрінетін ақаулары жоқ тетрагональды кристалдардың өсуі үшін оңтайлы жағдайлар таңдалды.

Түйін сөздер: тұмау вирусы, ақуыз, гемагглютинин, тазарту, кристалдану.

Y.D. Burashev, A.U. Issabek, S.O. Sadikalyeva, M.M. Kassenov, K.T. Sultankulova RGE «Research Institute for Biological Safety Problems» CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan

### CRYSTALLIZATION OF PURIFIED PROTEIN PREPARATIONS OF AVIAN INFLUENZA VIRUS

**Abstract.** This article presents the results of the crystallization of purified preparations of avian influenza virus hemagglutinin protein. To obtain proteins with a purity of not less than 95 %, methods of gel filtration, ion exchange, and affinity chromatography were used. The most optimal indices were obtained during testing by affinity chromatography with Co2 + ions as an adsorbent. Crystal growth occurred in special 24-well plates. The process of crystal formation took 48-96 hours, while crystals of maximum sizes grew in  $\sim$  7-9 days ( $\sim$  190

hours) after the start of crystallization. The linear dimensions of the crystals ranged from 350 to 800 microns, the height of the crystals averaged 300 microns (from 150 to 450 microns). Thus, as a result of screening the crystallization conditions of the hemagglutinin protein, optimal conditions for growing tetragonal crystals without visible defects were selected that will be used for X-ray diffraction analysis.

**Keywords:** influenza virus, protein, hemagglutinin, purification, crystallization.

**Введение.** Понимание механизма фолдинга белка – процесса, благодаря которому каждая белковая молекула приобретает уникальную структуру и свойства – является необходимым условием для создания надёжного и точного алгоритма теоретического предсказания пространственной структуры этих «молекул жизни».

Кристаллизация белков и разрешение их структур являются одними из самых перспективных направлений современной биологии. В их основе лежит свойство биомолекул образовывать кристаллы, способные рассеивать рентгеновские лучи. Закон Брэгга, который описывает зависимость между углами и фазами падающих и отражённых волн и расстояниями между атомами в кристаллической решётке, позволяет воссоздать трёхмерную кристаллическую структуру по картине дифракции кристаллами рентгеновских лучей [1, 2].

В настоящее время сотни лабораторий в самых разных странах мира занимаются либо исключительно кристаллизацией и разрешением структур белков, либо используют этот процесс в качестве дополнения и доказательства правильности тех или иных теорий и моделей, основанных на биохимических данных. Сотни структур публикуются каждый год в самых престижных биологических журналах мира, пополняя компьютерную базу данных PDB и GenBank [3].

Успешная кристаллизация белков требует больших затрат белкового материала, обычно измеряющихся в миллиграммах или даже десятках миллиграммов. Оптимальным способом решения проблемы является клонирование генов данного вида в бактериальные вектора под контроль сильных промоторов, и их последующая экспрессия в подходящих бактериальных штаммах. Наиболее часто для этой цели используются плазмиды семейства рЕТ, совместно с клеточными штаммами, содержащими Т7 профаг (DE3) в своей хромосоме. Плазмиды семейства рЕТ не только позволяют клонировать гены под контроль одного из самых мощных в мире промоторов (РНКполимеразы бактериофага Т7), но также добавляют к синтезируему белку отщепляемый гексагистидиновый хвост (His tag), значительно облегчающий очистку.

Белки, используемые для кристаллизации, должны обладать высокой степенью чистоты, что требует нескольких хроматографических шагов. Для очистки белков чаще всего используется система FPLC (Fast Protein Liquid Chromatography). Одним из наиболее популярных инструментов для очистки белков в современной кристаллографической лаборатории является FPLC AKTA. Эта высокоавтоматизированная система позволяет не только оперировать несколькими хроматографическими колонками одновременно, но и обладает большим количеством датчиков, записывающих все параметры данных шагов очистки [4].

**Материалы и методы исследований.** В качестве объекта исследований в работе были использованы рекомбинантные первые субъединицы гемагглютинина вирусов гриппа птиц A/H5 следующих штаммов: 1 - A/лебедь шипун/Мангистау/3/06 (H5N1); 2 - A/курица/СКО/ 5/05 (H5N1); 3 - A/мартын/Костанай/7/07 (H5N1).

Для очистки рекомбинантного белка осадок клеток ресуспендировали в буфере (100 мМ Трис HCl pH 8.0, 150 мМ NaCl, 1 % тритон X-100, 1 % ДОХ) из расчета 15 мл на 1 г сырого клеточного осадка. К полученной суспензии добавляли лизоцим до конечной концентрации 1 мг/мл. Лизис клеток осуществляли путём двукратного замораживания (минус 70 °C) – оттаивания (плюс 37 °C) суспензии. Фракцию растворимых белков получали центрифугированием лизата клеток при 10000× g в течение 20 мин. Очистку белка проводили методом металло-аффинной хроматографии с использованием HisPur<sup>TM</sup> Cobalt Superflow Agarose (Thermo Scientific, США) в нативных условиях. Для проведения диализа использовали в качестве диализного мешка диализные кассеты Slide-A-Lyzer Dialysis Flasks (Thermo Scientific, США). Рекомбинантные белки, полученные в результате элюции инкубировали в течение 2 часов в диализном буфере [20 mM трис-HCl; 150 mM NaCl; 25 mM 2 -меркаптоэтанола]. Далее белки перенесли в 20 mM раствор трис-HCl и инкубировали в течение ночи.

Для получения кристаллов необходимое количество белка и осадителя растворяли в 0.1 М натрийацетатном буфере, рН-4.55. Затем проводили фильтрацию растворов от крупных частиц с помощью мембранных фильтров с диаметром пор 0.22 мкм. Далее раствор белка подвергался дополнительной очистке для исключения нахождения в растворе агрегатов молекул, которые могли бы повлиять на результат кристаллизации. Для этого раствор центрифугировали в течении 10 минут с частотой 10000 оборотов в минуту. Изначально готовили растворы высокой концентрации, затем их доводили до нужной концентрации. Концентрацию растворов белка проверяли с помощью спектров поглощения на длине волны 280 нм в кварцевых кюветах (длина оптического пути 1 см) на спектрофотометре. Рост кристаллов происходил в специальных планшетах. На силиконизированное покровное стекло наносили каплю белка объемом 3 мкл и осадителя объемом 3 мкл. В резервуар ячейки для кристаллизации наливали 500 мкл осадителя.

Ячейки закрывали покровными стеклами. Края ячейки предварительно были смазаны вакуумной смазкой для обеспечения лучшей герметичности. При скрининге условий кристаллизации концентрация белка в капле составляла 10 мг/мл, 20 мг/мл, 30 мг/мл, 40 мг/мл, а концентрация осадителя в капле – 5 мг/мл, 15 мг/мл, 25 мг/мл, 35 мг/мл, 45 мг/мл, 55 мг/мл. После загрузки планшет оставляли при температуре 18 °С в течение 7 дней. Ежедневно появившиеся кристаллы исследовали с помощью электронного микроскопа JEM 100 СХ, Jeol (Япония). Максимальное наблюдение составило 168 часов. Размер полученных кристаллов составил приблизительно 200-300 нм.

**Основные результаты исследований.** Выбор метода очистки белка является ключевым моментом исследовательских работ. Основными критериями при выборе метода служили: степень чистоты препарата не менее 95 %, максимально возможный выход белка, минимизирование физического воздействия на целевой белок. Для получения очищенного препарата были использованы несколько методов очистки, включая гельфильтрацию, ионообменную хромотографию и афинную хроматографию.

Были проведены работы по очистке белка методом гельфильтрации. С помощью метода гельфильтрации можно быстро разделить макромолекулы в соответствии с их размерами. Носителем для хроматографии является гель, который состоит из поперечно-сшитой трехмерной молекулярной сетки, сформированной в виде шариков (гранул) для удобства наполнения колонок. Нами в качестве геля был использован биогель P-60 Bio-Rad, сополимер акриламида с бисакриламидом. Набухание геля водой длилось в течение 8 часов. Область разделения белком использованного нами биогеля составляет от 30 до 70 кДа, масса синтезируемого нами белка теоритически составляет 45 кДа. Элюирование белка проводили буферным раствором. В результате проведения данных работ установили, что итоговый выход белка не обладает требуемой для дальнейшей кристаллизации чистотой. Было определено, что через гель проходят и другие сопутствующие белки [5, 6]. Таким образом, было установлено что, белок полученный методом гельфильтрации не подходит для дальнейшей кристаллизации белка.

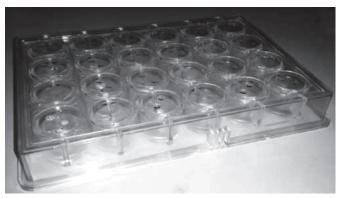
В целях увеличения степени чистоты белка использовали метод разделения белков путем адсорбции. В качестве адсорбентов использовали ДЭАЭ-целлюлозу (ионообменники) и ионы Co2+ (афинная хроматография). При адсорбции белка ДЭАЭ-целлюлозой использовали 20 мМ трис-буфер рН 8,0. Элюировали белок 10 М NaCl, при такой ионной силе элюируются практически все белки. В результате очистки белка ДЭАЭ-целлюлозой наблюдали лишь частичную адсорбцию белка, для полноценной адсорбции требовалось понижение рН до 5,5, что является нежелательным. Резюмируя, вышеописанное было установлено, что использование в качестве адсорбента ДЭАЭ-целлюлозы является не эффективным.

Также в качестве адсорбента использовали ионы Co2+. В настоящий момент наиболее эффективным и самым широко распространенным методом очистки белков является метод аффинной хроматографии.

Металл-аффинная хроматография является высокоспецифичным и надежным методом очистки рекомбинантных белков вследствие относительно высокого сродства и специфичности некоторых металлов к эпитопу, содержащему шесть или более остатков гистидина. При создании генетической конструкции для экспрессии целевого гена в состав нуклеотидной последовательности нами были включены участки, кодирующие гексагистидиновые таги [7, 8]. При очистке белка методом металл-аффинной хроматографии были получены белки с чистотой не менее 95 %, также в ходе процесса не было наблюдалось воздействие на белок жёстких условий. Таким образом, нами был выбран метод металл-аффинной хроматографии для очистки белка.

Для характеризации белковых кристаллов, выращенных на подложках, традиционно применяют метод рентгеноструктурного анализа, однако для этого необходимо снять белковый кристалл с подложки и поместив в специальный криораствор, заморозить. Необходимо проводить неразрушающие исследования структуры белкового кристалла непосредственно на подложке, а также для возможности изучения in situ процессов роста и деградации кристаллов. Для исследования особенностей различных стадий кристаллизации гемагглютинина был проведен скрининг условий, выбраны оптимальные условия кристаллизации и получены кристаллы белка.

Рост кристаллов происходил в специальных 24-луночных планшетах (рисунок 1). Процесс формирования



кристаллов занимал 48-96 ч, в то время как кристаллы максимальных размеров вырастали через  $\sim$ 7-9 суток ( $\sim$ 190 ч) после начала кристаллизации. Линейные размеры кристаллов составляли от 350 до 800 мкм, высота кристаллов составляла в среднем 300 мкм (от 150 до 450 мкм) [9, 10, 11].

Рисунок 1 – 24-луночный планшет для кристаллизации методом диффузии в парах

Первоначально ячейка с каплями растворов белка и осадителя помещалась в оптический микроскоп для наблюдения процесса зарождения и начального этапа кристаллизации лизоцима. На указанных стадиях кристаллизации фиксировались размеры, грани кристаллов, их количество в каждой капле и т.д. В дальнейшем микроскопические изображения кристаллов получали перед каждой серией рентгенодифракционных измерений.

По результатам первичного скрининга были выбраны условия: концентрация белка 40 мг/мл и осадителя от 15 до 35 мг/мл с шагом 5 мг/мл для поиска оптимальных условий. Кристаллизация проводилась в более узком диапазоне концентраций белка и осадителя.

Результаты скрининга условий кристаллизации гемагглютинина представлены ниже на рисунке 2.

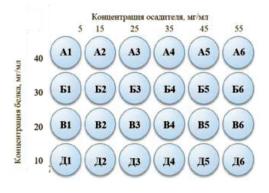


Рисунок 2 – Схема эксперимента по скринингу условий кристаллизации в планшете

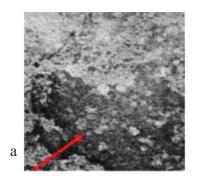
Кристаллы выросли в ячейках: A2, A3, A5, A6, B4, B5. Соответствующие этим ячейкам условия: a) 40 мг/мл и 15 мг/мл; б) 40 мг/мл и 25 мг/мл; в) 40 мг/мл и 45 мг/мл; г) 30 мг/мл и 35 мг/мл; д) 30 мг/мл и 45 мг/мл; е) 40 мг/мл и 55 мг/мл.

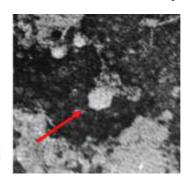
Обсуждение полученных данных. Очистка белков, содержащих в своей структуре таги, достаточно проста, и можно сэкономить много времени благодаря высокой специфичности метки рекомбинантного белка и лиганда иммобилизованного на хроматографическом сорбенте. Чистота выделенного с

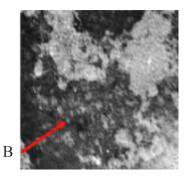
помощью аффинной хроматографии белка может достигать 95 % [12]. Конечно же, дальнейшая очистка рекомбинантного белка необходима, если требуется большая степень чистоты, но применение аффинной метки (или тага) позволяет уже на первом этапе очистки избавиться от большинства примесных белков, облегчает и дальнейшую очистку.

При очистке белка методом металл-аффинной хроматографии были получены белки с чистотой не менее 95 %, также в ходе процесса не было наблюдалось воздействие на белок жёстких условий. Таким образом, нами был выбран метод металл-аффинной хроматографии для очистки белка. В качестве адсорбента использовали ионы Co2+.

Исследования полученных кристаллов методом электронной микроскопии показали, что препарат гомогенный, белок образует характерные для гемагглютинина кристаллы (рисунок 3).







а) 40 мг/мл и 5-15 мг/мл; б) 40 мг/мл и 25-35 мг/мл; в) 40 мг/мл и 45-55 мг/мл Рисунок 3 — Электронные микрофотографии кристаллов белка гемагглютинина, выращенные в условиях с концентрациями белка и осадителя

При малых концентрациях осадителя 5-15 мг/мл и больших концентрациях белка 40 мг/мл растут маленькие кристаллы размером 100-200 мкм с ровными гранями (рисунок 3а). Такие же свойства кристаллов наблюдались при малых концентрация белка и больших осадителя вырастают много сросшихся и дефектных мелких кристаллов 50-100 мкм. С увеличением концентрации осадителя до 25-35 мг/мл размер кристаллов увеличивается до 400-500 мкм (рисунок 3б). Грани остаются ровными. При увеличении концентрации осадителя до 45-55 мг/мл вырастают дефектные кристаллы разных размеров (рисунок 3в). Все полученные кристаллы принадлежать к тетрагональной форме.

Таким образом, в результате скрининга условий кристаллизации белка гемагтлютинина, были подобраны оптимальные условия для выращивания кристаллов тетрагональной формы безвидимых дефектов. Кристаллы белков будут использованы для проведения рентгеноструктурного анализа.

**Заключение.** Как известно, что основными критериями при выборе метода служили степень чистоты не менее 95 %, максимально возможный выход белка, минимизирование физического воздействия на

целевой белок и в этой связи были проведены работы по очистке белков несколькими методами, среди которых был выбрана металл-аффинная хроматография для очистки рекомбинантных белков, являющийся наиболее высокоспецифичным и надежным вследствии относительно высокого сродства и специфичности некоторых металлов к эпитопу, содержащему шесть или более остатков гистидина.

Выбран метод металл-аффинной хроматографии для очистки рекомбинантных белков, который является наиболее высокоспецифичным и надежным вследствии относительно высокого сродства и специфичности некоторых металлов к эпитопу, содержащему шесть или более остатков гистидина;

Получены очищенные белковые препараты с чистотой не менее 95 % и определена специфичность синтезируемого белка методом иммунодетекции. Для исследования особенностей различных стадий кристаллизации гемагглютинина был проведен скрининг условий, выбраны оптимальные условия кристаллизации и получены кристаллы белковых препаратов методом диффузии паров летучих веществ. Проведена кристаллизация очищенных белковых препаратов методом диффузии паров летучих веществ.

#### ЛИТЕРАТУРА

- 1 Шафрановский И.И. История кристаллографии в России. Л., 1962. 416 с.
- 2 Уэвелль В. История индуктивных наук от древнейшего и до настоящего времени. В трех томах. История кристаллографии. СПб.,1969. Т. 3.
  - 3 Burke J.G. Origins of the science of crystals // University of California. Los Angeles, 1966. 198 p.
  - 4 Шубников А.В. У истоков кристаллографии. М., 1972. 52 с.
- 5 R.U. Kadama, I.A. Wilson. Structural basis of influenza virus fusion inhibition by the antiviral drug Arbidol. Department of Integrative Structural and Computational Biology. The Scripps Research Institute, La Jolla, CA, 2016 // Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2017. 114 (19). P. 4848-4850.
- 6 <u>International Nonproprietary Names for Pharmaceutical Substances (INN)</u>. WHO Drug Information. 2011. 25 (1). P. 91.
- 7 Blaising J., Polyak S. J., Pécheur E. I. Arbidol as a broad-spectrum antiviral: an update // Antiviral research. 2014. Vol. 107. P. 84-94.
- 8 Toshihiro Ito, Hideo Goto, Eiji Yamamoto, Hiroko Tanaka, Mutsuko Takeuchi, Masaru Kuwayama, Yoshihiro Kawaoka, Koichi Otsuki Generation of a highly pathogenic avian influenza A virus from an avirulent field isolate by passaging in chickens // Journal of Virology. 2001. Vol. 75, No. 9, P. 4439-4443.
- 9 Sang Heui Seo, Robert G. Webster Cross-reactive, cell-mediated immunity and protection of chickens from lethal H5N1 influenza virus infection in Hong Kong poultry markets // Journal of Virology. 2001. Vol. 75, No. 6. P. 2516-2525.
- 10 David E. Swayne, Michael L. Perdue, Joan R. Beck, Maricarmen Garcia1, David L. Suarez Vaccines protect chickens against H5 highly pathogenic avian influenza in the face of genetic changes in field viruses over multiple years // Veterinary Microbiology. 2000. 74. P. 165-172.
- 11 D.L. Suarez, S. Schultz-Cherry Immunology of avian influenza virus: a review // Developmental and Comparative Immunology. 2000. 24. P. 269-283.
- 12 Jody K. Dybing, Stacey Schultz-Cherry, David E. Swayne, David L. Suarez, Michael L. Perdue distinct pathogenesis of Hong Kong-Origin H5N1 viruses in mice compared to that of other highly pathogenic H5 avian Influenza viruses // Journal of Virology. 2000. Vol. 74, No. 3. P. 1443-1450.

УДК 57.083.3:577.112

# С.О. Садикалиева, Э.Т. Тайлакова, А.У. Исабек, Г.О. Шыныбекова, К.Т. Султанкулова, О.В. Червякова

РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Казахстан sadikalieva86@mail.ru

### РАЗРАБОТКА И ПРИМЕНЕНИЕ НЕПРЯМОГО МЕТОДА КОНКУРЕНТНОГО ИФА ДЛЯ ОЦЕНКИ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИИ БЕЛКА ОМР25 BRUCELLA SPP. РЕКОМБИНАНТНЫМ ВИРУСОМ ОСПЫ ОВЕЦ

**Аннотация.** Целью исследований стала разработка способа определения количества белка omp25, экспрессируемого рекомбинантным вирусом оспы овец в культуре клеток тестикулы ягнят, в динамике методом непрямого конкурентного иммуноферментного анализа. В результате были определены оптимальные параметры проведения анализа. Для сенсибилизации планшетов концентрация рекомбинантного белка

отр25 составила 1 мкг/мл, рабочее разведение специфической сыворотки 1:4000. Определено содержание белка отр25 в культуре клеток тестикул ягненка (ТЯ), инфицированной рекомбинантным вирусом оспы овец. Установлено, что в процессе репликации вируса содержание белка отр25 увеличивается. Через 72 часа после инфицирования культуры клеток рекомбинантным вирусом содержание белка достигало 1471 мкг/мл, что составило 3 пкг/ТЦД $_{50}$ .

Ключевые слова: рекомбинантный вирус, экспрессия, конкурентный ИФА, рекомбинантный белок.

### С.О. Садикалиева, Э.Т. Тайлакова, А.У. Исабек, Г.О. Шыныбекова, К.Т. Султанкулова, О.В. Червякова

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

# ҚОЙ ШЕШЕГІНІҢ РЕКОМБИНАНТТЫ ВИРУСЫМЕН ОМР 25 BRUCELLA SPP. АҚУЫЗ ЭКСПРЕССИЯСЫНЫҢ ДЕҢГЕЙІН БАҒАЛАУ ҮШІН БӘСЕКЕЛІ ИФТ ТІКЕЛЕЙ ЕМЕС ӘДІСІН ӘЗІРЛЕУ ЖӘНЕ ҚОЛДАНУ

Аннотация. Зерттеудің мақсаты тікелей емес бәсекелі иммуноферменттік талдау әдісімен динамикада қозылардың тестикула жасушаларының культурасында қой шешегінің рекомбинантты вирусында экспрессияланған отр25 ақуызының мөлшерін анықтау әдісін әзірлеу болды. Нәтижесінде талдау жүргізудің оңтайлы параметрлері анықталды. Планшеттерді сенсибилизациялау үшін отр25 рекомбинантты ақуыз концентрациясы 1 мкг/мл құрады, сарысудың жұмыс концентрациясы 1:4000 құрады. Қой шешегінің рекомбинантты вирусын жұқтырған қозы (ТЯ) тестикуласының жасушасындағы отр25 ақуызының мөлшері анықталды. Вирустың репликациясы процесінде отр25 ақуызының мөлшері артады. Рекомбинантты вируспен культура клеткаларын жұқтырғаннан кейін 72 сағаттан кейін ақуыздың мөлшері 1471 мкг/мл-ге жетті, бұл 3 пкг/ТЦД<sub>50</sub> құрады.

Түйін сөздер: рекомбинантты вирус, экспрессия, бәсекелі ИФТ, рекомбинанттық ақуыз.

# S.O. Sadikaliyeva, E.T. Tailakova, A.U. Isabek, G.O. Shynybekova, K.T. Sultankulova, O.V. Chervykova

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

# DEVELOPMENT AND USING OF INDIRECT COMPETITIVE ELISA FOR ASSESSMENT OF LEVEL OF OMP25 BRUCELLA SPP. PROTEIN BY RECOMBINANT SHEEP POX VIRUS

**Abstract.** The aim of the research was to develop a method for determining the amount of omp25 protein expressed by recombinant sheep pox virus in lambs testicular cell culture in dynamics by indirect competitive enzyme immunoassay. As a result, the optimal parameters of the analysis were determined. For tablet sensitization, the concentration of recombinant protein omp25 was 1 mcg/ml, the working dilution of specific serum was 1: 4000. The content of omp25 protein in the culture of lamb testicle cells infected with recombinant sheep pox virus was determined. It was found that the protein content of omp 25 increases during virus replication. 72 hours after infection of the cell culture with a recombinant virus, the protein content reached 1471 mcg/ml, which was 3 pkg/TCD<sub>50</sub>.

