

eISSN 2957-5702

ҒЫЛЫМИ ЖУРНАЛ

БИОҚАУІПСІЗДІК ЖӘНЕ БИОТЕХНОЛОГИЯ

НАУЧНЫЙ ЖУРНАЛ

БИОБЕЗОПАСНОСТЬ
И БИОТЕХНОЛОГИЯ



THE SCIENTIFIC JOURNAL

BIOSAFETY AND
BIOTECHNOLOGY

www.biosafety.kz

2026 • 26



Редакция алқасы:

Жүгүнісов Қ.Д., PhD (Қазақстан)
Закарья К.Д., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)
Faez Awad, PhD (Ливия)
Орынбаев М.Б., в.ғ.к., профессор, академик (Қазақстан)
Айтназаров Р.Б., PhD (Ресей)
Сұлтанқұлова К.Т., б.ғ.к., профессор (Қазақстан)
Кутумбетов Л.Б., в.ғ.д., профессор (Қазақстан)
Ершебулов З.Д., PhD (Қазақстан)
Абдураимов Е.О., в.ғ.д., профессор (Қазақстан)
Еспембетов Б.А., в.ғ.к., профессор (Қазақстан)
Булатов Е.А., б.ғ.к., профессор (Қазақстан)
Risatti G., PhD, профессор (АҚШ)
Червякова О.В., б.ғ.к., профессор (Қазақстан)
Қошметов Ж.Қ., б.ғ.д., профессор (Қазақстан)
Қасенов М.М., в.ғ.к., профессор (Қазақстан)
Жапарқұлова К.А., PhD (Қазақстан)
Olivier G., PhD (Франция)
Абеуов Х.Б., в.ғ.к., профессор (Қазақстан)
Наханов А.Қ., б.ғ.к. профессор (Қазақстан)
Рсалиев А.С., PhD, профессор (Қазақстан)
Мухамедиев Н.С., б.ғ.к. профессор (Қазақстан)

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

Қазақстан Республикасының Ақпарат және қоғамдық даму министрлігінің Ақпарат комитетінде 20.11.2019 ж.

№KZ33V00017380 куәлікпен тіркелген Мерзімділігі: жылына 4 рет.

Редакцияның мекен-жайы 080409, Жамбыл облысы, Қордай ауданы, Гвардейский қтк. 25/1 үй, тел. (726-36) 7-22-28 [www: biosafety.kz](http://www.biosafety.kz), E-mail: journal@biosafety.kz

© Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты, 2026

Редакционная коллегия:

Жүгүнісов Қ.Д., PhD (Қазақстан)
Закарья К.Д., д.б.н., профессор (Қазақстан)
Faez Awad, PhD (Ливия)
Орынбаев М.Б., к.в.н., профессор, академик (Қазақстан)
Айтназаров Р.Б., PhD (Россия)
Сұлтанқұлова К.Т., к.б.н., профессор (Қазақстан)
Кутумбетов Л.Б., д.в.н. профессор (Қазақстан)
Ершебулов З.Д., PhD (Қазақстан)
Абдураимов Е.О., д.в.н., профессор (Қазақстан)
Еспембетов Б.А., к.в.н., профессор (Қазақстан)
Булатов Е.А., к.б.н., профессор (Қазақстан)
Risatti G., PhD, профессор (США)
Червякова О.В., к.б.н., профессор (Қазақстан)
Қошметов Ж.Қ., д.б.н., профессор (Қазақстан)
Қасенов М.М., к.в.н., профессор (Қазақстан)
Жапарқұлова К.А., PhD (Қазақстан)
Olivier G., PhD (Франция)
Абеуов Х.Б., к.в.н., профессор (Қазақстан)
Наханов А.Қ., к.б.н., профессор (Қазақстан)
Рсалиев А.С., PhD, профессор (Қазақстан)
Мухамедиев Н.С., к.б.н., профессор (Қазақстан)

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

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

№KZ33V00017380 от 20.11.2019 г.

Периодичность: 4 раза в год.