**Keywords:** recombinant virus, expression, competitive ELISA, recombinant protein.

**Введение.** Разработка вакцинных препаратов требует стандартизации. В связи с активным развитием сферы разработок вакцинных препаратов нового поколения возникает необходимость модернизации известных и разработки новых методов контроля качества. При разработке и контроле качества вакцинных препаратов активно используются такие методы, как определение белка, консервантов, сорбента, определение иммуногенности и эффективности.

Получение рекомбинантных вирусов экспрессирующие чужеродные гены является перспективным направлением исследований, поскольку в дальнейшем они могут быть использованы в составе вакцинных препаратов [1-4]. В связи с этим возникла необходимость в разработке количественного метода оценки содержания целевого антигенного белка на основе непрямого метода конкурентного иммуноферментного анализа (ИФА). Метод ИФА является высокочувствительным и высокоспецифичным иммунодиагностическим методом, с помощью которого проводят качественное и количественное определение концентрации целевого антигена в смеси белков.

Целью данной работы является разработка способа определения концентрации антигенного белка omp25 экспрессируемого рекомбинантным вирусом оспы овец методом непрямого конкурентного ИФА.

**Методика исследований.** *Рекомбинантный белок отр25 и специфическая сыворотка*. Получение очищенного рекомбинантного белка отр25 и специфическая сыворотка к данному белку детально описано в [5].

Определение концентрации белка. Определение концентрации белка проводили по методу Лоури [6]. Иммуноферментный анализ. Сенсибилизация планшетов. Для постановки ИФА 96-луночные планшеты были сенсибилизированы рекомбинантным белком omp25. В каждую лунку планшета было внесено по 100 мкл карбонат-бикарбонатного буфера, содержащего 1 мкг/мл рекомбинантного белка. Планшеты инкубировали при 4 °C в течение 16 ч.

*Отмывка планшетов*. Отмывку планшетов проводили четырехкратно буфером TBST (150 мМ NaCl, 20 мМ трис-HCl, pH 7,5, 0,1 % твин-20), внося в каждую лунку по 200 мкл буфера.

*Блокировка планшетов*. Сенсибилизированные планшеты блокировали, внося в каждую лунку по  $100 \, \text{мкл}$  блокирующего буфера ( $150 \, \text{мM}$  NaCl,  $20 \, \text{мM}$  трис-HCl, pH 7,5,  $5 \, \%$  обезжиренное сухое молоко), инкубировали при  $37 \, ^{\circ}\text{C}$  в течение  $1 \, \text{ч}$ . Далее проводили четырехкратную отмывку планшетов.

Подготовка проб для построения стандартной кривой. Для построения стандартной кривой использовали бактериально экспрессированный белок в концентрациях 0 мкг/мл, 50 мкг/мл, 100 мкг/мл, 150 мкг/мл, 250 мкг/мл.

Связывание белка с сывороткой. При связывании белка и сыворотки (1:1) использовалась специфическая сыворотка в разведении 1:4000.

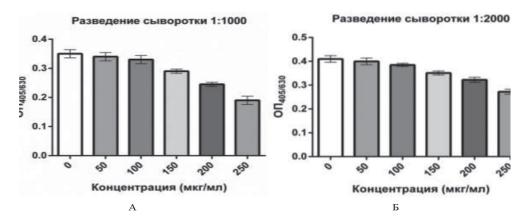
После завершения этапа связывания (16 часов) исследуемые пробы вносили по 100 мкл в лунки планшета, инкубировали при 37 °C в течение 1 ч. После четырехкратной отмывки в лунки планшета вносили конъюгаты антимышиных IgG меченные щелочной фосфатазой (Sigma, USA) в разведении 1:5000 и инкубировали при комнатной температуре в течение 1 ч. Планшеты отмывали четырехкратно и вносили по 100 мкл субстрата для щелочной фосфатазы (pNPP) (Sigma, USA), инкубировали в течение 30 минут. Оптическую плотность (ОП) измеряли при длине волны 405/630 нм с использованием микропланшетного ридера ImmunoChem-2100.

Экспрессия белка отр 25 рекомбинантным вирусом оспы овец в культуре клеток. Монослой клеток ТЯ в шестилуночных планшетах инфицировали рекомбинантным вирусом оспы овец SPPV(TK-) отр 25 с активностью 8  $\lg T \coprod_{50} / m n$ , 0,5 мл/лунка. Инкубировали при 37 °C, 5 %  $loo_2$ . После инкубирования удаляли среду с поверхности монослоя. Клетки собирали механически, ресуспендировали в 200 мкл PBS и лизировали замораживанием-оттаиванием. Осветленный лизат использовали для анализа.

Электрофорез в полиакриламидном геле и вестрн-блот. Электрофоретический анализ полипептидов проводили в 12 % ДСН-ПААГ в денатурирующих редуцирующих условиях по Laemmli [7]. Для визуализации белков использовали окрашивание Coomassie G-250. По интенсивности окрашивания белковых полос определяли чистоту целевого белка. Для вестрн-блот анализа белки с ПААГ переносили на нитроцеллюлозную мембрану и детектировали, как описано в [8] с использованием специфических сывороток полученных на мышах к рекомбинантному белку отр25 и вторичных антител anti-mouse antibody/AP (Sigma, USA).

Статистический анализ данных. При статистическом анализе данных оптические плотности при ИФА выражены как среднее значение  $\pm$  стандартное отклонение от среднего трех независимых экспериментов. Значимость различий между группами анализировали с использованием обычного одностороннего ANOVA с последующим тестом множественных сравнений Тьюки. Значения P < 0.05 считались значимыми. Статистический анализ экспериментальных данных проводили с использованием Graphpad Prism Software version 6.0 (Graphpad Software Inc., CA, USA).

**Основные результаты исследований.** Первоначальным этапом работы было определение рабочего разведения сыворотки, которое бы давало достоверно отличающиеся значения оптической плотности для всех концентраций белка, используемых при построении стандартной кривой: 0 мкг/мл, 50 мкг/мл, 100 мкг/мл, 250 мкг/мл. Результаты представлены на рисунке 1.



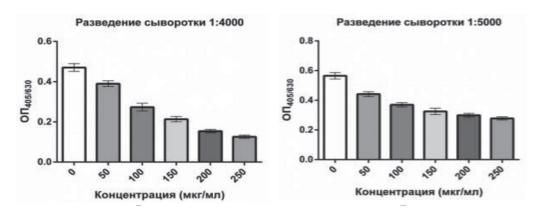


Рисунок 1 – Подбор рабочего разведения специфической сыворотки для проведения анализа

Результаты статистического анализа данных показали, что при использовании сыворотки в разведении 1:4000 оптические плотности для используемых концентраций белка имеют достоверные отличия (P<0,05) (рисунок 1B), тогда как при использовании сыворотки в меньшем разведении образуется плато для низких концентраций белка (рисунок 1A, B), а при более высоком разведении сыворотки плато образуется при высоких концентрациях белка (рисунок  $1\Gamma$ ).

Далее на основе выбранной стандартной кривой было проведено определение количества белка omp25 экспрессируемого рекомбинантным вирусом оспы овец в культуре клеток ТЯ в динамике. Результаты представлены в таблице.

Таблица – Определение уровня экспрессии белка omp25 Brucella spp. рекомбинантным вирусом оспы овец

Время, час	Концентрация, мкг/мл
Ó	0
8	$601 \pm 59$
16	$815 \pm 80$
24	$1120 \pm 109$
48	$1350 \pm 130$
72	$1471 \pm 142$

Из таблицы видно, что при увеличении времени культивирования на культуре клеток ТЯ наблюдается рост концентрации экспрессированного белка omp25 рекомбинантным вирусом оспы овец. Полученные данные согласуются с результатами анализа уровня экспрессии целевого белка методом вестерн блота (рисунок 2).

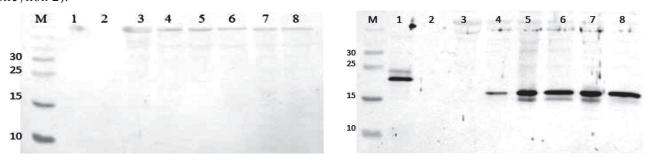


Рисунок 2 — Определение уровня экспрессии рекомбинантного белка omp25 в каприпоксном векторе методом вестр-блоттинга

Как видно из рисунка 2, количество белка omp25 экспрессируемого рекомбинантным вирусом оспы овец в культуре клеток ТЯ увеличивается в соответствии с увеличением времени культивирования.

Заключение. В результате проведенных исследований отработан метод количественной оценки уровня экспрессии белка omp25 рекомбинантным вирусом оспы овец в культуре клеток. При использовании рекомбинантного белка с концентрацией 1 мкг/мл для сенсибилизации, рабочее разведение сыворотки

с титром 1:10240 составило 1:4000. Установлено, что при увеличении времени культивирования рекомбинантного вируса оспы овец в культуре клеток ТЯ наблюдается рост концентрации белка omp25. Максимальная экспрессия белка наблюдается через 72 часа (срок наблюдения) и достигает 1471 мкг/мл, что составило  $\sim$ 3 пкг/ТЦД $_{50}$ . Рост экспрессии целевого белка также подтверждается результатами вестерн блота.

**Финансирование.** Исследования выполнены при поддержке Министерство образования и науки Республики Казахстан в рамках проекта AP 05133746 «Конструирование рекомбинантных каприпоксвирусов, экспрессирующих протективные антигены *brucella spp.*, и изучение их иммунобиологических свойств» на 2018-2020 годы ( $\mathbb{N}$   $\mathbb{P}$  0118PK01198).

#### ЛИТЕРАТУРА

- 1 Канашкова Т.А. Специфическая иммунопрофилактика и иммунотерапия инфекционных заболеваний. Минск: БГМУ, 2009. 84 с.
- 2 Малый В.П. Вакцинопрофилактика: общие и частные вопросы, проблемы и перспективы // Клиническая иммунология. Аллергология. Инфектология. 2009. №4. С. 38-43.
  - 3 Медицинский портал // Eurolab. URL: <a href="http://www.eurolab.ua/">http://www.eurolab.ua/</a>
- 4 Медуницын Н.В. Основы иммунопрофилактики и иммунотерапии инфекционных болезней. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. 512 с.
- 5 Садикалиева С.О., Тайлакова Э.Т., Исабек А.У., Шыныбекова Г.О., Султанкулова К.Т., Червякова О.В. Конструирование, экспрессия и очистка внешнего мембранного белка omp25 *Brucella spp.* в бактериальной системе // Ізденістер, нәтижелер. Исследования, результаты. − 2020. − №2.
  - 6 Lowry H., Bessey A., J. Biol. Chem. 1946. 183. P. 633.
- 7 Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature (London) 1970. 227. P. 680-685.
- 8 Tailakova E.T., Chervyakova O.V. Bacterial gene expression of sheep pox virus encoding antigenic proteins of SPPV095 and SPPV141 for the development of new generation specific prophylaxis // Biotechnology. Theory and practice. 2016. 2. P. 81-87.

#### УДК 616.98:616.921:619:579.841.52

# К.Т. Султанкулова, Н.С. Кожабергенов, К.К. Джекебеков, М.Д. Алмежанова, А.У. Исабек, Н.Н. Мухами, О.В. Червякова, М.Б. Орынбаев

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

# МОНИТОРИНГ ГРИППА А СРЕДИ ДИКИХ ПТИЦ ОРНИТОЛОГИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ «ШАКПАК» В 2019 ГОДУ

Аннотация. Дикие птицы, являющиеся естественным резервуаром вируса гриппа птиц в природе, способны переносить вирус на значительные расстояния во время сезонных миграций. В настоящем исследовании представлены результаты мониторингового исследования гриппа А среди диких птиц орнитологической станции «Шакпак» в 2019 году. От диких сухопутных птиц 13 семейств, обитающих ворнитологической станции «Шакпак» проведен сбор биологических образцов в виде клоачных смывов. В результате лабораторных исследовании в 4 % биологических образцах от диких птиц был выявлен вирус гриппа типа А/H3N8. Вирус гриппа типа А на пролете через станцию «Шакпак» в 2019 году был выявлен у птицы белая трясогузка (*Motacilla alba*) семейства *Motacillidae*. Из четырех птиц белой трясогузки две птицы показали положительный результат на вирус гриппа А/H3N8.

Ключевые слова: вирус, грипп, птицы, ПЦР, клоачный смыв.

# К.Т. Султанкулова, Н.С. Кожабергенов, К.К. Джекебеков, М.Д. Алмежанова, А.У. Исабек, Н.Н. Мухами, О.В. Червякова, М.Б. Орынбаев

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

### 2019 ЖЫЛҒЫ «ШАҚПАҚ» ОРНИТОЛОГИЯЛЫҚ СТАНЦИЯСЫНДАҒЫ ЖАБАЙЫ ҚҰСТАР АРАСЫНДА А ТҰМАУЫНЫҢ МОНИТОРИНГІСІ

**Аннотация.** Табиғатта құс тұмауы вирусының табиғи резервуары болып табылатын жабайы құстар вирусты маусымдық миграция кезінде айтарлықтай қашықтыққа тасымалдауға қабілетті. Бұл зерттеуде

2019 жылы Шақпақ орнитологиялық станциясының жабайы құстар арасында А тұмауы туралы жүргізілген мониторингтік зерттеу нәтижелері көрсетілген. Шақпақ орнитологиялық станциясында мекендейтін жабайы құрлық құстардың 13 тұқымдастарынанжұтыну шайындылары түріндегібиологиялық сынамалар жиналды. Зертханалық зерттеулер нәтижесінде, жабайы құстардан алынған 4 % биологиялық сынамада А/НЗN8 типті вирус анықталды. 2019 жылы Шақпақ станциясы арқылы өтетін А типіндегі тұмау вирусы *Motacillidae* тұқымдасының ақ шақшақай құсында (*Motacilla alba*) анықталды. Төрт фқ шақшақай құсының ішінен екі құс А/НЗN8 тұмауы вирусына оң нәтиже көрсетті.

Түйін сөздер: вирус, тұмау, құстар, ПТР, жұтыну шайындылары.

# K.T. Sultankulova, N.S. Kozhabergenov, K.K. Dzhekebekov, M.D. Almezhanova, A.U. Issabek, N.N. Mukhami, O.V. Chervyakova, M.B. Orynbayev

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

## MONITORING OF INFLUENZA A AMONG WILD BIRDS OF THE "SHAKPAK" ORNITOLOGICAL STATION IN 2019

**Abstract.** Wild birds, which are a natural reservoir of avian influenza virus in nature, are able to carry the virus over considerable distances during seasonal migrations. This study presents the results of a monitoring study of influenza A among wild birds of the "Shakpak" ornithological station in 2019. From wild land birds of 13 families living in the "Shakpak" ornithological station, biological samples were collected in the form of cloacal swabs. As a result of laboratory studies in 4 % biological samples from wild birds, the A/H3N8 type virus was detected. The type A influenza virus during passage through the "Shakpak" station in 2019 was detected in a bird with a white wagtail (*Motacilla alba*) of the *Motacillidae* family. Two birds of the four birds of the white wagtail showed a positive result for the influenza A/H3N8 virus.

Keywords: virus, influenza, birds, PCR, cloacal swabs.

**Введение.** Дикие птицы являются естественным резервуаром всех известных вариантов возбудителя гриппа человека и животных, в том числе подтипов, вызвавших зарегистрированные в прошлом пандемии и широкомасштабные эпизоотии [1, 2].

Вирус гриппа А является представителем рода *Orthomyxovirus* [3]. Одноцепочечная РНК отрицательного смысла имеет 8 генных сегментов, кодирующих 11 белков, в которых 2 поверхностных гликопротеина гемагглютинин (НА) и нейраминидаза (NA) несут 16 и 9 серотипов соответственно. Еще два подтипа НА (Н17 и Н18) и NA (N10 и N11) были выделены от травоядных летучих мышей [4, 5, 6, 7, 8, 9].

Антигенный дрейф служит одним из важных механизмов, обуславливающих развитие эпидемий гриппа. Точечные мутации в генах, кодирующих поверхностные гликопротеиды (НА и NA) вируса гриппа, приводят к образованию измененных вариантов способных преодолевать существующий иммунитет к ранее циркулировавшим возбудителям. В результате антигенного шифта в организме хозяина, зараженного одновременно двумя разными подтипами вируса гриппа A, возникают реассортанты с новыми сочетаниями НА и NA, не циркулировавшие ранее в человеческой популяции, и способные к пандемическому распространению [10, 11].

Таким образом, возможность появления новых, измененных потенциально опасных вариантов возбудителя определяют необходимость проведения комплексного мониторинга ортомиксовирусов среди популяций диких птиц в особенности в таких ключевых точках, как места обитания и главные миграционные пути.

Для понимания эволюции вируса в резервуарах диких птиц, в 2019 году мы провели мониторинг распространения вирусов гриппа среди птиц, обитающих и встречающихся на пролёте через территорию Жамбылской области. Не имеющая аналогов в центральной Азии орнитологическая станция «Шакпак» расположена в Южном Казахстане в предгорьях Западного Тянь-Шаня и является самым узким местом между хребтами Таласский Алатау и Каратау, где проходит основной миграционный поток птиц из обширных пространств Сибири и Северного Казахстана в Среднюю Азию, Индию и Африку осенью, а весной – обратно.

В настоящем исследовании представлены результаты мониторингового исследования вируса гриппа А циркулировавших на территории орнитологической станции «Шакпак» в 2019 году

Методика исследований. В 2019 году была организована мониторинговая экспедиция и произведен сбор проб от диких птиц в орнитологической станции «Шакпак». Образцы от диких птиц 13 семейств собраны на пролете через орнитологическую стацию «Шакпак», расположенной в Жамбылской области Республики Казахстан. Паутинные сети использовались для отлова обитающих и мигрирующих птиц на орнитологической станции «Шакпак». Из данных представленных в таблице 1 видно, что для исследования в НИИПББ были доставлены 50 проб клоачных смывов. При этом пробы на орнитологической станции «Шакпак» (рисунок 1) были отобраны только от сухопутных птиц.

53

Мазки из клоаки собирали на основе стандартных процедур отбора проб, хранили и транспортировали в жидком азоте. Образцы после доставки в лабораторию до исследования хранили при минус 40 °C.

РНК вируса выделяли с использованием набора QIAamp Viral RNA Mini Kit, Qiagen.

Постановку ОТ-ПЦР в реальном времени для обнаружения вируса гриппа А проводили с помощью специфических праймеров на матриксный ген (M+25, M-124), гемагглютинин (H5+1456, H5-1685) и нейраминидаза (Ba-NA-1, Ba-Na-1413R).

Определение подтипа гемагглютинина H3 и нейраминидазы N8 вируса гриппа A проводили методом ОТ-ПЦР с использованием подтип специфичных праймеров [12, 13].

Реакцию одношаговой ОТ-ПЦР в реальном времени проводили с набором «OneStep RT-PCR Kit», фирмы «Qiagen». Постановку реакции проводили на амплификаторе «Light Cycler 2.0» фирмы «Roche», в соответствии с инструкцией производителя.

Перечень и характеристики проб отобранных от диких птиц представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Виды и количество диких птиц орнитологической станции «Шакпак» Жамбылской области в осенний период 2019 года, от которых взяты смывы

Точка	Координаты	№	Вид птицы	Семейство	Коли- чество птиц	Клоачный смыв
		1	Золотистая щурка (Merops apiaster)	Meropidae	8	+
		2	Бледная ласточка (Riparia diluta)	Hirundinidae	12	+
		3	Деревенская ласточка(Hirundo rustica)	Hirundinidae	11	+
		4	Желтая трясогузка (Motacilla flava)	Motacillidae	5	+
		5	Черноголовый чекан (Saxicola torquata)	Turdidae	1	+
Орнитологичес-		6	Степная пустельга (Falco naumanni)	Falconidae	1	+
кая станция «Шакпак»	N42º 57,095	7	Кашгарский жулан (Lanius isabellinus)	Laniidae	1	+
«шакпак» Жамбыл-ской	E070°64,366	8	Лесной конек (Anthus trivialis)	Motacillidae	2	+
области		9	Пеночка-теньковка (Phylloscopus collybitus)	Sylviidae.	1	+
		10	Большая синица (Parus major)	Paridae	1	+
		11	Черный дрозд (Turdus merula)	Turdidae	1	+
		12	Славка-завирушка (Sylvia curruca)	Sylviidae	2	+
		13	Белая трясогузка (Motacilla alba)	Motacillidae	4	+



Рисунок 1 — Расположение участков отбора проб от диких птиц

Обсуждение результатов. В мире существует 14 основных путей миграции перелетных птиц: восточно-азиатский, дальневосточный, центрально-азиатский, западноевропейский, внутриевропейский, восточно-европейский, евразийско-австралийский, тихоокеанский петлевидный, 4 внутриамериканских и 2 внутриконтинентальных: австралийский и африканский[14].

Центрально-азиатский-Индийский миграционный путь пролегает над странами Индостана и государствами Центральной Азии (Индия, Пакистан, Афганистан, Киргизия, Таджикистан, Восточный Китай, Узбекистан, Казахстан, Восточная Монголия и др.). Восточно-азиатский-Австралийский объединяет в себе территории Австралии, Индонезии, Камбоджа, Таиланд, Мьянма, Китай, Монголия.

По данным МЭБ с 2005 года вышеназванные страны

из любого миграционного пути, хоть однажды, ежегодно имели на своей территории вспышки заболевания гриппа А популяций сельскохозяйственных и диких птиц различных видов [15].

По территории южной части Казахстана, где расположена орнитологическая станция «Шакпак» пролегает Центрально-Азиатско-Индийский пролетный путь, который включает территории Индии, Китая, Японии, России и некоторых других стран. Птицы, мигрирующие этим путем, могут осуществлять перенос патогенных штаммов, эндемичных для азиатских стран, где постоянно регистрируются вспышки, вызванные вирусом подтипов А/H5N1 и А H7N9.

Биологические пробы, доставленные из орнитологическойстанции «Шакпак» были исследованы методом ОТ-ПЦР-РВ на наличие вируса гриппа типа А. Результаты исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты ОТ-ПЦР в реальном времени

No	D	Количество	ОТ-ПЦР в реальном	ОТ-ПЦР на
JNO	Вид птицы	исследованных проб	времени на ВГА, %	A/H3N8, %
1	Золотистая щурка (Merops apiaster)	8	0	0
2	Бледная ласточка (Riparia diluta)	10	0	0
3	Деревенская ласточка(Hirundo rustica)	12	0	0
4	Желтая трясогузка (Motacilla flava)	5	0	0
5	Черноголовый чекан (Saxicola torquata)	1	0	0
6	Степная пустельга (Falco naumanni)	1	0	0
7	Кашгарский жулан (Lanius isabellinus)	1	0	0
8	Лесной конек (Anthus trivialis)	2	0	0
9	Пеночка-теньковка (Phylloscopus collybitus)	1	0	0
10	Большая синица (Parus major)	1	0	0
11	Черный дрозд (Turdus merula)	1	0	0
12	Славка-завирушка (Sylvia curruca)	3	0	0
13	Белая трясогузка (Motacilla alba)	4	2 пробы (4,0 %)	2 пробы (4,0 %)

В результате проведенных исследований установлено, что из проб, доставленных в 2019 году из орнитологической станции «Шакпак» 4 % положительно реагировали в ОТ-ПЦР в реальном времени на грипп А. Вирус гриппа типа А на пролете через станцию «Шакпак» в 2019 году был выявлен у птицы белая трясогузка (Motacilla alba) семейства *Motacillidae*.

Изчетырех птиц белой трясогузки две птицы показали положительный результат на вирус гриппа типа А. При исследовании данных проб на субтипы Н5 и Н7 были получены отрицательные результаты. Данные пробы показали положительный результат на субтип Н3N8 вируса гриппа А.

Исследование циркуляции вируса гриппа среди диких птиц на их пролетных путях является ключом к пониманию механизмов распространения вируса. Территория Казахстана играет важную географическую роль в распространении вируса гриппа, способствуя его переносу дикими птицами из Юго-Восточной Азии в Европу и Северную Африку. Здесь сходятся два из важнейшего миграционного пути: Центрально-Азиатско-Индийский и Западно-Азиатско-Африканский. Летящие по ним птицы используют территорию Казахстана для линьки и остановок на пролете. Территория Казахстана играет важную роль в экологии вирусов птичьего гриппа из-за ее физиографических характеристик и структуры ее авифауны. В республике гнездятся и встречаются на пролете около 540 видов птиц, 32 из которых являются глобально угрожаемыми. 57 видов включены в Красную книгу Казахстана [16]. В мелких озерах, расположенных на территории Северо-Казахстанской области в период гнездования и миграционных перелетов встречаются популяции диких птиц Африки, Европы, Средней и Южной Азии, что способствует занесению различных вариантов ВГА из достаточно отдаленных географических районов. Передача гриппа между различными видами может привести к генетической реассортировке различных вирусов гриппа А и появлению новых подтипов.

**Заключение.** По результатам работ от диких сухопутных птиц 13 семейств, обитающих в орнитологической станции «Шакпак» проведен сбор биологических образцов в виде клоачных смывов. В результате лабораторных исследовании в 4 % биологических образцах от диких птиц был выявлен вирус гриппа типа А/H3N8. Вирус гриппа типа А на пролете через станцию «Шакпак» в 2019 году был выявлен у птицы белая трясогузка (Motacilla alba) семейства *Motacillidae*. Из четырех птиц белой трясогузки две птицы показали положительный результат на вирус гриппа А/H3N8.

**Источник финансирования.** Работа выполнена в рамках проекта грантового финансирования №AP05132659 «Молекулярно-эпизоотологический мониторинг гриппа птиц в Казахстане» на 2018-2020 годы.

#### ЛИТЕРАТУРА

- 1 Zarkov I. Ecological features of influenza A virus infection in wild birds // Bulg J Vet Med. 2008. 11. 1. P. 13-20.
- 2 Oxford J.S. Influenza A pandemics of the 20th century with special reference to 1918: virology, pathology and epidemiology // Rev. Med. Virol. -2000. -10 (2). -P. 119-33.
- 3 Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T., Chambers T.M., Kawaoka Y. Evolution and ecology of influenza A viruses // Curr Top Microbiol Immunol. 1992. 56. P. 152-179.
- 4 Fouchier R.A., V. Munster, A. Wallensten, T.M. Bestebroer, S. Herfst, D. Simth, G.F. Rimmelzwaan, B. Olsen, A.D. Osterhaus. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls // J. Virol. 2005. 79. P. 2814-2822.
- 5 Xie Z., Xie L., Zhou C., Liu J., Pang Y., Deng X., Xie Z., Fan Q. Complete genome sequence analysis of an H6N1 avian influenza virus isolated from Guangxi pockmark ducks // J. Virol. 2012. 86. P. 13868-13869.

- 6 Xie Z., Guo J., Xie L., Liu J., Pang Y., Deng X., Xie Z., Fan Q., Luo S. Complete genome sequence of a Novel reassortant Avian Influenza H1N2 virus isolated from a domestic sparrow in 2012 // Genome Announc. 2013. 1 (4):e00431-13. 10.1128/genome A.00431-13. 1128/JVI.02700-12
- 7 Alexander D.J. An overview of the epidemiology of avian influenza // Vaccine. 2007. Vol. 25 (30). P. 5637-5644.
- 8 Lee C.W. Avian influenza virus / C.W. Lee, Y.M. Saif // Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 2009. Vol. 32. P. 301-310.
- 9 Tong S., Zhu X., Li Y., Shi M., Zhang J., Bourgeois M., Yang H., Chen X., Recuenco S., Gomez J., Chen L.M. New world bats harbor diverse influenza A viruses // PLoS. P. 2013. Vol. 9 (10). P. e 003657.
- 10 Гендон Ю.3. Пандемия гриппа: предположения и факты // Микробиология, эпидемиология и иммунология. -2008. № 5. C. 109-118.
- 11 Смородинцев А.А. Гипотезы и факты о происхождении пандемических штаммов вируса гриппа А // Вопросы вирусологии. -1975. -№ 1. C. 105-113.
- 12 Kenji Tsukamoto, Hisayoshi Ashizawa, Koji Nakanishi, Noriyuki Kaji, Kotaro Suzuki, Masatoshi Okamatsu, Shigeo Yamaguchi, Masaji Mase All Rights Reserved. Subtyping of Avian Influenza Viruses H1 to H15 on the Basis of Hemagglutinin Genes by PCR Assay and Molecular Determination of Pathogenic Potential // Journal of clinical microbiology. 2008. Vol. 46, No. 9. P. 3048-3055. doi:10.1128/JCM.02386-07.
- 13 Kenji Tsukamoto, Takayoshi Ashizawa, Koji Nakanishi, Use of Reverse Transcriptase PCR To Subtype N1 to N9 Neuraminidase Genes of Avian Influenza Viruses // J Clin Microbiol. 2009. 47 (7). P. 2301-2303 14 http://earthpapers.net/monitoring-infektsionnyh-bolezney-dikih-ptits.
- 15 Прокудин А.В. Эпизоотический мониторинг гриппа А среди диких водоплавающих птиц и птиц околоводного комплекса на территории полуострова Таймыр: автореф. дис ... канд. вет. наук. Новосибирск, 2009.-22 с.
  - 16 Sklyarenko S.L. Research on Important Bird Areas in Kazakhstan and Middle Asia. Almaty, 2006. 227 p.

### ФИТОСАНИТАРИЯ

УДК 582.282: 575.174.015.3

### Г.Ш. Ыскакова, М.Ж. Байгутов, А.М. Асраубаева, А.С. Рсалиев

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

### СКРИНИНГ КОЛЛЕКЦИИ СОРТОВ И ЛИНИЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ ПО УСТОЙЧИВОСТИ К СТЕБЛЕВОЙ И ЛИСТОВОЙ РЖАВЧИНЕ

Аннотация. В настоящее время, в связи с появлением новых рас патогенов, изучение устойчивости сортов пшеницы к ржавчинным болезням становится одним из обсуждаемых вопросов и вызывает интерес со стороны фитопатологов, генетиков и селекционеров. Причина этого интереса заключается в сопряженной эволюции растения-хозяина и паразита — с одной стороны учеными создаются новые устойчивые сорта пшеницы и, с другой стороны, в природе образуются вирулентные расы стеблевой и листовой ржавчины, преодолевающие устойчивость этих сортов. В связи с этим на искусственном инфекционном фоне листовой и стеблевой ржавчины, изучены коммерческие и новые сорта, сорта ловушки ржавчины, перспективные линии яровой пшеницы Казахстана, ближнего и дальнего зарубежья. В результате всесторонних изучений отобраны сортообразцы яровой пшеницы, проявляющие высокую степень полевой устойчивости к двум видам ржавчины в фазе взрослых растений.

Ключевые слова: пшеница, сорт, линия, стеблевая ржавчина, листовая ржавчина, устойчивость.

#### Г.Ш. Ысқақова, М.Ж. Байгутов, А.М. Асраубаева, А.С. Рсалиев

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

# САБАҚ ЖӘНЕ ЖАПЫРАҚ ТАТЫНА ТӨЗІМДІЛІГІ БОЙЫНША ЖАЗДЫҚ БИДАЙ СОРТТАРЫ МЕН ЛИНИЯЛАРЫНЫҢ КОЛЛЕКЦИЯСЫНА СКРИНИНГ ЖҮРГІЗУ

**Аннотация.** Қазіргі уақытта патоген қоздырғыштарының жаңа расалары пайда болуына байланысты бидай сорттарының тат ауруларына төзімділігін зерттеу кең талқыланатын мәселелердің біріне айналды және

фитопатологтар, генетиктер және селекционерлер тарапынан қызығушылық тудырады. Бұл қызығушылық өсімдік пен паразиттің біріккен эволюциясы әсерінен туындайды, яғни бір жағынан ғалымдар бидайдың жаңа төзімді сорттарын шығарады, ал екінші жағынан, сабақ және жапырақ татының жаңа расалары табиғатта қалыптаса отырып осы сорттардың төзімділігін жеңеді. Осыған байланысты, жапырақ пен сабақ татының жасанды індет фонында, Қазақстандық, жақын және алыс шетелдік жаздық бидайдың коммерциялық және жаңа сорттары, татты жинақтау сорттары және болашағы зор линиялары зерттелді. Кешенді зерттеулер нәтижесінде ересек өсімдік фазасында таттың екі түріне жоғары төзімділік көрсететін жаздық бидай үлгілері сұрыпталды.

Түйін сөздер: бидай, сорт, линия, сабақ таты, жапырақ таты, төзімділік.

G.Sh. Yskakova, M.Zh. Baygutov, A.M. Asraubaeva, A.S. Rsaliyev RGE «Research Institute for Biological Safety Problems» GS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan

## SCREENING OF SPRING WHEAT VARIETIES AND LINE TO STEM AND LEAF RUST RESISTANCE

Abstract. Currently, due to emergence of new races of pathogens, studying of wheat varieties to rust diseases-resistance became the most discussed issue and rises interest of plant pathologists, geneticists and breeders. The importance associated on the plant-pathogen co-evolution, on the one hand, scientists create new resistant wheat varieties and, the other hand, virulent races of the stem and leaf rust forming in nature, overcoming the resistance of these varieties. Therefore, commercial and new varieties, rust traps varieties, synthetic lines of spring wheat of Kazakhstan, near and far abroad have been studied on the artificial infectious conditions of leaf and stem rust. As a result of comprehensive studies, spring wheat variety samples were selected, showing a high field resistance level to two types of rust in the adult plants stage.

**Keywords:** wheat, variety, line, stem rust, leaf rust, resistance.

Введение. Казахстан имеет самые высокие показатели производства пшеницы: общая площадь, засеянная пшеницей, достигает 13-14 млн га, что составляет 82,4 % от общей площади пшеницы в Центральной Азии. Кроме того, Казахстан является самым крупным производителем пшеницы в этом регионе с общим объемом 9,6 млн тонн в год [1]. В хозяйствах страны в основном используются казахстанские и российские сорта пшеницы с различной фитопатологической характеристикой. Лимитирующим фактором получения высоких урожаев пшеницы, наряду с неблагоприятными погодными условиями, слабой материально-технической базой хозяйств, недостатком удобрений, нарушением севооборотов является неудовлетворительное фитосанитарное состояние посевов и возделывание восприимчивых к болезням сортов пшеницы. В Казахстане, как и во всех зерносеющих регионах мира, среди болезней пшеницы распространенными являются листовая и стеблевая ржавчины [2-7].

В Казахстане проблемой устойчивости пшеницы к ржавчинным болезням занимаются отдельные ученые в разных научных организациях. При этом М. Койшибаев [2, 3, 5] определил распространение возбудителей ржавчины на территории республики. Сарбаев А. и др. [8] оценили устойчивость озимой пшеницы к заболеваниям, Кохметова А. и др. [9, 10] с использованием молекулярных маркеров идентифицировали носителей генов устойчивости пшеницы к видам ржавчины. Сотрудники нашего института (НИИПББ) отобрали устойчивые формы на инфекционном фоне [11, 12] и изучили патогенные свойства возбудителей ржавчины пшеницы [4, 13]. Результаты анализа литературы и собственных исследований показывают, что в Казахстане, несмотря на работу по скринингу гермоплазмы, выявлению источников генов устойчивости и вовлечению их в селекционный процесс, среди коммерческих сортов пшеницы очень мало устойчивых к ржавчине. Многие казахстанские сорта пшеницы, обладающие стабильной урожайностью, высоким качеством зерна и экологической пластичностью, на инфекционном фоне сильно поражаются ржавчиными болезнями. Это может привести к большим потерям в аграрном секторе, в случае появления эпифитотии.

Целью данной работы было определение полевой устойчивости коллекции сортов и линий яровой пшеницы к стеблевой и листовой ржавчине.

**Материалы и методы.** Сорта и образцы мягкой (*T. aestivum* L.) и твердой пшеницы (*T. durum* Desf.) отечественного и зарубежного происхождения были основными объектами экспериментов. Всего изучено 238 сортообразцов пшеницы, в том числе: коммерческие сорта яровой пшеницы (45 сортов), Казахско-Сибирский питомник яровой твердой пшеницы (сокращенное название питомника КАСИБ-ЯТП, 26), Международный набор сортов-ловушек стеблевой ржавчины (ISRTN, 74) и листовой ржавчины (ILRTN,84), цисгенные линии яровой пшеницы (9).

Полевые эксперименты проводили в 2018 году на базе «Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности», расположенного в пгт. Гвардейский Кордайского района Жамбылской области. Почва — серозем аллювиального происхождения, удобренный перегноем. Полевой участок после отвальной вспашки и боронования обрабатывали культиватором SOLO 503. Семена сеяли вручную на делянках,

площадью 0,4-3,0 м² с междурядьями 20 см и длиной рядка 100-300 см. В каждый рядок, соответственно, высевали по 65-80 зерен. Для накопления и распространения инфекции в питомнике, между ярусами, посеяли восприимчивые сорта-спредеры, в качестве которых служили Казахстанская 10 и Саратовская 29. Для создания благоприятных условий на развитие растений и возбудителей ржавчины опытные делянки регулярно поливали и опрыскивали водой [14].

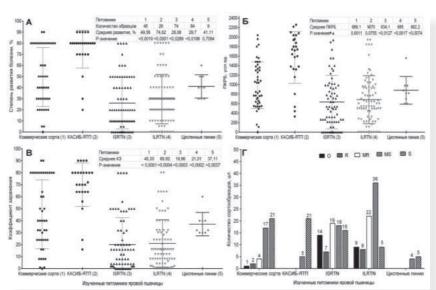
Весной, в фазе кущения, посевы яровой пшеницы заражали урединиоспорами стеблевой и листовой ржавчины. Для заражения использовали только местную популяцию грибов, либо смесь изолятов с определенной вирулентностью. Взятый для заражения инокулюм активировали при температуре 37-40 °C в течение 30 минут с последующим обводнением во влажной камере при температуре 18-22 °C в течение 2-4 часов. Инфекционный материал на растения наносили методом опрыскивания водной суспензией спор с 0,001 % Твин 80 по Э.Э. Гешеле [15]. Заражение растений проводили вечером в безветренную погоду после предварительного полива и увлажнения листьев растений опытных посевов. Инфекционная нагрузка спор составила 20 мг/м². После заражения делянки накрывали полиэтиленовой пленкой на 16-18 часов для создания высокой влажности.

В течение вегетационного периода оценка полевой устойчивости к листовой и стеблевой ржавчине проводилась трижды, с интервалом в две недели, начиная с момента появления первых пустул по установленным шкалам. Тип инфекции (в баллах) стеблевой ржавчиной определяли по шкале Stakman et al. [16], листовой – Е.Е. Mains и H.S. Jackson [17]. При этом 0 баллов означает иммунность, 1 – устойчивость (Resistant – R), 2 – умеренная устойчивость (Moderate Resistant – MR), 3 – умеренная восприимчивость (Moderate Susceptible – MS), 4 – восприимчивость (Susceptible – S), соответственно [18]. Степень поражения болезнями (в %) оценивали по шкале R.F. Peterson и др. (модифицированная шкала Кобба) [19]. В качестве показателя, характеризующего неспецифическую устойчивость сорта, использовали критерий скорости нарастания болезни, выражаемый площадью под кривой развития болезни (ПКРБ) [20].

По рекомендации СИММИТ [18, 21], данные учетов интенсивности поражения и типа инфекции растения-хозяина, определенные в полевых условиях, фитопатологи-исследователи стали обозначать отдельной величиной, называемой коэффициентом инфекции (КИ). В связи, с чем мы также в своих экспериментах определяли КИ на изучаемых сортах пшеницы. Следовательно, КИ рассчитывали, умножая степень поражения на константы типа реакции растений-хозяина. Эти константы для разных типов реакции составляют следующие величины: иммунная реакция = 0,0; R=0,2; MR=0,4, MS=0,8, S=1,0. При этом использование двух разных факторов для расчета может привести к получению одинаковых или близких величин КИ от разных значений этих учетных факторов. В целом низкие значения КИ отражают низкие уровни интенсивности поражения [18, 21].

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакетов программы GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, Inc., La Jolla, CA, USA). Различия считали статистически достоверными при P<0,05.

Основные результаты исследований. В полевых условиях на искусственном инфекционном фоне все изученные сортообразцы охарактеризованы по следующим критериям и показателям: степень развития болезней (СРБ); площадь под кривой развития болезни (ПКРБ); коэффициент инфекции (КИ); тип реакции (ТР). Анализ результатов полевой оценки питомников яровой пшеницы на устойчивость к стеблевой и листовой ржавчине, представлены на рисунках 1 и 2. В результате многие изученные коммерческие сорта яровой пшеницы в полевых условиях показали восприимчивость к стеблевой ржавчине (средняя СРБ 49,56 %, ПКРБ 989,1 усл.ед., КИ 45,33), за исключением 3 сорта твердой пшеницы (СИД 88, Оренбургская 10 и Наурыз 6). Данные сорта проявили высокоустойчивую реакцию на заражение патогеном – 0 и 1



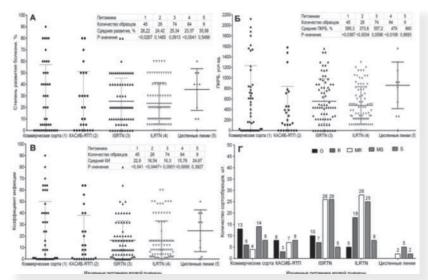
балл, степень поражения до 5 %, КИ до 1, ПКРБ до 160 у.е. Они могут характеризоваться как сорта с замедленным типом развития болезни, а также представлять ценность в качестве источников устойчивости к данному патогену.

А – степень развития болезни на сортообразцах яровой пшеницы; Б – площадь под кривой развития болезни; В – коэффициент инфекции; Г – распределение сортообразцов по типу устойчивости к болезни Рисунок 1 – Данные полевой устойчивости сортообразцов яровой пшеницы к стеблевой ржавчине

В питомнике КАСИБ-ЯТП не обнаружены устойчивые сорта к болезни (средняя степень поражения сортов 74,62 %). Кроме того, определены устойчивости цисгенных линий мягкой пшеницы с геном хитиназы класса I к болезни. Следует отметить, что изученные нами цисгенные линии, ранее получены с использованием сорта Саратовская 29 и метода биобаллистической трансформации растений целевым геном в Институте молекулярной биологии и биохимии им. М.А. Айтхожина. В результате среди них не выявлены высокоустойчивые линии к стеблевой ржавчине, в частности у них тип реакции 3 и 4 балла, степень поражения от 30 до 60 %, ПКРБ от 600 до 1560 у.ед., КИ от 30 до 60.

Высокая неоднородность по устойчивости к стеблевой ржавчине отмечена в питомниках ISRTN и ILRTN, сформированных в СИММИТе с привлечением сортов и линий с известными Sr- и Lr-генами устойчивости к болезням. В результате наших исследований в составе этих питомников выявлены сорта и линии, как без симптомов болезни, так и с поражениями разной степени (рисунок 2).

Изученные нами сортообразцы в питомниках яровой пшеницы проявили различную реакцию на заражение листовой ржавчиной. Среди коммерческих сортов иммунными и высокоустойчивыми были три сорта мягкой пшеницы (Любава 5, Кондитерская, Омская 37) и пятнадцать сортов твердой пшеницы (Алтын дала, Дамсинская янтарная, Дамсинская юбилейная, Костанайская 12, Костанайская 52, Корнона, Лавина, Наурыз 6, Омский рубин, Оренбургская 2, Оренбургская 10, Омский изумруд, Омская янтарная, Светлана и СИД 88). В питомнике КАСИБ-ЯТП слабовосприимчивую реакцию с типом реакции 0, 1 балла, степенью поражения до 5 %, КИ до 1, ПКРБ до 110 у.е. показали одиннадцать сортов: Каргала 223, Гордеиформе 2383, Линия 9-25-016, Гордеиформе 05-12-7, Леукурум 1506-36, Аннушка, Луч 25, Леукурум 1469-21, Гордеиформе 2264, Гордеиформе 05-42-12. Среди цисгенных линий не выявлены высокоустойчивые линии к листовой ржавчине, только две линии (Т-7 и Т-8) проявили умеренную устойчивость к листовой ржавчине.



A — степень развития болезни на сортообразцах пшеницы; B — площадь под кривой развития болезни; B — коэффициент инфекции;  $\Gamma$  — распределение сортообразцов по типу устойчивости к болезни Рисунок 2 — Данные полевой устойчивости сортообразцов яровой пшеницы к листовой ржавчине

Из питомников ISRTN и ILRTN в полевых условиях испытано всего 154 сорта, образца и линий яровой пшеницы. Результаты опыта показали, что зарубежные образцы в указанных питомниках в большинстве случаев

являются константными по устойчивости к листовой ржавчине и отличаются низкорослостью, большим потенциалом урожайности и другими ценными свойствами. В результате негативного и позитивного отборов для дальнейшего изучения выделили 19 сортов пшеницы с высокой устойчивостью к листовой ржавчине: Agatha, Aghram, Ammar-3, Arrehane, Atlas-1, Belikh-2, Bohouth 9, PBW 343, Cham-10, Chili, Gatcher, Geromtel-1, Guard, Hidhab, Manitou, Karim, Nesma, Potam, Sebou.

Наибольший интерес для повышения селекции на болезнеустойчивость представляют образцы, сочетающие групповую устойчивость к нескольким патогенам. Из всего 5 питомников яровой пшеницы выделено 16 сортов-источников, устойчивых к двум изученным болезням, что составляет всего лишь 6,7 % от их числа, получивших полевую оценку в данном эксперименте. Из них два сорта (Наурыз 6 и Омский изумруд) являются *T.durum*, остальные сорта – *T.aestivum* зарубежной селекции. Характеристика отобранных сортов яровой пшеницы по полевой устойчивости к стеблевой и листовой ржавчине показана в таблице.