Адрес редакции 080409, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, дом 25/1, тел. (726-36) 7-22-28 [www: biosafety.kz](http://www.biosafety.kz), E-mail: journal@biosafety.kz

© Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, 2026

Editorial board:

Zhugunissov K.D., PhD (Kazakhstan)
Zakarya K.D., D.B.Sci., Prof, (Kazakhstan)
Faez Awad, PhD, (Libya)
Orynbayev M.B., PhD, Prof, Academician (Kazakhstan)
Aitnazarov R.B., PhD (Russia)
Sultankulova K.T., PhD, Prof (Kazakhstan)
Kutumbetov L.B., D.V.Sci., Prof (Kazakhstan)
Yershebulov Z.D., PhD (Kazakhstan)
Abduraimov Ye.O., D.V.Sci., Prof (Kazakhstan)
Yespembetov B.A., PhD , Prof (Kazakhstan)
Bulatov Y. A., PhD, Prof (Kazakhstan)
Risatti G., PhD, Prof (USA)
Chervyakova O.V., PhD, Prof (Kazakhstan)
Koshmetov Zh.K., D.B.Sci., Prof (Kazakhstan)
Kassenov M.M., PhD , Prof (Kazakhstan)
Zhaparkulova K.A., PhD ,(Kazakhstan)
Olivier G., PhD , Prof (France)
Abeuov Kh.B., PhD , Prof (Kazakhstan)
Nakhanov A.K., PhD, Prof (Kazakhstan)
Rsaliev A.S., PhD, Prof (Kazakhstan)
Mukhamadiyev N.S., PhD, Prof (Kazakhstan)

Founder: LLP «Research Institute for Biological Safety Problems» Registered with the Information Committee of the Ministry of Information and Public Development of the RK with the Certificate

№KZ33V00017380 dated

20.11.2019

Frequency: 4 times a year.

Address of the editorial office

080409, Zhambyl region, Kordai district, 25/1, Tel. (726-36) 7-22-28

[www: biosafety.kz](http://www.biosafety.kz)

E-mail: journal@biosafety.kz

© Research institute of biosafety problems, 2026



МАЗМҰНЫ

Алимов А.А., Еділ Н.А.	4
БҰЗАУЛАРДЫ ӨСІРУ ТЕХНОЛОГИЯСЫНДА АЭРОИОНИЗАЦИЯ МЕН ЭФИР МАЙЛАРЫН КЕШЕНДІ ҚОЛДАНУ НӘТИЖЕЛЕРІ	
Наханов А.К., Коканов С.К., Еспембетов Б.А., Сырым Н.С., Теребай А.А., Мараховская Л.Г.	17
TREPONEMA PALLIDUM-ДЫ IN VITRO КУЛЬТИВАЦИЯЛАУ: ҚОЯН МОДЕЛІНЕН АДАМ ЖАСУШАЛЫҚ ЖҮЙЕЛЕРІНЕ ДЕЙІН	
Бурашев Е.Д., Орынбаев М.Б., Омарова З.Д., Рыстаева Р.А., Тулендибаев А.Б., Аргимбаева Т.У.,	40
Әубәкір Н.А., Ермекбай Т.Т., Абеуов Х.Б.	
2024-2025 ЖЫЛДАРДАҒЫ ҚАЗАҚСТАНДАҒЫ ЖЫЛҚЫ ТҰМАУЫНЫҢ ЭПИЗООТИЯЛЫҚ ЖАҒДАЙЫ	
Әдилова Г.С., Червякова О.В., Исабек А.У., Бопи А.К., Шыныбекова Г.О., Шораева К.А.	52
BRUCELLA SPP. OMP19 РЕКОМБИНАНТТЫ АҚУЫЗЫНЫҢ РЕФОЛДИНГ ЖАҒДАЙЛАРЫН ОҢТАЙЛАНДЫРУ	
Костыркин Ю.А., Лысинская О.В., Никитин Ю.В., Шаповал В.В.	61
АРНАЙЫ ҚОСПАЛАРДЫҢ ДЕРМАТОФИТТЕРДІҢ ӨНДІРІСТІК ШТАМДАРЫН ӨСІРУ КЕЗІНДЕГІ СУСЛО-АГАРДЫҢ ӨСУ	
КАСИЕТТЕРІНЕ ӨСЕРІ	
Курмашева А., Саметова Ж., Аманова Ж., Үсембай А., Абитаев Р., Тұрыскелді Ш., Токтырова Д.,	75
Кондибаева Ж.	
ІРІ ҚАРА МАЛДЫҢ ЖҰҚПАЛЫ РИНОТРАХЕИТІ МЕН ВИРУСТЫҚ ДИАРЕЯСЫНА ҚАРСЫ ЭКСПЕРИМЕНТТІК ҚАУЫМДАСТЫРЫЛҒАН	
ВАКЦИНАНЫҢ ОҢТАЙЛЫ АДЬОВАНТТЫҚ ЖҮЙЕСІН ТАҢДАУ: ҚОЯНДАР МОДЕЛІНДЕГІ САЛЫСТЫРМАЛЫ ЗЕРТТЕУ	
АВТОРЛАР ТУРАЛЫ МӘЛІМЕТ	88
ЖУРНАЛДА ЖАРИЯЛАУ ҮШІН МАҚАЛАЛАРҒА ҚОЙЫЛАТЫН ТАЛАПТАР	91