Таблица — Характеристика отобранных сортов яровой пшеницы по полевой устойчивости к стеблевой и листовой ржавчине

		Стеблевая р	эжавчина			Листовая ржа	авчина	
Сорта	ТР, балл	степень поражения %	ПКРБ, у.е.	КИ	ТР, балл	степень поражения %	ПКРБ	КИ
Наурыз 6	1	5	110,0	1	0	0	0,0	0
Омский изумруд	0	0	0,0	0	0	0	0,0	0
Fleming	0	0	0,0	0	1	10	220,0	2

Arrehane	1	10	270,0	2	0	0	0,0	0
Guard	0	0	0,0	0	0	0	0,0	0
Cham-10	0	0	0,0	0	1	5	110,0	1
PBW 343	1	10	220,0	2	1	5	110,0	1
Icasyr-1	0	0	0,0	0	1	5	110,0	1
Sebou	0	0	0,0	0	1	5	110,0	1
Belikh-2	0	0	0,0	0	1	5	110,0	1
Atlas-1	1	5	160,0	1	0	0	0,0	0
Ammar-3	0	0	0,0	0	0	0	0,0	0
Aghram	0	0	0,0	0	1	5	110,0	1
Bohouth 9	1	5	110,0	1	0	0	0,0	0
Bohouth 11	1	5	110,0	1	2	5	110,0	2
Manitou	2	10	270,0	4	2	20	440,0	8

Обсуждение полученных данных. По литературным данным в последние годы на севере Казахстана и в сопредельной Омской области России, где преимущественно возделывают яровую пшеницу, стеблевая ржавчина стала одной из основных болезней. Как следствие, в 2015-2017 годы в Костанайской, Северо-Казахстанской и Акмолинской областях Казахстана и Омской области России отмечено эпифитотийное развитие стеблевой ржавчины, и потери зерна доходили до 30-40 % [2]. В указанных регионах в период 2001-2016 годы эпифитотийное развитие листовой ржавчины, в отдельности или в комплексе с септориозом, на яровой пшенице происходило 8 раз [2, 3, 5]. В связи с этим в данной работе охарактеризованы коммерческие и новые сорта, сорта ловушки ржавчины, перспективные линии яровой пшеницы Казахстана, ближнего и дальнего зарубежья по признакам полевой устойчивости к стеблевой и листовой ржавчине.

Анализ результатов полевых опытов показывает, что такие показатели, как СРБ, ТР, ПКРБ и КИ являются надежными критериями определения расонеспецифического типа устойчивости, и их можно использовать в опытах с видами ржавчины пшеницы. Они дифференцируют различные, по восприимчивости, генотипы растения-хозяина в зависимости от вирулентности патогена. Результаты опыта показали, многие изученные коммерческие сорта яровой пшеницы, в полевых условиях, не обладают устойчивостью к листовой и стеблевой ржавчине, что согласуется с ранее полученными данными [2, 3, 5, 6]. В изученной выборке выявлено 16 (6,7 % от числа испытанных образцов) сортообразцов яровой пшеницы отечественного и зарубежного происхождения, проявляющих высокую степень полевой устойчивости к двум видам ржавчины.

**Заключение.** Таким образом, изучение сортообразцов яровой пшеницы на искусственных инфекционных фонах позволило выявить ценные формы пшеницы по устойчивости к видам ржавчины. Отобранные образцы пшеницы в полевых условиях представляют большой интерес для использования в селекции не только в Казахстане, но и в других соседних странах.

**Благодарность.** Работа была выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Республики Казахстан в рамках программы грантового финансирования на 2018-2020 годы (грант №AP05132236).

#### ЛИТЕРАТУРА

- 1 Мониторинг и обследование болезней, вредителей и сорных растений на посевах зерновых культур (Отчет по Центральной Азии за 2012 год) // Субрегиональный офис ФАО по Центральной Азии (ФАО-СЕК). 2012. С. 28.
  - 2 Койшибаев М.К. Болезни пшеницы. Турция: ФАО, 2018. 366 с.
- 3 Койшыбаев М. Риск распространения бурой, стеблевой и желтой ржавчины, септориоза и желтой пятнистости на зерновых культурах РК // Атлас природных и техногенных опасностей и рисков чрезвычайных ситуаций. Алматы, 2010. С. 206-208.
- 4 Rsaliyev Sh., Tileubaeva Zh., Agabaeva A., Rsaliyev A. Virulence of wheat leaf, stem and yellow rust pathotypes in Kazakhstan // The Asian and Australasian Journal of Plant Science and Biotechnology. 2010. Vol. 4. Supecial Issue 1. P. 71-76.
- 5 Койшыбаев М. Мониторинг и прогноз развития особо опасных болезней в Казахстане // Фитосанитарная оптимизация агроэкосистем: матер. третьего Всероссийского Съезда по защите растений. СПб, 2013. С. 242-245.
- 6 Morgounov A., Rosseva L., Koyshibayev M. Leaf rust Wheat in Northern Kazakhstan and Siberia // Australian Journal of Agricultural Research. 2007. Vol. 56. P. 847-853.
- 7 Kokhmetova A., Morgunov A., Rsaliev S., Rsaliev A., Yessenvekova G., Typina L. Wheat germplasm screening for stem rust resistance using conventional and molecular techniques // Czech j. Genet. Plant Breed. 2011. Vol.47. P. 146-154.
- 8 Pretorius Z.A., Singh R.P., Wagoire, W.W., Payne T.S. Detection of virulence to wheat stem rust resistance gene Sr31 in Puccinia graminis f. sp. tritici in Uganda // Plant Dis. 2000. Vol. 84. 203 p.
- 9 Kokhmetova A., Madenova A., Kampitova G., Urazaliev R., Yessimbekova M., Morgounov A., Purnhauser L. Identification of leaf rust resistance genes in wheat cultivars produced in Kazakhstan // Cereal Research Communications. 2016. 44 (2). P. 240–250.

- 10 Kokhmetova A.M., Atishova M.N. Identification of sources of resistance to wheat stem rust using molecular markers // Russian Journal of Genetics: Applied Research, -2012. Vol. 2 (6). P. 486-493.
- 11 Турова Н.А., Рсалиев Ш.С., Давлетбекова Т.Т. Создание коллекции сортообразцов пшеницы, устойчивых к видам ржавчины // Биотехнология. Теория и практика. 2000. № 3-4. С. 46-47.
- 12 Агабаева А.Ч., Рсалиев Ш.С. Характеристика сортов озимой пшеницы по устойчивости к листовой ржавчине в условиях юго-востока Казахстана // Исследования, результаты. − 2009. № 2. С. 90-94.
- 13 Агабаева А.Ч., Рсалиев Ш.С. Патогенные свойства возбудителя листовой ржавчины пшеницы (*Puccinia triticiana Eriks*.) в Казахстане // Новости науки Казахстана. 2013. № 1. С. 66-74.
- 14 Рсалиев Ш.С., Тилеубаева Ж.С., Рсалиев А.С., Агабаева А.Ч. Методы выявления ценных сортов зерновых культур среди интродуцированных селекционных материалов // Методическая рекомендация. Гвардейский, 2004. 15 с. Инв. № 828.
- 15 Гешеле Э.Э. Методы заражения растений и учета его результатов в селекции // Основы фитопатологической оценки в селекции растений. Москва: Колос, 1978. С.129-159.
- 16 Stakman E.C. Stewart D.M., Loegering W.Q. Identification of physiologic races of *Puccinia graminis* var. *tritici* // U.S. Agric. Res. Serv. 1962. Vol. 617. P. 1-53.
- 17 Mains E.B., Jackson H.S. Physiologic specialization in the leaf rust of wheat *Puccinia triticiana Erikss* // Phytopathology. 1926. Vol. 16. 2. P. 89-120.
- 18 Roelfs A., Singh R., Saari E.E. Rust diseases of wheat: concepts and methods of disease management // CIMMYT, Mexico. 1992. 45 p.
- 19 Peterson R.F., Campbell A.B., Hannah A.E. A diagrammatic scale for estimating rust intensity on leaves and stems of cereals // Canad. J. Res. 1948. Vol. 26. P. 496-500.
- 20 Wilcoxson R.D., Skovmand B., Atif A.H. Evaluation of wheat cultivars for ability to retard development of stem rust // Annual Applied Biology. 1975. P. 275-281.
- 21 Stubbs R.W., Prescott J.M., Saari E.E., Dubin H.J. Cereal disease methodology manual // CIMMYT, Mexico. 1986. 46 p.



ӘОЖ 636.32/.38

### <sup>1</sup>А.Ә. Стамқұлова, <sup>2</sup>М.Д. Алмежанова, <sup>1</sup>А.А. Тлепов

<sup>1</sup>М.Х. Дулати атындағы Тараз мемлекеттік университеті, Тараз, Қазақстан stamkulova95@mail.ru

<sup>2</sup>ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМК, Гвардейский қтп., Қазақстан meirima\_89@mail.ru

### ЖАМБЫЛ ОБЛЫСЫНДА ӨСІРІЛЕТІН ОҢТҮСТІК ҚАЗАҚ МЕРИНОСЫНЫҢ ЖҮН ӨНІМДІЛІГІНІҢ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІ

**Аннотация.** Ресми мәліметтер мен статистикалық деректерге сай Жамбыл облысы қой шаруашылығының қазіргі дамуы тұрғысынан, қой мен ешкінің саны ғана емес, өнімділік көрсеткіштері жағынан да республикадағы көшбасшы өңір болып табылады.

Мақала өңіріміздің осындай жетістігінің негізін қалайтын басты бір жағдайды қарастырамыз. Бір сөзбен айтқанда, Жамбыл облысындағы қалыптасқан қазіргі қой шаруашылығының дамуына маңызды бір фактор – өңірде өсіріліп жатқан қой тұқымдарының әсері зор. Биязы жүнді қой шаруашылығындағы басты өсірілетін тұқым – жүнді-етті бағыттағы оңтүстік қазақ мериносы. Сондықтан осы өңірде өсірілетін оңтүстік қазақ мериносының жүн өнімділігінің ерекшеліктеріне тоқталамыз.

Түйін сөздер: Оңтүстік қазақ мериносы, биязы жүнді қой, Жамбыл облысы.

#### <sup>1</sup>А.А. Стамкулова, <sup>2</sup>М.Д. Алмежанова, <sup>1</sup>А.А. Тлепов

<sup>1</sup>Таразский государственный университет имени М.Х. Дулати, г. Тараз, Казахстан <sup>2</sup>РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Казахстан

### ОСОБЕННОСТИ ПРОДУКТИВНОСТИ ШЕРСТИ ЮЖНО КАЗАХСКОГО МЕРИНОСА ЖАМБЫЛСКОЙ ОБЛАСТИ

**Аннотация.** Согласно официальным данным и статистике Жамбылская область является лидером в стране с точки зрения современного развития овцеводства не только по количеству овец и коз, но и по продуктивности.

В статье рассматривается одна из главных причин такого успеха в нашем регионе. Одним словом, одним из важнейших факторов развития современного овцеводства в Жамбылской области является влияние пород овец в регионе. Основной породой тонкорунного овцеводства является южно-казахский меринос шерстно-мясного направления. Поэтому остановимся на особенностях продуктивности шерсти южно-казахского мериноса, выращенного в этом регионе.

Ключевые слова: южно-казахский меринос, тонкорунная овца, Жамбылская область.

#### <sup>1</sup>A.A. Stamkulova, <sup>2</sup>M.D. Almezhanova, <sup>1</sup>A.A. Tlepov

<sup>1</sup>Taraz State University named after M.Kh. Dulaty, Taraz, Kazakhstan <sup>2</sup>RGE "Research Institute for Biological Safety Problems" CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan

# FEATURES OF WOOL PRODUCTIVITY OF THE SOUTH KAZAKH MERINOS OF THE ZHAMBIL REGION

**Abstract.** According to official data and statistics, Zhambyl oblast is a leader in the country in terms of the modern development of sheep husbandry, not only in terms of the number of sheep and goats, but also in productivity.

The article discusses one of the main reasons for such success in our region. In a word, one of the most important factors in the development of modern sheep breeding in the Zhambyl oblast is the influence of sheep breeds in the region. The main breed of fine fleece sheep breeding is the South Kazakh merino wool-meat direction. Therefore, let us dwell on the productivity features of the wool of the South Kazakh merino grown in this region.

**Keywords:** South Kazakh merino, fine wool sheep, Zhambyl region.

**Кіріспе.** Оңтүстік қазақ мериносы - жүн, ет өндіру бағытында өсірілетін биязы жүнді қой тұқымы. Жаңа тұқым ретінде 1970 жылы қабылданды. Қылшық жүңді казақы саулықтарды Кавказ, Ставрополь,

Алтай, Совет мериносы, Грозный тұқымдарының қошқарларымен будандастыру арқылы шығарылған. Қазақстанның оңтүстік аймағында жайылымда бағып өсіруге жақсы бейімделген. Қошқарлары - 90-115 кг, саулықтары – 50-55 кг тартады. Қошқарынан – 10-12 кг, саулығынан – 4-4,5 кг жүн қырқылады. Таза жүн шығымы – 48-50 %. Жүнінің ұзындығы – 8-8,5 см, биязылығы – 64 сапа. Оңтүстік қазақ мериносының таңдаулы отарлары Оңтүстік Қазақстан облысының "Күйік", Жамбыл облысының "Мерке" асыл тұқымды қой зауыттарында өсіріледі.

Қазақстанда шығарылған бірінші тұқымдардың бірі қазақтың биязы жүнді қой тұқымын шығару негізі — Алматы облысының жағдайында ВАСХНИЛ академиясының басшылығында белгілі ғалым Бальмонт В.А. [1] жетекшілігімен алпысыншы жылдардың басында бір топ ғалымдардың бағытты түрде жүргізіле бастады. Осы мақсатта 1959-1962 жылдары Англия мен Аргентинадан линкольн, ромни-марш және бордер-лейстер ұзын жүнді тұқымдарының таза тұқымдық қойлары мен саулық қойлары әкелінген. Республикамыздың әртүрлі табиғи-климаттық аймақтарында: оңтүстік-шығыс, шығыс және солтүстік Қазақстанның көп аудандарында шағылыстыру жүргізіледі.

Әдеми мағлұматтарға сүйенсек, Есенеев Т.Қ. Көкшетау облысында етті-жүнді биязылау жүнді қошқарларды биязы жүнді қойлармен шағылыстыру жұмыстарын жүргізген.

Жұмыс үш будан аралас қанды (линкольн х советтік меринос, ромни-марш х советтік меринос) аналық отарда және екі биязы жүнді советті меринос тұқымдарында жүргізілген. Барлық аналық отарлар Омбы тұқымдық тобын етті-жүнді қойларының қошқарларымен шағылыстырылған.

Мержинский Е.Г. [2] биязы жүнді аналық малды, көбінесе кавказ тұқымын және олардың биязықылшық жүні будандарын линкольн, ромини-марш аргентиналық репродукция және жартылай солтүстік кавказ етті-жүнді таза тұқымды қошқарларымен шағылыстырған. Бірінші ұрпақтағы будандарды жоғарыда көрсетілген тұқымдардың қошқарларымен қайтадан шағылыстырған. Ал екінші ұрпақтағы ұнамды типтегі қойларды, жақсратушы етті-жүнді қойлардың <sup>3</sup>/<sub>4</sub> қаны барын «өз ішінде» өсірген.

Жаңа жеке түрдің ұнамды типтегі қойлары жақсы көрсетілген етті-жүнді типімен және ұзын жүнділігімен ерекшеленеді. Малдар жоғары өнімділік сапасымен сипатталады: қошқарлардың тірі салмағы — 92-93 кг, аналық малдікі — 54-57 кг, жуылған жүн түсімі — 4,6-5,7 кг және 2,2-25 кг, жүннің ұзындығы — 15-17 см. Талшық жуандығы — 56-60 сапалы. Штапель және жабағы жүнінде жақсы теңелген, иректілігі жасқы, жүннің шайырлылығы жеткілікті. Таза талшық түсімі — 62-64 %.

Осы салада жұмыс жүргізген ғалымКройтер М.К. [3] шығыс Қазақстанда алтай тұқымының биязы және биязы-қылшық жүнді будандарын ағылшын және аргентиналық реппродукцияның, линкольн және роминмарш тұқымының, тянь-шань тұқымының жоғарғы өнімділікті будандарымен және қошқарларымен күрделі ұдайы өндірістік шағылыстыру және де селекционерлерге сәйкес іріктеу арқылы отандық репродукциядағы корридель үлгісінде етті-жүнді қойлардың шығыс қазақстандық үлгідегі табыны алынған. Авторлардың мәліметтері бойынша бұл малдар ірі, қошқарлардың тірі салмағы — 90-95 кг, аналық малдың тірі салмағы — 57-60 кг, жақсы таза жүн түсімі аналық малда — 2,3-2,5 кг, ал қошқарларда — 4,5-5,0 кг. Талшық жуандығы 56-60 сапа, ұзындығы — 11,5-12,5 см, малдар жоғарғы тез жетілу, жақсы еттілік сапасымен сипатталады. Анасынан бөлгендегі қозылардың тірі салмағы — 28-31 кг. Сойыс шығымы — 45-47 % дейін жетеді.

Бір топ ғалымдардың Хамицаев Р.С., Буйлов С.В. [4], т.б. пікірінше республикамыздың солтүстік етті-жүнді қойлар екі жеке түрмен: бірі - Ақмола облысында, екіншісі – Солтүстік Қазақстан облысында алынған.

Малдардың жүннің сапасын жақсарту үшін бағытты түрде жүргізілген сұрыптау жұмыстарының нәтижесінде бір топ ғалымдардың, атап айтқанда Қасенов Т.К., Тоқпаев Б.Т., Қыржанов Б.В. [5] мұндай жұмыста рамбулье тұқымымен сіңіре будандастыру тәсілі қолданылған. Етті-жүнді бағыттағы қазақ биязы жүнді тұқымның сапасы анықталған. Олар мынадай көрсеткіштермен сипатталады: дене бітімі жақсы, тірі салмағы және жүннің түсімі мал өсірудің жергілікті жағадайларына жақсы бейімделген. Мыңбаев атындағы тәжірбиелік шаруашылықта жүннің орташа түсімі – оригиналда 4,5-4,8 кг немесе жуалған талшықта 2,3-2,5 кг. Негізгі қошқарлардың тірі салмағы – 119-124,2 кг, жүннің орташа түсімі 11,6-12,0 кг, жоғарғы көрсеткіші – 16,0 кг. Таза жүн түсімі – 50,0-51,0%. Өсімтал төлді аналық малдан бөлгеннен кейін қарқынды азақтандыру барысындағы орташа тәулік өсімі – 7,0-9,0-10,0, айлық жасына қарай 250-300 г қосқан.

Австралиялық меринос қойының өнімділік сипаттамасы селекциялық тұрғыдан австралиялық мериносты өсіру ерекше қызығушылық тудырады. Ол талшық жуандығы бойынша үш үлгіге болып бөлінеді: стронг – жұқа меринос жүні, 60 сапалылығы басым, 58 сапа болуы мүмкін; медиум – 64 сапалы, меринос жүні, 60 және 66 сапа болуы мүмкін; жүннің үшінші тобы файн – 70-80 сапалы болып сипатталады. Австралиялық мериностың түрлі үлгілері әрқилы экологиялық тауашада шығарылған.

Талшық жуандығы жоғары мериностар қоңыржай климатты, жауын-шашын мөлшері орташадан жоғары, жыл сайынғы метеорологиялық жағдайдың жоғарғы тұрақтылығымен стпатталатын Тасманияда, батыс Викторияда, жаңа Оңтүстік Уэльстің шығыс бөлігінің таулы үстіртті аудандарында өсірілген.

Талшық жуандығы төмен қойлар (60, 58 сапа) Красота В.Ф. мәліметі бойынша [6] Жерорта теңіздік

климатты, жауын-шашын мөлшері біркелкі Оңтүстік Австралияның орта солтүстігінде қалыптасқан деуге болады. Жүн талшығының жуандығы орташа үшінші үлгі көп белгілері бойынша екі нұсқа арасында аралық орын алып тұратын екі жеке түрмен көрсетілген: жыл сайын және жыл маусымдары бойынша жауын-шашын мөлшері біркелкі емес, жазы жоғары температурамен, құрғақшылығымен ерекшеленетін Жаңа Оңтүстік Уэльстің солтүстік және оңтүстік батыс бөлігі жазығында өсіріледі.

Жетпісінші жылдардан бастап австралиялық селекционерлер меринос тұқымды файн үлгісіндегі ұрғашы тоқтылардағы таза жүн шығымын 57,0-68,0%, медиумді – 58,0-71,0% және стронгті – 60,0-75,0% арттырды, штапельдегі жүннің ұзындығы 8,1-8,9 см, 8,3-10,2 см, 8,9-11,9 см жоғарлады.

Жергілікті жағдайда австралиялық қошқарлардың жүн өнімділігі 10,3-13,2 кг таза жүн шығымы 52-74 % аралығында, тірілей салмақтары 99-112 кг, жүн ұзындығы 10,5-11,5 см шамасында болды.

Оңтүстік Қазақстан мериносы тұқымды қойы 1946-1966 жылдар аралығында жергілікті қылшық жүнді қойларды әр түрлі тұқымдағы биязы жүнді қойлармен шағылыстыру арқылы шығарылды. Бастапқы кезеңдерде осы қой тұқымына қажетті деңгейде көңіл бөлініп, жағдай жасалмағаны себепті олар жергілікті қылшық жүнді қойлардан тірілей салмағы бойынша көп төмен, ал жүн өнімділігі 2,5-2,7 кг аралығында ғана болған. Жүн өте қысқа және шайырлығы нашар болуына себепті ол құрғақ және тез үзілетін еді.

Осы кемшіліктерді жою мақсатында бір топ ғалымдар А.И.Петров, А.И.Цой, А.В.Метлицкий жетекшіліктерімен әр түрлі биязы жүнді қой тұқымдарының кавказдық, ставрополдық, грозипилық қошқарларымен жұптау жұмыстары жүргізілді. Осы қой тұқымдарының қошқарлары тағайындалған отарлардың өнімділік ерекшеліктері мен алынған топтың сапаларына байланысты әр түрлі дәрежеде қолданылды. Соңынан өнімділік көрсеткіштері қажетті жоғары көрсеткіштерге жауап бере алатын қойларды «өз ішінде» жұптап өсіру шаралары қолданылды. Соның нәтижесінде 1966 жылы бұл қой тұқымы апробациядан өтіп жеке тұқым болып бекітілді.

Негізгі өнімділік көрсеткіштері төмендегіше сипатталады: ұрықтық қошқарлардың тірілей салмағы 90-100 кг, ал саулық қойлары 48-54 кг аралықтарында. Жүні тығыз, сыртқы штапелі жабық. Саулық қойларының жүні негізінен 64, ал қошқарлары 60 сапасында. Жүннің сиректігі жақсы меринос жүнінің сипатында, ұзындығы қошқарларда 9-11 см, ал саулық қойларда 8-9 см шамасында. Қошқарлардың жүн өнімділігі 12-15 кг, аналық қойларда 4,5-5,5 кг, немесе тиісінше 6-7,5 және 2,2-2,7 кг таза жүн береді. Жуылған жүннің шығымы 48,5-51,0 %. 100 қойға орташа төлдегіштігі 120-130 қозыдан келеді.

**Материалдар мен әдістер.**Тәжірибе жұмыстары Жамбыл облысындағы мал шаруашылығы қожалықтарында жүргізілді.

Жүннің майлылық көрсеткіштері Сокслет қондырғысында күкіртті эфирмен экстрагирлеу әдісімен, ал тердің мөлшері майдан тозаңдырылған жүн сынамаларын ВИЖ әдісімен [7] дистилденген таза суда сілтілеу арқылы анықталды.

Жүннің химиялық құрамдары Генера, Рейхорта-Мейсия, Полеске, Перекинскидің кодтық сандарын есептеу арқылы, ал талшықтың физикалық көрсеткіштерін және балқу температурасын анықтау арқылы алынды. Жүн талшықтарындағы майлардың сапалық құрамын (воск) ВИЖ әдісімен анықтадық.

Қойлардан алынған сынамаларды зерттеу арқылы малдардың жүн өнімділігі мен таза жүн шығымын, жүн талшықтарының жіңішкелігін, ұзындығын, бір тұтам жүннің үзілуге шыдамдылығын (күшін) анықтадық. Мұндағы барлық өлшемдік көрсеткіштер ВИЖ әдістемесі арқылы жасалып алынды.

Тәжірбиеде пайдаланылған малдар кәдімгі шаруашылық жағдайында ұсталды. Қойлар таулы жайылымдарында еркін бағылды. Қысқы мезгілде қойларға қосымша күніне 1,0 -1,2 кг пішен, 1,0-1,5 кг әр түрлі шөп, 0,3-0,4 кг жем т.б. берілді.

**Зерттеу нәтижелері.** Жүнді және жүнді-етті бағыттағы қой тұқымдарында малдардың жүн өнімділігі мен олардың сапалық көрсеткіштері малдардың құндылығын білдіретін негізгі критерийлер қатарына жатқызылады. Малдардың жүн өнімділігі көрсеткіштері – олардың жасына, жынысына, асыл тұқымдылығына, азықтандыру деңгейіне, физиологиялық қалпына, жеке басы ерекшеліктеріне байланысты болады.

Қойдың жүн өнімділігі олардың тұқым қуалағыштық ерекшеліктері мен сыртқы ортаның паратиптік әсеріне байланысты болады. Тұтас жүннің (руно) қалыптасуы әр түрлі факторлардың (жүн қалыңдығы, ұзындығы, жіңішкелігі, шайырлығы, иректігі т.б.) ара-қатынасының қалыптасуына тәуелді болады. Шаруашылықта кейбір жағдайда жүннің сапалық көрсеткіштеріне ерте мерзімдерде туылған немесе енесінен ажыратылғанда баға берілуі мүмкін. Бірақ бұлар тек қосымша мәлімет болып табылады. Негізгі жүн өнімділігі мен оның сапалық көрсеткіштеріне сипаттама беру бір жастық тоқтылардың жүнін бағалау арқылы атқырылады. Сондықтан жергілікті жағдайға төзімді жоғары өнімді қой тұқымдарын селекциялық асылдандыру жұмыстары барысында жүн өнімділігінің сандық және сапалық көрсеткіштеріне үлкен мән беріледі.

Зоотехникалық ғылымда және тәжірибеде жүн ұзындығының екі түрі болады: табиғи және жасанды. Табиғи ұзындығы – штапелдік биіктігі жай сызғыш пен өлшенеді. Жүннің жасанды ұзындығы деп жеке талшықтардың немесе штапельдің дұрысталған иректілігі бірақ тартылмаған түріндегісі.

Талшықтардың жасанды ұзындығы әруақытта табиғи ұзындықтан түтілген иректің арқасында басым

келеді. Жасанды ұзындықтан штапельдегі орташа ұзындығы биязы жүнді қойларда табиғи ұзындыққа қатынасы әр түрлі болуы мүмкін. Бір жылдық өсімде жасанды ұзындық табиғи ұзындықа қарағанда 30-40 % басым, ол 15-20% дан 30-70 % аралығында болады. Табиғи ұзындық 0,5 см дәлдікке дейін өлшенеді. Жүннің жасанды ұзындығын (жай вариант) өлшемдегі штапельді немесе бұрымды глицеринмен майланған шыны бетіне жапсырады, шыны астына қағаз болады, талшықтарды жүннің қырқылған жағынан біртіндеп шығарып, ине және қысқыш жәржемімен (пинцет) орналастырып өлшенеді. Дәлдік санды қортынды жасау үшін 50-ден 200-ге дейін талшықтар өлшенуі тиіс. Бұл жұмыс өте көп уақытты алады және көлемді болып келеді. Жасанды ұзындықты өлшейтін әртүрлі аспаптар бар. Зертханалық жағдайда мамандандырылған аспап көмегімен өлшемнің дәлдік бағасы алыну мүмкін.

Біз өз тәжірибе жұмыстарымызда әр түрлі жұптау негізінде алынған тоқтылардың жүн өнімділігін анықтадық (1-кесте).

		Өнімділік көрсеткіштері							
Мал топтары	n	салмағы М±m	жүн ұзындығы, см М±т	қырқылған жүн салмағы М±т	таза жүн салмағы М±т	жүн шығымы, %			
I	50	50,24±1,1	7,75±0,017	5,31±0,21	2,60±0,11	49			
II	50	53,51±1,41	7,81±0,015	5,58±0,18	2,85±0,12	51			
III	50	54,40±1,35	7,70±0,014	5,16±0,15	2,58±0,12	50			
IV	50	51,0±1,5	7,35±0,017	5,10±0,23	2,45±0,13	48			

1-кесте – Тәжірбие топтарындағы малдардың жүн өнімділігі

Жүн әр түрлі қоспалармен шаң-тозаң ірі азықтардың қалдығы мен т.б. ластанатын болады, мұндай қоспалар шайыр мен бірге жуылған жүн шығымына әсер етеді. Жүнде шайыр және әр түрлі қоспалар көп болғанда жуылған талшықтың мөлшері аз болады. Жуылған және барлық қоспаларынан арылған жүнді жуылған жүн деп атайды. Жуылған жүннің оның бастапқы салмағы (лас жүнде) пайызбен есептеген салмағы жуылған жүн шығымы деп аталады.

Кесте мәліметінен біз жүн өнімділігі бойынша ең жоғары көрсеткіштерге ІІ топтың тоқтылары ие екенін көреміз. Мұнда алғашқы қырқым нәтижесі бойынша орта есеппен бір тоқтыдан 5,58 кг жүн қырқылса, таза жүн салмағы 2,85 кг болып, жүн шығымы 51% құраған.

Жүн өнімділігі бойынша ІІ-ІІІ топтың малдары бір деңгейде екені байқалады. Осы топтың тоқтыларының жүн ұзындығы 7,75-7,70 см қырқылған жүн салмағы 5,31-5,16 кг, таза жүн салмағы 2,60-2,58 кг ал жүн шығымы көрсеткіштері 49-50% аралықтарында болған. Жалпы зерттеу барысында, әр текті гетерогенді жұптау нәтижесінен туылған малдардың өнімділік көрсеткіштері (тірілей салмағы мен жүн өнімділігі) шаруашылық жағдайында алынған төлдерге қарағанда артығырақ болатыны анықталған. Бұл мал өнімділігін арттыруда осындай жұптау түрлерін қолдану жақсы нәтиже беретінін көрсетеді.

**Жүндердің сапалық көрсеткіштері.** Қой жүні оның талшығын құрайтын құрамына қарай бір және біртекті болып екі топқа бөлінетіні белгілі.

Біртекті жүн-талшығының ұзындығы және жіңішкелігі бойынша біртекті масса. Ол да биязы және биязылау деп екіге бөлінеді. Бар айырмашылығы талшығының жіңішкелігінде (диаметрінде).

Биязы жүн өте жіңішке (түбіт) талшықтардан тұрады. Жалпыға бірдей қабылданған Бродфор жүйесі бойынша 90, 80, 70, 64 және 60 сапада болады. Әрбір сапа талшығы мирометрмен 90-11-ден 14,4 клкм, 80-14,5-18,0 мкм, 64-20,6-73,0 клкм, 60-23,1 ден 25,0 мкм-ға тең. Биязы жүн жабағасының құрылымы, әдеттегідей штапельді болады. Анағұрлым кең тараған биязылығы қазіргі кезде 64, 60 сапа.

Биязы жүн меринос және меринос емес деп екіге бөлінеді.

Меринос жүн – жоғары сападағы жіңішке жүн. өте жұмсақ серпімді, бағалы аппақ түсті, жартылай люстра реңді, шайыр құрамы жеткілікті.

Меринос жүнің жабағасы әдетте тығыз, қоқысы аз штапель ұшының әрі онша кетпеген, жабағы арасына шөп-шала ену аймағы шамалы. Қазақстанда меринос жүні Оңтүстік Қазақ, Солтүстік Қазақ және Арқармеринос секілді қой тұқымдарынан қырқылады.

Таңдаулы анағұрлым типтік меринос жүні австралиялық мериносының жүні болып табылады. Бағалығы, физика-механикалық және технологиялық қасиеті бойынша оған тең келетін әлемде жүн жоқ. Осыларды ескерек келіп, Қазақстанда 1971 жылдан бастап, жергілікті биязы жүнді саулықтарды австралия қошқарларымен будандастыру жұмысы қарқынды түрде жүргізілуде.

Алынған будан ұрпақтарының негізгі бөлігіне асвтралия мериносы жүннің сапасы дарыған. Олардың жүні қалғандарының жүніне қарағанда бағалы, жұмсақ, серпімді, иректілігі айқын. Таза талшық шығымы 55-60 пайызға, әр қойдан қырқылған жуылған жүн 250-350 грамға артты.

Меринос емес жүн әдетте етті-жүнді типті биязы жүнді қойдан, ең алдымен Прекос қойы мен оның тікелей қатысуымен шығарылған өзге де тұқымдардан, соның ішінде қазақтың биязы жүнді қойынан

қырқылады.

Негізінде меринос емес жүнің бағалығы, шамалы, қатқылдау, әдетте құрғақ шайыр аз, көп былғанған иректігінде айқын емес. Штапелінің ұшы үшкір де құрғақ, жабағысы тығыз емес, қопсыңқы. Мұнда 58, 56, 48, 46, 44, 40, 36 және 28 сапалар болады. Қазіргі кезде анағұрлым кең тараған 58, 56, 50 сондай-ақ, 48 сапа.

Селекциялық жұмыстарда сұрыптау жұмыстарының нәтижесі болуы асыл тұқымды малдардың шаруашылыққа маңызды белгілерін өз ұрпақтарына тұрақты түрде бере алуына байланысты болады. Биязы жүнді қой шаруашылығында селекциялық мәні жоғары, маңызды белгілер қатарынан жүн талшықтарының жіңішкелігі немесе жүннің сапалық көрсеткіштері жатады. Сондықтан жүнді және етті-жүнді өнімділік бағытындағы қой шаруашылығында осы сапалық көрсеткіштердің жақсаруына зор мән беріледі.

Сондықтан біз зерттеужұмыстарымызда әр түрлі жұптау нәтижесінен алынған ұрпақтардың жүнінің сапалық көрсеткіштерін зерттедік (2-кесте).

Мал топтары	n		Жүн сапасы	Орташа жінішкелігі, мк М±m	
		60	64	66	Орташа жіңішкеліті, мк мі≖пі
I	50	8,0±3,83	80,0±5,65	12,0±4,59	22,25±0,27
II	50	4,0±2,77	86,0±4,9	10,0±4,24	21,03±0,31
III	50	14,0±4,9	80,0±5,65	6,0±3,35	22,34±0,17
IV	50	12,0±1,32	$76,0\pm6,03$	12±1,32	22,51±0,25

2-кесте – Тәжірбиелік мал топтарынан алынған ұрпақтардың жүнінің сапалық көрсеткіштері

Малдардың жүн өнімділігінің сапасының жақсаруына асыл тұқымды малдарды дұрыс іріктеп-жұптаудың маңызының зор екендігін 2 кесте мәліметін сараптап көз жеткізуге болады. Мұнда жоғары сапалы австралиялық қошқарларды Оңтүстік Қазақстан мериносы мен күйік тұқымішіндік типті қойларға жұптау – олардың ұрпақтарының жүнінің жіңішкелігіне оң әсер етіп (тиісінше 22,34 және 21,03 мк) 64 сапасындағы қойлардың үлесінің артуына әсер еткен (80,0-86,0 %). ІІ топтағы малдарда 64 сападағы қойлардың ең көп үлесі – 86,0 % жетіп І және ІVтоптағы малдардан 6-10,0 % аумағында артық болған.

Биязы жүнді қойлардың жүні түбіттен тұрады. Түбіт дегеніміз жүннің ең бағалы бөлігі. Жіңшкелігі 14,5-25 микрон аралығында, ал ұзындығы 5-15 см.

Ол біртекті болып келеді, жақсы ұсақ бұйраларымен, мықтылығымен және басқа да жақсы қасиеттерімен ерекшеленеді. Жүннің техникалық қасиеттеріне оның талшығының ұзындығы, жіңішкелігі, бұйралығы, мықтылығы, иілгіштігі және созылғыштығы, өзінің жылтырлығы мен түсі жатады.

Оңтүстік қазақ және австролоңтүстік қазақ меринос қой жүндері өнімінің негізгі технологиялық қасиеттерін, тұқымдық-аймақ ерекшеліктерін зерттеу, бір типке келтірудің әдістемелік жасақтау және жүннің технологиялық қаситтерін жақсарту, олардың сыртқы және ішкі нарықтық базар экономикасына төтепбере алатындығын қамтамасыз ету негізгі мақсат болып табылады. Бұл мақсатқа жету үшін лабораториялық технологиялық зоотехникалық зерттеулер жүргізіліп қой өнімін жүннің технологиялық қасиеттеріне ғылыми зерттеу жұмысы бойынша сипаттама беріліп, дәлдік сандар алынып, биязы жүнді бір типке келтіруің әдістемелік негіздері жасалуы тиіс.

Жүн сапасының біркелкілігі қой жүнінің әр түрлі тонографиялық бөліктерінің жіңішкелігін салыстыру арқылы анықталды. Егерде малдың денесінің әр түрлі бөлігінен алынған жүндердің айырмашылығы екі сапада және одан да асып кетсе, онда ондай жүндер біркелкі деп есептелмейді.

**Жүннің дене бөліктеріндегі біркелкілігі мен мықтылығы.** Жүн жағдайының үзілуге қарсылы күші мықтылығы деп аталады. Жүннің мықтылығы мықтылық немесе штапельдің үзетін қажетті күш арқылы өлшеуі мүмкін. Бірінші абсолюттік мықтылық талшық немесе түп денесінің үзілуге қарсылы мүмкіншілігі талшық қысымдығы мен түпке байланысты емес. Ол талшық пен түпті үзуге арналғансалмақпен грамдық немесе килограмдық көрсеткішпен өлшенеді.

Екінші мықтылықты сипаттайтын жеке зат қатынасы мықтылық көрсеткіші 1 см² түсетін кг-дық күш. Жүн мықтылығына әсер ететін зоотехникалық әсерлерден ең жиі әсер етуші – күш қойлар ұстау және азықтандыру, ал тұқымқуалаушылық тұқымдық әсерлер мықтылығына әсер етеді. Жүн мықтылығының жағдайын сақтауға жалпы жабағы жүйесі, шайыр көлемімен сапасы, жүннің жуылу дәрежесі және ластануы мол әсерін тигізеді. Жүннің жасталған аймағы сыртқы ортаның кері әсерін төтеп бере алмайды. Жүннің тез ластануы талшықтың сыртқы қабатының тез бұзылуына әсерін тигізеді. Қалыпты жүн жабындысын алу үшін малдарды қамтамасыз сіңімді, күшті және протейіні мол бір қалыпты жәнежектілікті азықпен қамтамасыз етіп, рационда күкіртті ендіру керек. Өндірімі негізінен жүн мықтылығын қолмен ұстап, сезім әдісін қолдану арқылы анықтайды. Бұл жағдайдааз мөлшерде штапель таңдалады, олардың әрқайсысы еркеше әдіспен, үлкен саусақпен ұстап, оң қолдың ортаңғы саусағымен бұрымды ұрады. Мықты штапель немесе талшықтар кез-келген жерінен үзілмейді, ал әлсіз штапель үзілуі мүмкін. Мамандар дыбыс мөлшеріне

қарай мықтылықты анықтайды. Бұл әдіс арқылы мықтылықты анықтау қиынға соғады. Сондықтан ғылыми зерттеулерде жүн мықтылығын анықтағанда аспаптарға сүйенеді. Ол аспап длинометр деп аталады. Зоотехникалық, дайындау және өндірістік жүйеде кең түрде Дш-3м аппараты қолданылады.

Тәжірбиедегі мал топтарының жүн өнімдерінің біркелкілік және мықтылық көрсеткішері келесі 3-кестеде берілген.

2	T . ~ .		•	٠ - ٠		5 V 20
3-кесте —	тажтриоелегі	мал топтарының х	жүн өнімле	ерінін бірке	лкілігі мкм	$n=5 \rightarrow =20$
	1 omiphot Atti	man rommap binibin, s		piiii, oipii	***********	c, <u>_</u> a = c

			Денедегі жүн бөліктері						
Man none n		бүйірі	бүйірі		арқасы		саны		
Мал топтары		M±m	$C_v$	M±m	$C_v$	M±m	$C_v$	Мықты- лығы, км	
I	5	21,45±0,35	25,4	22,20±0,41	23,2	22,65±0,28	21,4	9,14	
II	5	21,18±0,27	20,5	21,75±0,36	22,3	22,05±0,41	25,6	9,85	
III	5	21,60±0,41	27,1	22,17±0,28	21,3	22,95±0,45	26,4	9,71	
IV	5	21,85±0,51	27,4	23,15±0,26	22,5	23,31±0,37	25,3	8,78	

3-кесте мәліметтері тәжірибе топтарындағы мал жүндерінің біркелкілік көрсеткіштері қалыпты жақсы деңгейде екенін көрсетеді. Мұнда І топтағы малдардың бүйірі мен сан тұсындағы жүндердің жіңішкеліктерінің айырмашылығы небәрі 1,2 мкм, ІІ топтағы малдарда тиісінше 0,87 мкм, ал ІІІтоптағы малдарда 1,35 мкм болған. Тек IV топтағы оңтүстік қазақ мериносы қойларының біртекті жұптау барысында алынған тоқтылардың бүйірі мен сан жүндерінің айырмашылықтарында біршама алшақтық — 1,46 мкм бар екені байқалды. Бірақ бұл алшақтық стандарт талаптары деңгейінен аспауы себепті (2 сапалық көрсеткіштен) жүннің құндылығы мен сорттылығына аса әсер ете қоймайды.

Зерттеу мәліметтеріне сүйене келе, біз ең жіңішкеәрі біркелкі жүндер малдың бүйірінде, ал жуандау әрі біркелкі емес жүндер арқа мен сан тұстарында өседі деген қорытындыға келеміз. Бұл ережелерді біз малдың бүйірінеқарағанда, арқасы мен сан терісінің қалыңдау және мұнда қан тамырларының көп болуына себепті жүннің өсуіне қажетті қоректік элементтермен толықтай қамтамасыз етілуі салдарынан жүн талшықтарының жуандап өсуінен деп есептейміз.

**Жүннің шайырлығы мен оның құрамдас элементтерінің мөлшері.** Қой жабағысы шайыр тұрақты түрде әр түрлі қосындыларды ұстайды. Олар минералды және өсімдік қосындылары, қайызғақ пен май бөлінділер және тер қышқылдарыбірігіп шайыр құрайды. Шайыр жабағының ең негізгі біріккен құрамы болып есептеледі,олар әртүрлі сыртқы ауа райының жағдайынан өсу сақтау кезеңінен өңдеуге дейін жасақталып қорғауға әсерін тигзеді.

Тері негізіне калий және жүнгеерекше түс (бояу) беретін басқа да заттар кіреді. Тоқыма жеңіл өнеркәсіпке шайырқосымша ерекшеліктер береді, олардан қорғайтын заттар, олармен қатар шайыр жуылған қасиетімен де ерекшеленеді. Жуылғыштығына қарай шайыр жеңіл және қиын жуылатын болып бөлінеді. Жүн шайырының сары, тот басқан түсі тиімсіз. Жүн майы химиялық және фармацевтикалық өндірістеөте бағалы болып есептеледі. Ланомин косметикалық заттардың көп түрінде бағалы негіз болғандықтан, денеге жаққан мөлшердің 98% теріге сіңіп кетеді. Шайырдың зоотехникалық маңызы өте зор. Шайыр жабағыныңжүйесін құруға қатысады, жүнді сыртқы қатал жауын шашыннан қорғайды. Тағыда ескеретін бір жағдай, ол 1,0 кг жүн шайырын өндіру үшін қайнар 1,0 кг таза жүн өндіруге кететін энергияны шығындайды.

Біздің жүргізген зерттеулерімізде шығу тегі әртүрлі қойлардың шайыр құрамындағы элементтердің көрсеткіштері бойынша ерекшеленетіні байқалды (4-кесте).

4-кесте – Жүннің шайырлығына әсер ететін құрамдас элементтерінің көрсеткіштері

Мал топтары	n	Көрсеткіштер				
		лас жүндегі механикалық қоспалар, %	таза жүннің салмағындағы майдың үлесі, %	C <sub>v</sub>	таза жүннің салмағындағы терінің үлесі, %	тер/жүннің арақа-тынасы
			M±m		M±m	
I	5	13,3±1,1	7,24±0,23	19,4	8,28±0,37	1,14
II	5	15,0±1,3	7,31±0,17	21,2	8,15±0,25	1,11
III	5	13,5±1,2	7,23±0,34	25,6	8,34±0,42	1,15
IV	5	14,2±1,5	7,15±0,51	30,5	8,51±0,23	1,19

Тәжірбие барысында жүннің майлылық дәрежесі бойынша топтар арасында бірталай айырмашылықтар бар екені анықталды. Мұндағы ең жоғарғы көрсеткішке – 7,31 % II мен III – 7,23 % топтың малдары ие

67

екені байқалады. Осы белгі бойынша топтар арасында өзгергіштік коэффициентеріндеде айтарлықтай ауытқулар (19,4-30,5 аралықтарында) тіркелген.

Жүн шайрлығындағы жағымсыз фактор ретінде белгілі олардағы тердің үлесі бойынша ең жоғары көрсеткішке – 8,5 % біртекті Оңтүстік Қазақстан мериносын жұптау нәтижесінен алынған бақылау тобының тоқтылары ие екенін көреміз. Осы топтың малдарында тер/май ара-қатынасы да салыстырмалы түрде үлкен мәнге ие болады. Тәжірбиелік топтар арасында жүн шайырлығының ең жақсы деңгейде екенін білдіретін тер/май ара-қатынасының минималды көрсеткіші – 1,11 екінші топтағы австралиялық меринос қошқарларын күйік тұқымішіндік типті қойларға жұптау нәтижесінде алынған тоқтыларда екені анықталды. Бұл осы жұптау түрінің жергілікті қойлардың жүн өнімділігінің сапасын арттыру мақсатында қолдануға болатынын дәлелдейді.

**Қорытынды.** А.И.Николаев [8] тәжірибе жұмыстарын зерделей келе биязы жүнді қойларды жүнді, жүнді-етті бағыттағыларға бөлген кезде кейбір жағдайларда жеке малдарға, сонымен қатар бүкіл отарға таңдауды жүргізуді ұсынған.

Көп авторлардың зерттеулері бойынша, жоғары сойыс шығымы етті-жүнді бағыттағы биязы жүнді тұқымдар беретіндігі анықталды. Оған жақын келетін жүнді-етті бағыттағылар. Ал төмен беретіні жүнді бағыттағылар.