СОДЕРЖАНИЕ

Алимов А.А., Еділ Н.А.	4
РЕЗУЛЬТАТЫ КОМПЛЕКСНОГО ПРИМЕНЕНИЯ АЭРОИОНИЗАЦИИ И ЭФИРНЫХ МАСЕЛ В ТЕХНОЛОГИИ ВЫРАЩИВАНИЯ ТЕЛЯТ	
Наханов А.К., Коканов С.К., Еспембетов Б.А., Сырым Н.С., Теребай А.А., Мараховская Л.Г.	17
КУЛЬТИВИРОВАНИЕ TREPONEMA PALLIDUM IN VITRO: ОТ КРОЛИЧЬЕЙ МОДЕЛИ К ЧЕЛОВЕЧЕСКИМ КЛЕТОЧНЫМ СИСТЕМАМ	
Бурашев Е.Д., Орынбаев М.Б., Омарова З.Д., Рыстаева Р.А., Тулендибаев А.Б., Аргимбаева Т.У.,	40
Әубәкір Н.А., Ермекбай Т.Т., Абеуов Х.Б.	
СЕРОПРЕВАЛЕНТНОСТЬ ГРИППА ЛОШАДЕЙ В КАЗАХСТАНЕ ЗА 2024-2025 ГОДА	
Адилова Г.С., Червякова О.В., Исабек А.У., Бопи А.К., Шыныбекова Г.О., Шораева К.А.	52
ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ РЕФОЛДИНГА РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА OMP19 BRUCELLA SPP.	
Костыркин Ю.А., Лысинская О.В., Никитин Ю.В., Шаповал В.В.	61
ВЛИЯНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ДОБАВОК НА РОСТОВЫЕ СВОЙСТВА СУСЛО-АГАРА ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ	
ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ШТАММОВ ДЕРМАТОФИТОВ	
Курмашева А., Саметова Ж., Аманова Ж., Үсембай А., Абитаев Р., Тұрыскелді Ш., Токтырова Д.,	75
Кондибаева Ж.	
ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОЙ АДЬОВАНТНОЙ СИСТЕМЫ ДЛЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ	
ИНФЕКЦИОННОГО РИНОТРАХЕИТА И ВИРУСНОЙ ДИАРЕИ КРС: СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НА МОДЕЛИ КРОЛИКОВ	
ДАННЫЕ ОБ АВТОРАХ	88
ТРЕБОВАНИЯ К НАУЧНЫМ СТАТЬЯМ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В ЖУРНАЛЕ	91