А.В.Метлицкий [9] қазақтың Оңтүстік меринос тұқымдарының ісектерінің еттік сапаларын зерттей келе (Жамбыл облысында), 1,5 жастағы әр түрлі дене бітімдік - өнімділік түрлерінде әр түрлі қыртысты будандардан шыққан малдардың ұша шығымы – 42,6 пайыздан 45,4 пайызға дейін, ал сойыс шығымы – 45,5 пайыздан – 49,7 пайызға дейін болатындығын анықтаған.

Қорыта келе, Оңтүстік қазақ мериностарының етінің сапасы кейбір жүнді-етті мериностарға қарағанда едәуір жақсы, кей жағдайында ет өнімділігі жағынан ол биязы жүнді етті-жүнді қой тұқымына жақындай түсетіндігін айта кеткен жөн. Аналықтары жыл бойы жайып баққанның өзінде төлдегіштігімен ерекшеленеді. Оңтүстік қазақ мериносының денесі орташа, бітімі берік, терісі жақсы жетілген. Қошқарларының мойынында толық дамыған 1-2 қатпары бар, саулықтарында ол қатпар онша білінбейді. Қошқарлар мүйізді, саулықтары көбінесе тоқал келеді. Бұл қой тұқымы жүнді біршама мол береді. Жүндері тығыз, жүн талшықтары ұзын саласы (8-9 см) биязылығы негізінен 64 сапалы. Таза жүн шығыны басқа жүнді қойларға қарағанда біршама жоғары 50-55 %.

Олар Қазақстанның оңтүстігіне тән ерекшеліктеріне сәйкес жайып бағуға жақсы бейімделген. Қойлар өте ширақ, жайып бағуға бейім, жаз айларында тауда, қыста-құмдауытта бағуға жарамды, маусымдық жайылымға сусыз жерлермен айдауға төзімді. Оңтүстік қазақ мериностарының терісінің, кеудесінде қатпалы «алжапқыш» тәріздес әукесі болады.

Жамбыл облысында өсірілетін оңтүстік қазақ мериносының жүн өнімділігінің маңызын зерттей келе, тек біздің өңірге ғана емес, бүкіл елімізге экономикалық тұрғыдан пайдасы зор екендігін атап айтқымыз келелі.

### ӘДЕБИЕТ

- 1 Бальмонт В.А. Результаты метизации казахских курдючных овец с баранами прекос // Тр. КазHИИЖ. Алма-Ата, 1936. Т. 14-18. 89-95 с.
- 2 Мержинский Е.Г. Рост и развитие кроссбредных овец в Северном Казахстане Совершенствование племенных и продуктивных качеств сельскохозяйственных животных на Севере Казахстана. АлмаАта, 1985. 126-139 с.
- 3 Кройтер М.К. Генетико-селекционные аспекты разведения кроссбредных овец. -Алма-Ата, 1977. 297 с.
- 4 Хамицаев Р.С., Буйлов С.В. Новые породы овец и методы их выведения // Обзорная информация. ВНИИТЭИСХ. М., 1981. 59 с.
  - 5 Касенов Т.К., Токпаев Б.Т., Каржасов Б.В. Казахская тонкорунная. Алматы, 1985. 207 с.
- 6 Красота В.Ф., Джапаридзе Т.Г., Костомахин Н.М. Разведение сельскохозяйственных животных. 5-е изд., перераб. и доп. М.: Колос. 2013. С. 424.
- 7 Киселев Л.Ю., Забудский Ю.И., Голикова А.П., Федосеева Н.А., Селифанов И.С., Новикова Н.Н., Мышкина М.С. Основы технологии производства и первичной обработки продукции животноводства. СПб, Лань, 2012. 448 с.
  - 8 Николаев А. И., Ерохин А. И. Овцеводство. М., 1987.
- 9 Метлицкий А.В. Результаты использования австралийских тонкорунных баранов в Казахстане: аналитический обзор.

#### ОТЕЧЕСТВЕННАЯ ВАКЦИНА ПРОТИВ НОДУЛЯРНОГО ДЕРМАТИТА

Нодулярный дерматит крупного рогатого скота – является контагиозным инфекционным заболеванием, характеризующимся появлением лихорадки, отёков внутренних органов и подкожной клетчатки, кожных узлов, а так же поражением лимфатической системы. Недуг поражает слизистые оболочки желудочно-кишечного тракта и органов дыхания и зрения. Заболевание не передаётся людям. Возбудитель патологии – ДНК содержащий оболочечный вирус, относящийся к группе Neethling, рода Capripoxvirus.

Изначально размножение вируса происходит в месте внедрения, после он попадает в кровь. На протяжении двух недель у зараженных животных регистрируется виремия- проникновение возбудителя в кровь и дальнейшее по всему телу: слизистым, слюнным и молочным железам и другим органам. Спустя приблизительно неделю после проникновения вируса наблюдается появление на шее и животе крупного рогатого скота узелков. Далее отмечается увеличение температуры тела до 40 градусов и переход в генерализованную форму. Узелки распространяются по всему телу. В дальнейшем развивается некроз окружающих тканей.

Во время вспышки инфекции заражается от 5 до 100 % скота. Молодые и высокопородные животные наиболее восприимчивы к заболеванию. Там, где много летающих кровососущих членистоногих, вспышки нодулярного дерматита случаются чаще.



Иллюстративное фото: из открытых источников

Инфекция переносится кровососущими летающими насекомыми, птицами, а также выделяется со слюной, спермой, молоком, отшелушившимися частичками кожи.

Ежегодная поголовная вакцинация, это единственный способ по предупреждению нодулярного дерматита крупного рогатого скота.

Вылечить животных, пораженных вирусом нодулярного дерматита, вполне случае использования возможно В эффективных препаратов и соблюдении мер дезинфекции. В качестве профилактики заболевания рекомендуется вакцинация. Вакцина помогает не только уберечь животных от вируса, но и противостоит распространению. Вакцинировать необходимо от нодулярного дерматита все

поголовье крупного рогатого скота вне зависимости от пола и возраста. Продолжительность иммунитета при этом достигает 12 месяцев.

Для предупреждения нодулярного дерматита крупного рогатого скота рекомендуется применять вакцину против нодулярного дерматита крупного рогатого скота из штамма «Neethling-RIBSP».

Вакцинируют животных однократно в дозе 2 см<sup>3</sup> подкожно в область средней трети шеи независимо от возраста животного.

В неблагополучных территориях вакцину применяют ежегодно. Вакцинацию поголовья скота проводят весной. Телятам, полученным, от вакцинированных животных вакцину вводят, начиная с 6 месячного возраста. Телятам, полученным от не вакцинированных животных, вакцину вводят в любом возрасте.

Вакцина, способствует образованию активного иммунитета против нодулярного дерматита, начиная с 21 суток после применения препарата длительностью не менее 12 месяцев после однократной иммунизации. Стельных коров иммунизируют также однократно.



Вакцина может вызывать у отдельных животных на месте введения препарата местную реакцию, проявляющуюся в виде небольшой припухлости. У части животных возможно кратковременное повышение температуры тела до 39,5 °C в течение 1-2 сут при удовлетворительном общем состоянии и сохранении аппетита.

Мясо вакцинированных животных, при отсутствии каких-либо реакций, используется без ограничений. Преимущества вакцины против нодулярного дерматита крупного рогатого скота из штамма «Neethling-RIBSP»:

- ✓ Высокая иммуногенность вакцины;
- ✓ Вакцина не вызывает клинических реакций;
- ✓ Безопасная вакцина;
- ✓ Однократная иммунизация предохраняет животных от инфекции до 12 мес;
- ✓ Не имеет возрастных ограничений;
- ✓ Относительная дешевизна;
- ✓ Простота в применении.



Иллюстративное фото: из открытых источников

По вопросу приобретения вакцины Стоимость вакцины – 238 тенге/доза для КРС

Наши контакты:

Орынбаев Мухит Бармакович, канд. вет. наук, профессор, тел. +7(701)-345-51-77

(726-36) 7-22-28

**E-mail:** ribsp@biosafety.kz

### ЖУРНАЛДА ЖАРИЯЛАУ ҮШІН ҒЫЛЫМИ МАҚАЛАЛАРҒА ҚОЙЫЛАТЫН ТАЛАПТАР

Журнал келесі ғылым бағыттары бойынша мақалаларды қабылдайды:

- Ветеринария;
- Медицина;
- Биотехнология;
- Биологиялық қауіпсіздік пен биологиялық қорғау;
- Молекулалық биология және гендік инженерия;
- Фитосанитария.

### Мақаланың бастапқы бөлігіне қойылатын құрылымдық талаптар:

- 1. ОӘЖ
- 2. Автордың (-лардың) Т.А.Ә.
- 3. Автордың (-лардың) жұмыс орны
- 4. Мақала атауы
- 5. Жарияланушы материал мәтінінің тіліндегі аннотация (150 сөзден артпауы тиіс)
- 6. Түйін сөздер (150 сөз/сөз тіркесінен артпауы тиіс)

### Мақаланың тарауларына қойылатын құрылымдық талаптар:

Мақалада келесі тараулар болуы тиіс:

- 1. Аннотация
- 2. Кіріспе
- 3. Зерттеу әдістемесі
- 4. Зерттеулерден алынған нәтижелер
- 5. ҒЗЖ нәтижелерін талқылау
- 6. Қорытынды (тұжырым)
- 7. Әдебиет

Аннотация жарияланатын материал тілінен ерекшеленетін басқа екі тілде болуы тиіс (150 сөзден артпауы тиіс). Аннотация—мақалаға тәуелді емес ақпарат көзі. Оны мақаланың негізгі мәтінімен жұмыс аяқталғаннан кейін жазады. Ол негізгі тақырыптың сипаттамасын, мәселелерді, нысанды, жұмыс мақсатын және оның нәтижелерін қамтиды. Аннотацияда осы құжаттың тақырыбы мен арнайы мақсаты бойынша басқа да мәндес құжаттармен салыстыра отырып, осы құжаттың қандай жаңалық алып келетіні көрсетіледі. Аннотациялар халықаралық стандарттар бойынша ресімделуі және келесі сәттерді қамтуы тиіс:

- 1. Зерттеу тақырыбы бойынша алғысөз.
- 2. Ғылыми зерттеу мақсаты.
- 3. Жұмыстың ғылыми және тәжірибелік маңызын сипаттау.
- 4. Зерттеу әдістемесін сипаттау.
- 5. Зерттеу жұмыстарының негізгі нәтижелері, тұжырымдары.
- 6. Жүргізілген зерттеудің құндылығы (осы жұмыс тиесілі білім саласына қандай үлес қосты).
- 7. Жұмыс нәтижелерінің тәжірибелік мәні.

Аннотацияда мақаланың мәтіні, (мақаладан ұсыныстар алуға және оларды аннотацияға көшіруге болмайды), сондай-ақ оның атауы қайталанбауы тиіс. Онда сандар, кестелер, мәтін ішіндегі түсіндірме болмауы тиіс.

Аннотацияда зерттеу жұмысының нәтижелері мен қорытындыларының негізгі сәттері баяндалуы тиіс және мақалада жоқ материал болмауы тиіс.

**Алғыс** (Бұл бөлім, егер мақала грант шеңберінде дайындалса немесе жарияланатын жұмысқа жәрдемдескен, бірақ тең авторлардың қатарына кірмеген адамдарға алғыс білдіру үшін қажет). Әдетте жарияланымның соңында көрсетіледі.

Автордың (-лардың) аты-жөні әр адамның жұмыс орнымен индекстеледі. Мысалы, С.С. Сеитов<sup>1</sup>, А.А. Ахметов<sup>2</sup>, Б.Б. Болатов<sup>3</sup>

Автордың (-лардың) жұмыс орны. Мысалы: <sup>1</sup>Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Алматы, Қазақстан; <sup>2</sup>Ставрополь мемлекеттік аграрлық университеті, Ставрополь, Ресей; <sup>3</sup>Жәңгір хан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университеті, Орал, Қазақстан.

#### Мақаланың мазмұны туралы

Мақалада автор зерттеулерінің нәтижелерін көрсететін түпнұсқа материал ғана болуы тиіс. Мақаланың негізгі мазмұнын ашатын аннотацияда (50-ден 150-ге дейін сөз) және мақаланың қорытынды бөлімінде (50-ден 150-ге дейін сөз) зерттеу нәтижелерінің жаңалығын, олардың практикалық маңыздылығын көрсету қажет.

### Ғылыми мақаланы рәсімдеудің негізгі талаптары.

Мақала қазақ, орыс немесе ағылшын тілдерінің бірінде 5-11 бет көлемінде (суреттер мен кестелерді қоса алғанда) болуы тиіс.

Мәтін Microsoft Word редакторында, Times New Roman шрифтімен, 12 өлшемде, бір интервалмен терілуі тиіс. Мәтін келесі жиектердің өлшемдерін сақтай отырып басылуы тиіс: жоғарғы және төменгі -2 см, сол және оң -2 см. Тегістелуі — енібойынша (тасымалды автоматты түрде жүргізу арқылы). Жоларалық интервалы — бір. Азат жол шегінісі -1,25.

Парақтың жоғарғы сол жақ бұрышына ОӘЖ қойылады. Төменде, ортаға тегістеліп автордың (-лардың) аты-жөндерінің бірінші әріптері, фамилиялары, бір жол төменде ұйымның (-дардың) толық атауы, онан кейін, үтір қою арқылы қаланың атауы, елдің атауы (шет елдік авторлар үшін), онан кейін, бір жолдан кейін ортаға тегістеліп бас әріптермен мақала атауы көрсетілуі тиіс.

Тағы төменде, бір жолдан кейін, аннотация мәтіні (50-ден 150-ге дейінгі сөз) және жарияланатын материал мәтініндегі түйінді сөздер (10 сөзден/сөз тіркестерінен артпауы тиіс) болады. Одан әрі, бір жолдан кейін, мақаланың келесі бөлімдерден тұратын негізгі мәтіні орналастырылады:

**Кіріспе.** Бұл бөлім осы зерттеудің өзектілігін және автор тауып алған осы тақырып бойынша әдеби дереккөздерге (мақалалар, патенттер, есептер, Интернеттен алынған ақпараттар) шолу жасауды қамтиды. Сондай-ақ, бұл бөлімде зерттеудің мақсаттары мен міндеттері, болжанатын гипотезалар мен тұжырымдар көрсетіледі. Бұл бөлім әдетте мақаланың жалпы көлемінің 5-10 % құрайды.

**Зерттеу әдістемесі.** Бұл бөлімде ҒЗЖ-да пайдаланылған материалдар мен әдістер сипатталады. Егер бұл алғаш рет жарияланатын әдістеме болмаса, әдіснамалық ерекшеліктерді көрсетудің қажеті жоқ. Қажет болған жағдайда әдіснаманың негізгі сәттері сипатталады. Бұл бөлім әдетте мақаланың жалпы көлемінің 10-20 % құрайды.

Зерттеудің негізгі нәтижелері. Бұл бөлім көлемі бойынша ғылыми мақалада орталық орын алады. Бұл негізгі бөлім, оның мақсаты талдау, қорыту және деректерді түсіндіру арқылы жұмыс гипотезасын (гипотезаларын) дәлелдеу болып табылады. Нәтижелер қажет болған жағдайда бастапқы материалды немесе дәлелдемелерді тұжырылған түрде ұсынатын иллюстрациялармен - кестелермен, графиктермен, суреттермен расталады. Суреттермен ақпарат мәтінді қайталамауы маңызды. Мақалада ұсынылған нәтижелерді автордың және басқа зерттеушілердің осы саладағы алдыңғы жұмыстарымен салыстырылғаны дұрыс. Мұндай салыстыру жүргізілген жұмыстың жаңалығын қосымша ашады, оған объективтілік береді. Бұл бөлім әдетте мақаланың жалпы көлемінің 50-55 % құрайды.

Алынған деректерді талқылау және қорытынды. Мақаланың бұл бөліктері алынған мәліметтердің интерпретациясын қамтиды, анықталған заңдылықтар сипатталады, бір-бірін қайталамайтын кестелер мен суреттерді қамтиды. Нәтижелерді өткен уақытта баяндау ұсынылады. Талқылау зерттеу нәтижелерін сипаттауды қайталамауы тиіс. Қорытынды зерттеу нәтижелерінің қысқаша тұжырымын қамтиды. Бұл бөлімде алынған нәтижелерді жұмыстың басында белгіленген мақсатпен салыстыру қажет. Қорытындыда тақырыпты түсіну нәтижелері жинақталады, жұмыстан туындайтын қорытындылар, тұжырымдар мен ұсыныстар жасалады, олардың практикалық маңыздылығы көрсетіледі, сондай-ақ осы саладағы одан әрі зерттеу үшін негізгі бағыттар анықталады. Мақаланың қорытынды бөлігіне қаралған мәселелердің дамуын болжау әрекеттерін енгізу қажет. Мақала тақырыбындағы мәліметтер авторлық түйіндеме мәтінінде қайталанбауы тиіс. Ұсынылатын көлем – мақаланың жалпы көлемінен 10-15 %.

Әдебиет. Бұл бөлім дәйексөз келтірілетін, қаралатын немесе мақаланың мәтінінде айтылған, оны сәйкестендіру, іздеу және жалпы сипаттама үшін қажетті және жеткілікті басқа құжат туралы библиографиялық мәліметтер қамтылады. Жарияланғанына 5 жылдан асқан дереккөздерге сілтеме жасау ұсынылмайды. Жақында жарияланған мақалаларға сілтемелер беру, өз мақаласынан дәйек сөз алуға ең аз мөлшерде рұқсат етіледі. Мақала берілетін БҚПҒЗИ ғылыми-практикалық журналындағы мақалаларға сілтеме жасау міндетті. Мақалада біздің журналдарда бұрын шыққан мақалаларға міндетті түрде сілтеме жасау керек. Негізгі мәтіннен (немесе ескертулердің мәтінінен) төменірек ортаға тегістеу арқылы «ӘДЕБИЕТ» деген атау жазылады, онан бір жолдан кейін библиографиялық сипаттамаға қойылатын қолданыстағы талаптарға сәйкес мәтін бойынша сілтеме ретінде нөмірленген деректер тізбесі орналастырылады. Тізбенің бір тармағында тек бір ақпарат көзін көрсету керек. Ақпарат көздеріне сілтемелер төрт бұрышты жақша (мысалы, [1]) ішіндегі сандармен ресімделеді.

Библиографиялық сипаттама МЕМСТ 7.1-2003 сәйкес рәсімделеді және мұқият тексеріледі. Егер ақпарат көзіне сілтеме мақала мәтінінде қайталанатын болса, онда қайта, шаршы жақшада оның тізімдегі нөмірі

көрсетіледі (библиографиялық тізімде келесі реттік нөмірі мен «тағы да сонда» сілтемесі пайдаланылмай). Бір көзден алынған әр түрлі материалдарға сілтеме жасалған жағдайда, шаршы жақшадағы беттің нөмірін әр жолы көрсету қажет. Мысалы, [1, 17] немесе [1, 28-29].

Мысал ретінде неғұрлым таралған сипаттамалар – мақалалар, кәтаптар, конференция материалдары, патенттер және электрондық қорлар беріледі, мысалы:

Автор фамилиясындағы кітап

- 1 Максимов Н.В., Партыка Т.Л., Попов И.И. Максимов, Н.В. ЭЕМ және есептеуіш жүйелердің архитектурасы: ЖОО-ларына арналған оқу құралы. М.: Инфра М, 2005.-512 б.
- 2 Душков Б.А., Королев А.В., Смирнов Б.А. Еңбектің, кәсіби, ақпараттық және ұйымдастырушылық қызметтің психологиясы: ЖОО-ларға арналған оқу құралы. М: Академический проект, 2005.-848 б. *Атаулы кітап*.

Егер, кітап төрт немесе одан көп авторлармен жазылған болса кітап сипаттамасы атауында беріледі. Атауында ұжымдық монографиялар, мақалалар жинағы және т.б. сипатталады.

- 1 Әлем көркем әдебиеті: 2 томда / Б.А. Эренгросс [және басқалары]. М.: Высшая школа, 2005. Т.2. 511 б.
- 2 Экономикалық талдау бойынша бақылау тапсырмалары мен тестілерінің кешені [Мәтін]: ЖООларға арналған оқу-әдістемелік құрал / А.А. Сливинская [және басқалары]. Елец: Елецк мемлекеттік университетінің баспасы, 2003. 73 б.

Заңнамалық материалдар

Ресей Федерациясының конституциясы [Мәтін]. - М.: Приор, 2001. - 32 б. РСФКР азаматтық процессуалдық кодексі [Мәтін]: [РСФКР алтыншы шақырылымдағы Жоғарғы Кеңесінің үшінші сессиясында 1964 жылы 11 маусымда қабылданған]: ресми мәтін: 2001 жылғы 15 қарашажағы жағдайы бойынша / Ресей Федерациясының Әділет министрлігі.- М.: Маркетинг, 2001. - 159 б.

Стандарттар

Радиоэлектронды тұрмыстық аппаратура. Кіріс және шығыс параметрлері мен байланыстыру типтері. Техникалық талаптар [Мәтін]: MEMCT P517721 - 2001. - 2002-01 -01 енгізілген. - М.: Изд-во стандартов, 2001. - IV, 27 б.: ил.

Патенттік құжаттар

Қабылдаушы-беруші құрылғы [Мәтін]: пат. 2187888 Рес. Федерациясы: МПК Н 04 В 1/38, Н 04 Ј 13/00/ Чугаева В.И.; өтініш беруші мен патент иесі Воронеж, Байланысты ғылыми-зерттеу институты. - № 2000131736/09; өтініш берілген 18.12.00; жарияланған 20.08.02, Бюл. № 23 (ІІ б.). - 3 б: ил.

Диссертациялар, диссертацилардың авторефераттары

Белозеров И.В. Алтын Орданың 13-14 ғасырлардағы Ресейдегі діни саясаты [Мәтін]: тарих ғылымдары кандидатының дис.: 07.00.02: қорғалды 22.01.02: бекітілді 15.07.02 /Белозеров Иван Валентинович. -М., 2002. -215 с. -Библиогр.: б. 202-213. -04200201565.

Internet желісінен алынған құжаттың библиографиялық сипаттамасы

- 1 Бычкова Л.С. Конструктивизм // 20 ғасырдағы культурология «К». (http://www.philosophy.ru/edu/ref/enc/k.htm 1).
- 2 Мән психологиясы: Д.А. Леонтьевтің табиғаты, құрылымы және серпіні Бірінші басылым. 1999. (http://www.smysl.ru/annot.php).

Мақалалық әдебиетті ресімдеу кезінде жарияланымның авторларының толық тізімі берілуі тиіс (басқаларсыз).

Егер, мәтінде ескертулер бар болса, онда, негізгі мәтіннен кейін әдебиет көздерінің алдында, ортаға тегістелу арқылы «**Ескертпелер**» теріледі, және бір жолдан кейін, мәтін бойынша сілтеме ретінде жоғарғы индекс түрінде (мысалы, 1) санмен нөмірленген ескертулер мәтіні жазылады. Негізгі мәтіндегі ескертулерге сілтеме қалың емес қаріппен, жоғарғы индекс түріндегі санмен (мысалы, .... 1 үлгілі) ресімделеді.

**Кестелер** мәтін бойынша орналастырылады. Кестелердің нөмірленуі мәтін бойынша сілтемелер тәртібінде жүргізіледі. Кестенің нөмірлеу атауы қалың қаріппен, сол жаққа тегістеу арқылы жазылады (мысалы, **кесте 1**). Тақырыптық атау осы долда қалың емес қаріппен, сол жаққа тегістеу арқылы жазылады. Негізгі мәтінде кестеге сілтеме жақшада қалың қаріппен көрсетіледі – мысалы, (Кесте 1 – .....). Егер кесте улкен көлемді болса, жеке бетте, ал ені үлкен болса - бейімі альбомдық бетте орналастырылуы мүмкін.

**Суреттер** мәтін бойынша орналастырылады. Суреттердің нөмірленуі мәтін бойынша сілтемелер тәртібінде жүргізіледі. Нөмірлеу атауы қалың қаріппен, сол жаққа тегістеу арқылы жазылады (мысалы, **сурет 1**). Тақырыптық атауы (бар болған жағдайда) осы жолда, нөмірлеу атаудан кейін жазылады (мысалы, Сурет 1 — Тәуелділік...).

Негізгі мәтінде суретке сілтеме жақшада қалың қаріппен жазылады – мысалы, (сурет 1). Егер сурет

үлкен көлемді болса, жеке бетте, ал ені үлкен болса – бейімі альбомдық бетте орналастырылуы мүмкін. Суреттер түпнұсқадан скандау арқылы алынған (сұр түс градациясында 150 dpi) немесе компьютерлік графика құралдары арқылы орындалған болуы мүмкін. Суреттерді электрондық нұсқаның жеке файлына орналастыруға рұқсат етіледі, ал, үлкен көлемді иллюстрациялар (файл) болған жағдайда құпталады. Суреттерге қол қою тікелей суреттің астында орындалуы тиіс.

Формулалар. Қарапайым жолішілік және бір жолдық формулалар арнайы редакторларды пайдаланбай символдармен терілуі тиіс (Symbol, Greek Math Symbols, Math-PS, Math A Mathematica қаріптерінен арнайы символдарды пайдалануға рұқсат етіледі). Күрделі және көп жолды формулалар Microsoft Equation 2.0, 3.0 формула редакторларында толық терілуі тиіс. Формуланың бір бөлігін символдармен, ал бір бөлігін формула редакторында теруге жол берілмейді.

## Мақалаға қосымша беріледі:

- ілеспе хат (сыртқы ұйымдар үшін)
- кемінде екі сарапшының қорытындысы:
- 1) Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты сараптау комиссиясынан (ішкі сараптау);
  - 2) бейіні сай келетін сыртқы ұйымдардың тәуелсіз сараптшыларынан (сыртқы сараптау);
- 3) ағылшын тіліндегі мақалалар үшін БҚПҒЗИ «**Биобезопасность и Биотехнология/Биоқауіпсіздік және Биотехнология**» ғылыми-тәжірибелік журналының шетелдік редакторлық-сараптау кеңесінің ішінен бағыттар бойынша тәуелсіз сарапшыларынан.
- автор туралы мәліметтер: тегі, аты және әкесінің аты (толық), ғылыми дәрежесі, лауазымы, жұмыс орны, байланыс телефондары, хат алмасу деректері (e-mail).

Төлем сараптаудан өткеннен кейін және мақалаға рецензия алынғаннан кейін жүргізілуі тиіс. 1 мақаланы жариялауға төлеу қазақстандық ғалымдар мен ғылыми қызметкерлер үшін 2 АЕК-ті, ал, шетелдік авторлар үшін АҚШ 15 \$ құрайды.

## Көрсетілген талаптарға сәйкес келмейтін мақалалар жариялауға қабылданбайды.

#### Біздің мекен-жайымыз:

080409, Жамбыл облысы, Қордай ауданы, Гвардейский қтк., Б. Момышұлы к-сі, 15. ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМК Оқу ғылыми-білім беру орталығы (ОҒБО), тел. (726-36) 7-22-28, ішкі 112.

E-mail: unots@biosafety.kz

### Жарияланым үшін төлем жүргізу деректері:

**Бенефициар:** ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМК

Бенефициара банкі: «Қазақстан халық банкі» АҚ-ы

**Банк БСК-ы:** HSBKKZKX **ЖСК:**KZ656010131000155334 **ЖСК:**KZ766010131000133020 (USD)

**КБЕ:** 16 **ТМК: 859** 

**Төлем мақсаты:** «Биобезопасность и Биотехнология/Биоқауіпсіздік және Биотехнология» ғылымитәжірибелік журналында мақала жариялау.

## ТРЕБОВАНИЯ К НАУЧНЫМ СТАТЬЯМ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В ЖУРНАЛЕ «БИОБЕЗОПАСНОСТЬ И БИОТЕХНОЛОГИЯ»

Журнал принимает статьи по следующим направлениям науки:

- Ветеринария;
- Медицина;
- Биотехнология;
- Биологическая безопасность и биозащита;
- Молекулярная биология и генная инженерия;
- Фитосанитария.

#### Структурные требования к начальной части статьи:

1. УДК (универсальная десятичная классификация)

В начале статьи, вверху слева следует указать УДК

2. Инициалы и фамилии автора (-ов)

Посередине страницы обычным жирным шрифтом (С.С. Сеитов<sup>1</sup>, А.А. Ахметов<sup>2</sup>, Б.Б. Болатов<sup>3</sup>)

3. Место работы автора (-ов)

Название организации (ий), в которой выполнена работа, рядом с фамилией автора индексом указать цифру организации, эту же цифру указать в названии организации, затем город, страну (¹Казахский национальный аграрный университет, Алматы, Казахстан, ²Ставропольский государственный аграрный университет, Ставрополь, Российская Федерация, ³Западно-Казахстанский аграрно-технический университет им. Жангир-хана, Уральск, Казахстан).

- 4. Адреса e-mail авторов
- 5. Название статьи

Название статьи прописными жирными буквами (около 30-40 символов)

- 6. Аннотация на языке текста публикуемого материала (не более 150 слов)
- 7. Ключевые слова (6-10 слов)

# Структурные требования к разделам статьи:

Статья должна содержать следующие разделы:

- 1 Аннотация
- 2. Введение
- 3. Методикаисследований
- 4. Полученные результаты исследований
- 5. Обсуждение результатов
- 6. Выводы (заключение)
- 7. Литература

Аннотация должна быть на двух других языках, отличающихся от языка публикуемого материала (не более 150 слов). Аннотация – это не зависимый от статьи источник информации. Ее пишут после завершения работы над основным текстом статьи. Она включает характеристику основной темы, проблемы, объекта, цели работы и ее результаты. В ней указывают, что нового несет в себе данный документ в сравнении с другими, родственными по тематике и целевому назначению. Аннотации должны быть оформлены по международным стандартам и включать следующие моменты:

- 1. Вступление по теме исследования.
- 2. Цель научного исследования.
- 3. Описание научной и практической значимости работы.
- 4. Описание методологии исследования.
- 5. Основные результаты, выводы исследовательской работы.
- 6. Ценность проведенного исследования (какой вклад данная работа внесла в соответствующую область знаний).
  - 7. Практическое значение итогов работы.

В аннотации не должен повторяться текст самой статьи (нельзя брать предложения из статьи и переносить их в аннотацию), а также ее название. В ней не должно быть цифр, таблиц, внутри – текстовых сносок.

В аннотации должны излагаться основные моменты результатов и заключения исследовательской работы, и не должно содержать материал, который отсутствует в самой статье.

**Введение** включает актуальность данного исследования иобзор найденных автором литературных источников (статей, патентов, отчетов, информации из Интернета) по этой теме. Также, в этом разделе указывается цели и задачи исследования, предполагаемые гипотезы и формулировки. Этот раздел обычно составляет 5-10 % от общего объема статьи.

**Методика исследований.** В этом разделе описываются материалы и методы, использованные в НИР. Нет необходимости указывать методологические особенности, если это не впервые публикуемая методика. При необходимости, описываются ключевые моменты методологии. Этот раздел обычно составляет 10-20 % от общего объема статьи.

Основные результаты исследований. По объему этот раздел занимает центральное место в научной статье. Это основной раздел, цель которого заключается в том, чтобы при помощи анализа, обобщения и разъяснения данных доказать рабочую гипотезу (гипотезы). Результаты при необходимости подтверждаются иллюстрациями - таблицами, графиками, рисунками, которые представляют исходный материал или доказательства в свернутом виде. Важно, чтобы проиллюстрированная информация не дублировала текст. Представленные в статье результаты желательно сопоставить с предыдущими работами в этой области как автора, так и других исследователей. Такое сравнение дополнительно раскроет новизну проведенной работы, придаст ей объективности. Эта часть обычно составляет 50-55 % от общего объема статьи.

**Обсуждение полученных данных.** Этот раздел содержит интерпретацию полученных данных, описываются выявленные закономерности, включать таблицы и рисунки не дублирующие друг друга. Результаты рекомендуется излагать в прошедшем времени. Обсуждение не должно повторять описание результатов исследования.

Заключение. Заключение содержит краткую формулировку результатов исследования. В этом разделе необходимо сопоставить полученные результаты с обозначенной в начале работы целью. В заключении суммируются результаты осмысления темы, делаются выводы, обобщения и рекомендации, которые вытекают из работы, подчеркивается их практическая значимость, а также определяются основные направления для дальнейшего исследования в этой области. В заключительную часть статьи желательно включить попытки прогноза развития рассмотренных вопросов.

Сведения, содержащиеся в заглавии статьи, не должны повторяться в тексте авторского резюме. Рекомендуемый объем -10-15 % от общего объема статьи.

Если в тексте есть примечания, то после основного текста перед списком литературы набирается по центру заглавие «**Примечания**», и через строку помещается текст примечаний, пронумерованные числом в виде верхнего индекса (например, 1) в порядке ссылок по тексту. Ссылка на примечания в основном тексте оформляется не жирным шрифтом, числом в виде верхнего индекса (например, ... модели 1).

**Таблицы** помещаются по тексту. Нумерация таблиц производится в порядке ссылок по тексту. Нумерационный заголовок таблицы набирается нежирным шрифтом с выравниванием по центру (например, Таблица 1 — название таблицы). Тематический заголовок (если имеется) набирается на этой же строке нежирным шрифтом с выравниванием по центру. Ссылка на таблицу в основном тексте оформляется нежирным шрифтом в скобках - например, (таблица 1). Если таблица имеет большой объем, она может быть помещена на отдельной странице, а в том случае, когда она имеет значительную ширину — на странице с альбомной ориентацией.

Рисунки размещаются по тексту. Нумерация рисунков производится в порядке ссылок по тексту. Нумерационный заголовок набирается нежирным шрифтом с выравниванием по центру (например, Рисунок 1 — название рисунка). Ссылка на рисунок в основном тексте оформляется нежирным шрифтом в скобках - например, (рисунок 1). Если рисунок имеет большой формат, он должен быть помещен на отдельной странице, а в том случае, когда он имеет значительную ширину — на странице с альбомной ориентацией. Рисунки могут быть сканированными с оригинала (150 spi в градациях серого) или выполнены средствами компьютерной графики. Допускается, а в случае с иллюстрациями большого объема (файла), приветствуется, размещение рисунков в отдельном файле электронной версии. Подписи к рисункам должны быть выполнены непосредственно под рисунком.

**Формулы.** Простые внутри строчные и однострочные формулы должны быть набраны символами без использования специальных редакторов (допускается использование специальных символов из шрифтов Symbol, Greek Math Symbols, Math-PS, Math AMathematica BTT). Сложные и многострочные формулы должны быть целиком набраны в редакторе формул Microsoft Equation 2.0, 3.0. Не допускается набор – часть формулы символами, а часть – в редакторе формул.

**Литература.** Этот раздел содержит библиографические сведения о цитируемом, рассматриваемом, или упоминаемом в тексте статьи другом документе, необходимые и достаточные для его идентификации, поиска и общей характеристики. Не рекомендуется ссылаться на источники, которым более 5 лет. Ссылки давать на недавно опубликованные статьи, самоцитирование допускается в минимальном количестве. Ниже основного текста (или текстов примечаний) печатается поцентру заглавие «**ЛИТЕРАТУРА**», затем, через строку, помещается пронумерованныйперечень источников в порядке ссылок по тексту, в соответствии с действующимитребованиями к библиографическому описанию. В одном пункте перечня следуетуказывать только один источник информации. Ссылки на источники информацииоформляются числами, заключенными в квадратные скобки (например, [1]).

Библиографические описания оформляются в соответствии с ГОСТ 7.1-2003 и тщательновыверяются. Если ссылка на источник информации в тексте статьи повторяется, то, повторно, в квадратных скобках указывается его номер из списка (без использования вбиблиографическом списке следующего порядкового номера и ссылки «Там же»). Вслучае ссылки на различные материалы из одного источника, необходимо каждый раз указать еще и номер страницы в квадратных скобках. Например, [1, 17] или [1, 28-29].

В качестве примера приводятся наиболее распространенные описания –статьи, книги, материалы конференций, патенты и электронные ресурсы, например:

Книга под фамилией автора

- 1 Максимов Н.В., Партыка Т.Л., Попов И.И. Архитектура ЭВМ и вычислительных систем: учеб. для вузов. М.: Инфра, 2005.-512 с.
- 2 Душков Б.А., Королев А.В., Смирнов Б.А. Психология труда, профессиональной, информационной и организационной деятельности: учеб. пособие для вузов. М: Академический проект, 2005. 848с.

Книга под заглавием

Описание книги дается на заглавие, если книга написана четырьмя и более авторами. На заглавие описываются коллективные монографии, сборники статей и т.п.

- 1 Мировая художественная культура: в 2-х т. / Б.А. Эренгросс [и др.]. М.: Высшая школа, 2005. Т.2. 511 с.
- 2 Комплекс контрольных заданий и тестов по экономическому анализу: учеб-метод, пособие для вузов / А.А. Сливинская [и др.]. Елец: Изд-во Елецкого гос. ун-та, 2003. 73 с.

Законодательные материалы

1 Конституция Российской Федерации. - М.: Приор, 2001. - 32 с. Гражданский процессуальный кодекс РСФСР [Текст]: [приняттретьей сес. Верхов. Совета РСФСР шестого созыва 11 июня 1964 г.]: офиц. текст: по состоянию на 15 нояб. 2001 г. / М-во юстиции Рос. Федерации.- М.: Маркетинг, 2001. - 159 с.

Стандарты

1 Аппаратура радиоэлектронная бытовая. Входные и выходные параметры и типы соединений. Технические требования: ГОСТ Р517721 - 2001. - Введ. 2002-01 -01. - М.: Изд-во стандартов, 2001. - IV, 27 с.: ил.

Патентные документы

1 Приемопередающее устройство: пат. 2187888 Рос. Федерация: МПК Н 04 В 1/38, Н 04 Ј 13/00/ Чугаева В.И.; заявитель ипатентообладатель Воронеж, науч. - ислед. ин-т связи. - № 2000131736/09; заявл. 18.12.2000; опубл. 20.08.2002, Бюл. № 23 (II ч.). - 3 с: ил.

Диссертации, авторефераты диссертаций

1 Белозеров И.В. Религиозная политика Золотой Орды на Руси в 13-14 вв.: дис... канд. ист. наук: 07.00.02: защищена 22.01.2002: утв.15.07.2002 /Белозеров Иван Валентинович. -М., 2002. -215 с. -Библиогр.: с. 202-213. -04200201565.

Библиографическое описание документа из Internet

- 1 Бычкова Л.С. Конструктивизм // Культурология 20 век «К». (http://www.philosophy.ru/edu/ref/enc/k. htm 1).
- 2 Психология смысла: природа, строение и динамика Леонтьева Д.А. -Первое изд. 1999. (http://www.smysl.ru/annot.php).

## Основные требования к оформлению научной статьи.

Статья должна быть объемом 5-11 страниц (включая рисунки и таблицы) на одном из языков: казахском, русском или английском.

Текст должен быть набран в редакторе Microsoft Word, шрифт Times New Roman размера 12, одинарный интервал. Текст следует печатать, соблюдая следующие размеры полей: верхнее и нижнее -2 см, левое и правое -2 см. Выравнивание - по ширине (с автоматической расстановкойпереносов). Межстрочный интервал - одинарный. Абзацный отступ -1,2.

#### К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

К статье прилагаются:

- сопроводительное письмо (для сторонних организаций)
- заключения не менее двух экспертов:
- 1) от экспертной комиссии Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности (внутренняя экспертиза);
  - 2) от независимых экспертов сторонних профильных организаций (внешняя экспертиза);
- сведения об авторе: фамилия, имя и отчество (полностью), ученая степень, должность, место работы, контактные телефоны, адрес для переписки (e-mail).

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

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

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

Направление статьи в Редакцию означает, что авторы не передали аналогичный материал (в оригинале

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

#### Наш адрес:

080409, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, ул. Момышулы 15 РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК Учебный научно-образовательный центр (УНОЦ), тел. (726-36) 7-22-28, вн. 112.

E-mail: unots@biosafety.kz

## ОПЛАТА ЗА ПУБЛИКАЦИЮ СТАТЕЙ

Оплата производится после одобрения статьи и включения в номер журнала. Автору высылается письмо с реквизитами об оплате. Если оплату производит организация, необходимо нам отправить реквизиты организации для составления договора.

Размер оплаты за публикацию 1 статьи для казахстанских ученых и научных сотрудников составляет 2 МРП, авторам из зарубежных стран – 15 \$ США.

## Реквизиты для оплаты публикации:

**Бенефициар:** РГП на ПХВ «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК

Банк бенефициара: АО «Народный банк Казахстана»

**БИК банка:** HSBKKZKX **ИИК:**KZ656010131000155334

ИИК:KZ766010131000133020 (USD)

**КБЕ:** 16 **КНП: 859** 

**Назначение платежа:** Публикация статьи в научно-практическом журнале «Биоқауіпсіздік және Биотехнология/Биобезопасность и Биотехнология».

### **AUTHOR INSTRUCTIONS TO THE JOURNAL**

The journal accepts articles in the following areas of science:

- Veterinary medicine;
- Medicine;
- Biotechnology;
- Biological safety and biosecurity;
- Molecular biology and genetic engineering;
- Phytosanitary.

### Structural requirements for the initial part of the article:

- 1 DOI
- 2 Name, surname of the author (s)
- 3 Place of work of the author (s)
- 4 Title of article
- 5 An annotation in the language of the text of the published material (not more than 150 words)
- 6 Keywords (no more than 10 words/phrases)

### Structural requirements for sections of the article:

The article should contain the following sections:

- 1. Abstract
- 2. Introduction
- 3. Research methodology
- 4. The obtained research results
- 5. Discussion of the results of research
- 6. Conclusions (conclusion)

#### 7. References

The abstract should be in two other languages that differ from the language of the published material (no more than 150 words). The abstract is a source of information independent of the article. It is written after completion of the main text of the article. It includes a description of the main topic, problem, object, purpose of the work and its results. It indicates what the new document bears in itself in comparison with others related to the subject and purpose. Abstracts should be formatted according to international standards and include the following points:

- 1 Introduction to the research topic.
- 2 The purpose of scientific research.
- 3 Description of the scientific and practical significance of the work.
- 4 Description of the research methodology.
- 5 The main results, conclusions of the research work.
- 6 The value of the study (what contribution this work made to the relevant knowledge field).
- 7 The practical significance of the results of the work.

The abstract should not repeat the text of the article itself (you cannot take sentences from the article and transfer them to the abstract), as well as its title. It should not contain numbers, tables, intra-text footnotes.

The abstract should set out the main points of the results and conclusions of the research work, and should not contain material that is not in the article itself.

*Acknowledgements* (this section is needed if the article was prepared as part of a grant, or to express gratitude to those who contributed to the published work, but were not included in the number of co-authors). It is usually indicated at the end of the publication.

Full name of the author (s) are indexed with the workplaces of each. For example, (S.S. Seitov<sup>1</sup>, A.A. Akhmetov<sup>2</sup>, B.B. Bolatov<sup>3</sup>)

Place of work of the author (s). For example: ¹Kazakh National Agrarian University, Almaty, Kazakhstan; ²Stavropol State Agrarian University, Stavropol, Russia; ³Western Kazakhstan Agrarian Technical University named after Zhangir Khan, Oral, Kazakhstan.

#### On the content of the article

The article should contain only original material reflecting the results of research by the author. In the abstract (from 50 to 150 words), revealing the main content of the article, and in the final part (conclusions, from 50 to 150 words) of the article, it is necessary to reflect the novelty of the research results, their practical significance.

### Basic requirements for the execution of a scientific article.

The article should be 5-11 pages long (including figures and tables) in one of the languages: Kazakh, Russian or English.

The text should be typed in the Microsoft Word editor, font Times New Roman size 12, single spacing. The text should be printed, observing the following margins: top and bottom -2 cm, left and right -2 cm. Justification - breadthwise (with automatic hyphenation). Line spacing is single. Indention -1.25.

The **DOI** is affixed in the upper left corner of the sheet. Below, after one interval center alignment - in italics, initials, surnames of the author (s), a line below the full name of the organization (s), then, separated by a comma, it is necessary to indicate the city, the name of the country (for foreign authors), thencenter alignment – in capital letters the name of the article. Even lower, through the line, follows the text of the abstract (from 50 to 150 words) and keywords in the language of the text of the published material (no more than 10 words/phrases). Next, through the line, the main text of the article is placed, consisting of the following sections:

**Introduction.** This section includes the relevance of this study and a review of literature found by the author (articles, patents, reports, information from the Internet) on this topic. Also, this section indicates the goals and objectives of the study, hypotheses and statements. This section usually accounts for 5-10 % of the total article.

**Research methodology.** This section describes the materials and methods used in research. There is no need to indicate methodological features if this is not the first published methodology. If necessary, the key points of the methodology are described. This section usually accounts for 10-20 % of the total article.

**Key research findings.** By volume, this section is takes central place in the scientific article. This is the main section, the purpose of which is to use the analysis, synthesis and explanation of the data to prove the working hypothesis (hypotheses). The results, if necessary, are confirmed by illustrations - tables, graphs, figures, which represent the source material or evidence in folded form. It is important that the illustrated information does not duplicate the text. It is desirable to compare the results presented in the article with previous works in this area by both the author and other researchers. Such a comparison will additionally reveal the novelty of the work done, give it objectivity. This part usually accounts for 50-55 % of the total article volume.

**Discussion of the obtained data.** These parts of the article contain an interpretation of the data obtained, describethe revealed patterns, include tables and figures not duplicating each other. Results are recommended to be stated in the past tense. The discussion should not repeat the description of the study results.

**Conclusion.** The conclusion contains a brief statement of the results of the study. In this section, it is necessary to compare the results obtained with the goal indicated at the beginning of the work. In conclusion, the results of comprehension of the topic are summarized, conclusions, generalizations and recommendations that arise from the work are made, their practical significance is emphasized, and the main directions for further research in this area are determined. In the final part of the article, it is desirable to include attempts to forecast the development of the issues addressed. The information contained in the title of the article should not be repeated in the text of the author's summary. The recommended volume is 10-15 % of the total volume of the article.

**References**. This section contains bibliographic information about another document cited, considered, or referred to in the text of the article, necessary and sufficient for its identification, search, and general characteristics. It is not recommended to refer to sources that are more than 5 years old. Links to recently published articles, self-citation is allowed in a minimal amount. Required links to articles from the scientific and practical journal RIBSP, in which the article is submitted. The article must refer to previously published articles in our journals. Below the main text (or texts of notes), the title "**REFERENCES**" is printed in the center, then, through a line, a numbered list of sources is placed in the order of references in the text, in accordance with the current requirements for bibliographic description. Only one source of information should be indicated in one list item. References to information sources are drawn up in numbers enclosed in square brackets (for example, [1]).

Bibliographic descriptions are drawn up in accordance with GOST 7.1-2003 and carefully verified. If the link to the source of information in the text of the article is repeated, then, repeatedly, in square brackets indicate its number from the list (without using the following serial number and the link "Ibid" in the bibliographic list). In the case of links to various materials from the same source, you must also indicate each time the page number in square brackets. For example, [1, 17] or [1, 28-29].

The most common descriptions – articles, books, conference proceedings, patents and electronic resources are given as an example, for example:

Book under the name of the author

- 1 Maximov N.V., Partyka T.L., Popov I.I. Architecture of computers and computing systems: Textbook for universities. M.: Infra M, 2005.-512 p.
- 2 Dushkov B.A., Korolev A.V., Smirnov B.A. Psychology of labor, professional, informational and organizational activities: Textbook for universities. M: Academic project, 2005.-848 p.

Book under the title.

The description of the book is given in the title if the book is written by four or more authors. The title describes collective monographs, collections of articles, etc.

- 1 World art culture: in 2 volumes / B.A. Erengross [et al.]. M.: Higher School, 2005. Vol.2. 511 p.
- 2 A set of control tasks and tests for economic analysis: a training method, a manual for universities / A.A. Slivinskaya [et al.]. Yelets: Publishing house of the Yelets state University, 2003.- 73 p.

Legislative materials

The Constitution of the Russian Federation . - M.: Prior, 2001 .-- 32 p. The Code of Civil Procedure of the RSFSR: [adopted on the third session of the Supreme Council of the RSFSR of the sixth convocation on June 11, 1964]: offic. text: as of Nov 15 2001 / Ministry of Justice of RF. - M.: Marketing, 2001. - 159 p.

Standards

Household electronic equipment. Input and output parameters and connection types. Technical requirements [Text]: GOST R 517721 - 2001. - Introduction. 2002-01-01. - M .: Publishing house of standards, 2001. - IV, 27 p.: Ill.

Patent documents

Transceiver: Pat. 2187888 Russ. Federation: IPC H 04 B 1/38, H 04 J 13/00 / Chugayeva V.I.; applicant and patent holder Voronezh, scientific – research Institute of Communication. - No. 2000131736/09; declared 12/18/00; publ. 08/20/02, Bull. No. 23 (II hour). - 3 s: ill.

Dissertations, abstracts of dissertations

Belozerov I.V. The religious policy of the Golden Horde in Russia in the 13-14 centuries: cand. of Hist. Sciences: 07.00.02: defended 01.22.02: approved. July 15, 02 / Belozerov Ivan Valentinovich. -M., 2002.215 s. -Bibliogr.: p. 202-213. -04200201565.

Bibliographic Description of a Document from the Internet

- 1 Bychkova L.S. Constructivism // Cultural Studies 20th Century "K". (http://www.philosophy.ru / edu / ref / enc / k.htm 1).
- 2 The psychology of meaning: nature, structure and dynamics Leontieva D.A. -First ed. 1999. (http://www.smysl.ru/annot.php).

When preparing article literature, it is necessary to provide a complete list of authors of the publication (without etc.).

If there are notes in the text, then after the main text the heading "Notes" is typed in the center, and the text of the notes, numbered by a number in the form of a superscript (for example 1) in the order of links in the text, is placed in a line. The link to the notes in the main text is drawn up not in bold, but as a superscript (for example, ... of model 1).

**Tables** are placed on the text. The numbering of the tables is carried out in the order of links in the text. The numbering heading of the table is typed in bold with left justification (for example, Table 1). The thematic title (if any) is typed on the same line in bold with left justification. The link to the table in the main text is made in bold in brackets - for example, (table 1). If the table has a large volume, it can be placed on a separate page, and in the case when it has a significant width - on a page with landscape orientation.

**Figures** are placed on the text. Numbering of figures is made in the order of links in the text. The numbering heading is typed in bold and centered (for example, Figure 1). Thematic title (if available).

- in the same line immediately after the numbering line (for example, Figure 1 – Dependence).

The link to the figure in the main text is made in bold in brackets - for example (Figure 1). If the picture has a large format, it should be placed on a separate page, and in the case when it has a significant width - on a page with landscape orientation. Pictures can be scanned from the original (150 spi in grayscale) or executed by computer graphics. It is allowed, and in the case of illustrations of a large volume (file), the placement of figures in a separate file of the electronic version is welcome. Captions for drawings should be made directly below the drawing.

### Attached to the article:

- cover letter (for third-party organizations)
- conclusions of at least two experts:
- 1) from the expert commission of the Research Institute for Biological Safety Problems (internal expertise);
- 2) from independent experts of third-party specialized organizations (external expertise);
- 3) for articles in English from an independent expert in areas from among the foreign editorial and expert council of the scientific and practical journal of RIBSP "Биоқауіпсіздік және Биотехнология/Биобезопасность и Биотехнология".
- information about the author: surname, name and patronymic (in full), academic degree, position, place of work, contact phones, address for correspondence (e-mail).

Payment should be made after passing the examination and receiving a review of the article. The payment for the publication of 1 article for Kazakhstani scientists and researchers is 2 monthly calculation indexes, for authors from foreign countries – \$15 US.

## Articles that do not meet the specified requirements are not accepted for publication.

#### Our address:

15, B. Momyshuly Street, Gvardeyskiy, Korday, Zhambyl oblast, 080409.

RSE "Research Institute for Biological Safety Problems" SC MES RK

Scientific and Educational Training Center (SETC), tel. (726-36) 7-22-28, int. 112.

E-mail: unots@biosafety.kz

#### **Details for payment of publication:**

**Beneficiary:** RSE at REM "Scientific Research Institute of Biological Safety Problems" of the Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan

**BIC of bank:** HSBKKZKX **IIC:**KZ656010131000155334

IIC:KZ766010131000133020 (USD)

BC: 16 PPC: 859

**Payment destination:** Publication of an article in a scientific and practical journal «Биоқауіпсіздік және Биотехнология/Биобезопасность и Биотехнология».

81

## МАЗМҰНЫ

ВЕТЕРИНАРИЯ
Алиева А.Б., Кайсенов Д.Н., Далбаев Н.К., Әділ Т.С., Баракбаев К.Б.
ШОШҚАЛАРДА PASTEURELLA MULTOCIDA ШТАММДАРЫНЫҢ ОҢТАЙЛЫ ЖҰҚТЫРУШЫ ЖӘНЕ ИММУНИНДЕУШ
ДОЗАСЫН АНЫҚТАУ
Мамбеталиев М., Килибаев С.С., Абсатова Ж.С., Азанбекова М.А., Кенжебаева М.К., Жугунисов К.Д.
ТҮЙЕ КҮЛІНЕ ҚАРСЫ ВАКЦИНАНЫҢ ИММУНОГЕНДІК ҚАСИЕТІ
Мырзахметова Б.Ш., Наханов А.К., Исимов А.М., Кутумбетов Л.Б.
ЗЕРТХАНАЛЫҚ ЖАҒДАЙДА ДАМЫЛСЫЗ ӨСУГЕ БЕЙІМДЕЛГЕН ҚОЗЫНЫҢ ЖЫНЫСТЫҚ ҰЛПАСЫНАН АЛЫНҒАН
ЖАСУША ӨСІНДІСІН САҚТАУ ЖӘНЕ КӨБЕЙТУ
Наханова Г.Д., Сейсенбаева М.А., Оразымбетова Н.К., Исмагамбетов Б.М., Кошеметов Ж.К.
АУЕСКИ АУРУЫНЫҢ «ҚОРДАЙ» ШТАМЫН ӨСІРУ21
<b>Нурпейсова А.С., Касенов М.М., Джекебеков К.К., Абитаев Р.Т., Хайруллин Б.М., Асанжанова Н.Н., Кыдырбаев Ж.</b> ҚҰС ТҰМАУЫНЫҢ Н7 СУБИПІНЕ ҚАРСЫ ИНАКТИВТЕЛІП ЭМУЛЬДЕНГЕН ВАКЦИНАСЫНЫҢ ТӘЖІРИБЕЛІК ӨНДІРІСТІК СЕРИЯСЫН КОМИССИЯЛЫҚ СЫНАҚТАН ӨТКІЗУ
Сущих В.Ю., Лухнова Л.Ю., Канатов Б., Нурлан К., Дюсенов С., Юсупов М.
«БА-12» ЗАРАРСЫЗДАНДЫРУ ҚҰРАЛЫНЫҢ ҚАСИЕТТЕРІН ТОПАЛАҢ СПОРАСЫМЕН ЛАСТАНҒАН ТОПЫРАҚТЫ
ЖӘНЕ ВЕТЕРИНАРИЯЛЫҚ НЫСАНДАРДЫҢ БЕТТЕРІН ӨҢДЕУДЕ ПАЙДАЛАНУ ҮШІН ЗЕРТТЕУ30
Шарипов Р.М., Барамова Ш.А., Мирзоев Д.М., Раджабов Х.И., Атовуллозода Р.А.
ТӘЖІКСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНДА СҮТПЕН САҚИНАЛЫ РЕАКЦИЯСЫ ӘДІСІМЕН ІРІ ҚАРА МАЛДЫҢ БРУЦЕЛЛЕЗІН
БАЛАУ ҮШІН ҚАЗАҚ ҒЗВИ БІРЫҢҒАЙ ТҮСТІ АНТИГЕНІН ПАЙДАЛАНУ НӘТИЖЕЛЕРІ
МЕДИЦИНА
Салканова Б.К., Маслова Л.В., Досумова Г.К., Пралиева Ж.К., Мейрманова Б.М., Жакина А.К., Илюбаева Н.Н.,
Шажалиева А.Ж., Рапш К.И., Беркинбаева А.М., Борисов А.А., Дагысов Д.С., Мубараков Д.Ж.
2020 ЖЫЛДЫҢ НАУРЫЗ АЙЫНЫҢ 12 МЕН МАУСЫМ АЙЫНЫҢ 22 АРАЛЫҒЫНДА АҚМОЛА ОБЛЫСЫНЫҢ
МЕМЛЕКЕТТІК ҚЫЗМЕТКЕРЛЕРІ ЖӘНЕ МЕДИЦИНАЛЫҚ ҰЙЫМДАРЫ ҚЫЗМЕТКЕРЛЕРІНІҢ АРАСЫНДА COVID-19
АУРУЫМЕН АУЫРҒАНДАР МОНИТОРИНГІ
молекуль и истиология чеме гении ниченерия
молекулалық биология және гендік инженерия Балама К. С.
Бурашев Е.Д., Исабек А.У., Садикалиева С.О., Касенов М.М., Султанкулова К.Т.
ҚҰС ТҰМАУ ВИРУСЫНЫҢ ТАЗАРТЫЛҒАН АҚУЫЗ ПРЕПАРАТТАРЫНЫҢ КРИСТАЛЛИЗАЦИЯСЫ
Садикалиева С.О., Тайлакова Э.Т., Исабек А.У., Шыныбекова Г.О., Султанкулова К.Т., Червякова О.В. ҚОЙ ШЕШЕГІНІР РЕКОМБИНАНТТЫ ВИРУСЫМЕН ОМР 25 BRUCELLA SPP. АҚУЫЗ ЭКСПРЕССИЯСЫНЫҢ ДЕҢГЕЙІН БАҒАЛАУ ҮШІР
БӘСЕКЕЛІ ИФТ ТІКЕЛЕЙ ЕМЕС ӘДІСІН ӘЗІРЛЕУ ЖӘНЕ ҚОЛДАНУ
Султанкулова К.Т., Кожабергенов Н.С., Джекебеков К.К., Алмежанова М.Д., Исабек А.У., Мухами Н.Н., Червякова О.В.
<b>Орынбаев М.Б.</b> 2019 ЖЫЛҒЫ «ШАҚПАҚ» ОРНИТОЛОГИЯЛЫҚ СТАНЦИЯСЫНДАҒЫ ЖАБАЙЫ ҚҰСТАР АРАСЫНДА А ТҰМАУЫНЫҒ
МОНИТОРИНГІСІ
MONITOPHINI ICI
ФИТОСАНИТАРИЯ
Ысқақова Г.Ш., Байгутов М.Ж., Асраубаева А.М., Реалиев А.С.
САБАҚ ЖӘНЕ ЖАПЫРАҚ ТАТЫНА ТӨЗІМДІЛІГІ БОЙЫНША ЖАЗДЫҚ БИДАЙ СОРТТАРЫ МЕН ЛИНИЯЛАРЫНЫҢ
КОЛЛЕКЦИЯСЫНА СКРИНИНГ ЖҮРГІЗУ
KOJBIEKQIDICBIIIV CKI IIIIIII JATTI 193
МАЛ ШАРУАШЫЛЫҒЫ
Стамқұлова А.Ә., Алмежанова М.Д., Тлепов А.А.
ЖАМБЫЛ ОБЛЫСЫНДА ӨСІРІЛЕТІН ОҢТҮСТІК ҚАЗАҚ МЕРИНОСЫНЫҢ ЖҮН ӨНІМДІЛІГІНІҢ ЕРЕКШЕЛІКТЕРІ 62
Ершебулов З.Д.
НОДУЛЯРЛЫҚ ДЕРМАТИТКЕ ҚАРСЫ ОТАНДЫҚ ВАКЦИНА
ЖУРНАЛДА ЖАРИЯЛАУ ҮШІН ҒЫЛЫМИ МАҚАЛАЛАРҒА ҚОЙЫЛАТЫН ТАЛАПТАР71

# СОДЕРЖАНИЕ

ВЕТЕРИНАРИЯ
Алиева А.Б., Кайсенов Д.Н., Далбаев Н.К., Әділ Т.С., Баракбаев К.Б. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНОЙ ИНФИЦИРУЮЩЕЙ И ИММУНИЗИРУЮЩЕЙ ДОЗЫ ШТАММОВ PASTEURELLA MULTOCIDA НА СВИНЬЯХ
Мамбеталиев М., Килибаев С.С., Абсатова Ж.С., Азанбекова М.А., Кенжебаева М.К., Жугунисов К.Д. ИММУНОГЕННЫЕ СВОЙСТВА ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ОСПЫ ВЕРБЛЮДОВ
<b>Мырзахметова Б.Ш., Наханов А.К., Исимов А.М., Кутумбетов Л.Б.</b> ПОДДЕРЖАНИЕ И ПРОИЗВОДСТВО ПЕРЕСЕВАЕМОЙ КУЛЬТУРЫ КЛЕТОК ИЗ ТЕСТИКУЛЯРНОЙ ТКАНИ ЯГНЯТ Н
ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ
КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ШТАММА «КОРДАЙ» БОЛЕЗНИ АУЕСКИ
<b>Нурпейсова А.С., Касенов М.М., Джекебеков К.К., Абитаев Р.Т., Хайруллин Б.М., Асанжанова Н.Н., Кыдырбаев Ж</b> КОМИССИОННЫЕ ИСПЫТАНИЯ ОПЫТНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СЕРИИ ВАКЦИН ИНАКТИВИРОВАННОЙ ЭМУЛЬГИРОВАННОЙ ПРОТИВ ГРИППА ПТИЦ СУБТИПА Н7
Сущих В.Ю., Лухнова Л.Ю., Канатов Б., Нурлан К., Дюсенов С., Юсупов М.
ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ ДЕЗИНФИЦИРУЮЩЕГО СРЕДСТВА «БА-12», ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ПОВЕРХНОСТНОЙ ОБРАБОТКИ ПОЧВЫ, ОБСЕМЕНЕННОЙ СПОРАМИ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ И ВЕТЕРИНАРНЫХ ОБЪЕКТОВ
РЕЗУЛЬТАТЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ЕДИНОГО ЦВЕТНОГО АНТИГЕНА КАЗАХСКОГО НИВИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ
БРУЦЕЛЛЁЗА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА МЕТОДОМ КОЛЬЦЕВОЙ РЕАКЦИИ С МОЛОКОМ В РЕСПУБЛИКІ ТАДЖИКИСТАН
МЕДИЦИНА Салканова Б.К., Маслова Л.В., Досумова Г.К., Пралиева Ж.К., Мейрманова Б.М., Жакина А.К., Илюбаева Н.Н., Шажалиева А.Ж., Рапш К.И., Беркинбаева А.М., Борисов А.А., Дагысов Д.С., Мубараков Д.Ж. МОНИТОРИНГ ЗАБОЛЕВАЕМОСТИ СОVID-19 СРЕДИ ПЕРСОНАЛА МЕДИЦИНСКИХ ОРГАНИЗАЦИЙ И ГОССЛУЖАЩИХ АКМОЛИНСКОЙ ОБЛАСТИ РК ЗА ПЕРИОД С 12 МАРТА ПО 22 ИЮНЯ 2020 ГОДА
молекулярная биология и генная инженерия
Бурашев Е.Д., Исабек А.У., Садикалиева С.О., Касенов М.М., Султанкулова К.Т.
КРИСТАЛЛИЗАЦИЯ ОЧИЩЕННЫХ БЕЛКОВЫХ ПРЕПАРАТОВ ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ
Садикалиева С.О., Тайлакова Э.Т., Исабек А.У., Шыныбекова Г.О., Султанкулова К.Т., Червякова О.В. РАЗРАБОТКА И ПРИМЕНЕНИЕ НЕПРЯМОГО МЕТОДА КОНКУРЕНТНОГО ИФА ДЛЯ ОЦЕНКИ УРОВНЯ ЭКСПРЕССИВ
БЕЛКА ОМР25 BRUCELLA SPP. РЕКОМБИНАНТНЫМ ВИРУСОМ ОСПЫ ОВЕЦ
Султанкулова К.Т., Кожабергенов Н.С., Джекебеков К.К., Алмежанова М.Д., Исабек А.У., Мухами Н.Н., Червякова О.В.
<b>Орынбаев М.Б.</b> МОНИТОРИНГ ГРИППА А СРЕДИ ДИКИХ ПТИЦ ОРНИТОЛОГИЧЕСКОЙ СТАНЦИИ «ШАКПАК» В 2019 ГОДУ
<b>ФИТОСАНИТАРИЯ Ыскакова Г.Ш., Байгутов М.Ж., Асраубаева А.М., Рсалиев А.С.</b> СКРИНИНГ КОЛЛЕКЦИИ СОРТОВ И ЛИНИЙ ЯРОВОЙ ПШЕНИЦЫ ПО УСТОЙЧИВОСТИ К СТЕБЛЕВОЙ И ЛИСТОВОЙ РЖАВЧИНЕ
животноводство
Стамкулова А.А., Алмежанова М.Д., Тлепов А.А. ОСОБЕННОСТИ ПРОДУКТИВНОСТИ ШЕРСТИ ЮЖНОКАЗАХСКОГО МЕРИНОСА ЖАМБЫЛСКОЙ ОБЛАСТИ
<b>Ершебулов З.Д.</b> ОТЕЧЕСТВЕННАЯ ВАКЦИНА ПРОТИВ НОДУЛЯРНОГО ДЕРМАТИТА
TREEORAHIAS V ARTORAM TITS TIVETUVALIJAJA R WYDHATE 71

83

### **CONTENTS**

VETERINARY MEDICINE
Aliyeva A.B., Kaisenov D.N., Dalbayev N.K., Adil T.S., Barakbayev K.B.
DEFINITION OF OPTIMAL INFECTING AND IMMUNIZING DOSE OF PASTEURELLA MULTOCIDA STRAINS FOR PIGS5
Mambetaliyev M., Kilibayev S.S., Absatova Zh., Azanbekova M., Kenzhebayeva M., Zhygunissov K.
IMMUNOGENIC CHARACTERISTICS OF VACCINE AGAINST CAMELPOX
Myrzakhmetova B.Sh., Nakhanov A.K., Issimov A.M., Kutumbetov L.B.
THE MAINTENANCE AND PRODUCTION OF TRANSFERABLE CULTURE OF CELLS FROM TESTICULAR TISSUE LAMB UNDER LABORATORY CONDITIONS
Nakhanowa G.D., Seisenbaev I.O., Orazymbetova N.K., Ismagambetov B.M., Koshemetov Zh.K.
CULTIVATION OF A STRAIN OF «KORDAY» AUJESZKY'S DISEASE
Nurpeisova A.S., Kassenov M.M., Zhekebekov K.K., Abytaev R.T., Khairullin B.M., Assanzhanova N.N., Kydyrbayev Zh.
COMMISSION TESTS OF THE EXPERIMENTAL PRODUCTION SERIES OF VACCINES OF INACTIVATED EMULTIED AGAINST INFLUENZA OF SUBTYPE H7
Sushshikh V.Y., Lukhnova L.Y., Kanatov B., Nurlan K., Dyusenov C., Yusupov M.
THE STUDY OF THE PROPERTIES OF THE DISINFECTANT «VA-12», FOR THE USE OF SURFACE TREATMENT OF SOIL, SEEDED WITH ANTHRAX SPORES AND VETERINARY FACILITIES
Sharipov R.M., Baramova Sh.A., Mirsoev D.M., Rajabov H.I., Atovullozoda R.
RESULTS OF THE USE OF THE SINGLE COLOR ANTIGEN "KAZNIVI" FOR DIAGNOSTIC OF BRUCELLOSIS OF CATTLE BY
THE METHOD OF THE RING REACTION WITH MILK IN THE REPUBLIC OF TAJIKISTAN
THE METHOD OF THE KING KENCHON WITH MIEK IN THE KENCOBER OF THUMBOTH COMMENTS
MEDICINE Salkanova B.K., Maslova L.V., Dosumova G.K., Pralieva Zh.K., Meyrmanova B.M., Zhakina A.K., Ilyubaeva N.N., Shazhalieva A.Zh., Rapsh K.I., Berkinbaeva A.M., Borisov A.A., Dagysov D.S., Mubarakov D.Zh. MONITORING OF THE INCIDENCE OF COVID-19 AMONG THE STAFF OF MEDICAL INSTITUTIONS AND CIVIL SERVANTS OF AKMOLA REGION OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN FOR THE PERIOD FROM MARCH 12 TO JUNE 22, 202038
MOLECULAR BIOLOGY AND GENETIC ENGINEERING Y.D. Burashev, A.U. Issabek, S.O. Sadikalyeva, M.M. Kassenov, K.T. Sultankulova. CRYSTALLIZATION OF PURIFIED PROTEIN PREPARATIONS OF AVIAN INFLUENZA VIRUS
PHYTOSANITARY Yskakova G.Sh., Baygutov M.Zh., Asraubaeva A.M., Rsaliyev A.S. SCREENING OF SPRING WHEAT VARIETIES AND LINE TO STEM AND LEAF RUST RESISTANCE
FARMING Stamkulova A.A., Almezhanova M.D., Tlepov A.A. FEATURES OF WOOL PRODUCTIVITY OF THE SOUTH KAZAKH MERINOS OF THE ZHAMBIL REGION
Yershebulov Z.D. LUMPY SKIN DISEASE DOMESTIC VACCINE
AUTHOR INSTRUCTIONS TO THE JOURNAL
AUTHOR INSTRUCTIONS TO THE JOURNAL