CONTENTS

Alimov A.A., Yedil N.A.	4
RESULTS OF COMPLEX APPLICATION OF AEROIONIZATION AND ESSENTIAL OILS IN CALF GROWING TECHNOLOGY	
Nakhanov A.K., Kokanov S.K., Yespembetov B.A., Syrym N.S., Terebai A.A., Marakhovskaya L.G.	17
IN VITRO CULTIVATION OF TREPONEMA PALLIDUM: FROM THE RABBIT MODEL TO HUMAN CELL-BASED SYSTEMS	
Burashev Ye.D., Orynbayev M.B., Omarova Z.D., Rystayeva R.A., Tulendibayev A.B., Argimbayeva T.U.,	40
Aubakir N.A., Yermekbay T.T., Abeuov Kh.B.	
THE EPIZOOTIC SITUATION OF EQUINE INFLUENZA IN KAZAKHSTAN IN 2024-2025	
Adilova G.S., Chervyakova O.V., Issabek A.U., Bopi A.K., Shynybekova G.O., Shorayeva K.A.	52
OPTIMIZATION OF REFOLDING CONDITIONS FOR RECOMBINANT OMP19 PROTEIN FROM BRUCELLA SPP.	
Kostyrkin Yu.A., Lysinskaya O.V., Nikitin Yu.V., Shapoval V.V.	61
EFFECT OF SPECIFIC SUPPLEMENTS ON THE GROWTH PROPERTIES OF WORT AGAR DURING CULTIVATION OF PRODUCTION	
STRAINS OF DERMATOPHYTES	
Kurmasheva A., Sametova Z., Amanova Z., Ussembay A., Abitayev R., Turiskeldy S., Toktyrova D.,	75
Kondibayeva Z.	
SELECTING AN OPTIMAL ADJUVANT SYSTEM FOR AN EXPERIMENTAL ASSOCIATED VACCINE AGAINST INFECTIOUS BOVINE	
RHINOTRACHEITIS AND VIRAL DIARRHEA: A COMPARATIVE STUDY IN A RABBIT MODEL	
AUTHORS INFORMATION	88
AUTHOR INSTRUCTIONS TO THE JOURNAL	91

РЕЗУЛЬТАТЫ КОМПЛЕКСНОГО ПРИМЕНЕНИЯ АЭРОИОНИЗАЦИИ И ЭФИРНЫХ МАСЕЛ В ТЕХНОЛОГИИ ВЫРАЩИВАНИЯ ТЕЛЯТ

А.А. Алимов *, Н.А. Еділ 

Казахский национальный аграрный исследовательский университет,
г. Алматы, 050040, Республика Казахстан
*aitbai.65@mail.ru

Аннотация. В статье представлены результаты исследования эффективности сочетанного применения аэроионизации воздуха и эфирных масел в технологии выращивания телят раннего возраста. Цель работы заключалась в ветеринарно-санитарной оценке влияния данных факторов на параметры воздушной среды и физиологический статус молодняка в условиях промышленного животноводства. Методология исследования базировалась на принципах доказательной ветеринарной санитарии и включала санитарно-гигиеническую, микробиологическую и зоотехническую оценку условий содержания животных. Эксперимент проведен в производственных условиях на двух группах телят контрольной и опытной, по 15 голов в каждой, находившихся в идентичных условиях кормления и содержания. Экспериментальный комплекс мероприятий включал аэроионизацию воздуха и дозированное распыление натуральных эфирных масел. Эффективность разработанного подхода оценивали по динамике микроклиматических показателей, уровню микробной обсемененности воздуха в зоне дыхания животных, а также по клинико-физиологическим маркерам состояния телят. Опыты выполнялись по единому протоколу в течение 20 суток с репликацией в различные сезоны года для подтверждения воспроизводимости результатов. Установлено, что сочетанное применение аэроионизации и эфирных масел оказывает выраженное санитарно-корректирующее воздействие на воздушную среду телятников. Это выражается в снижении микробной нагрузки и оптимизации параметров микроклимата, преимущественно относительной влажности и уровня санитарной комфортности. Полученные данные свидетельствуют о снижении риска развития респираторных патологий, а также о формировании благоприятных условий для физиологической адаптации и поддержания естественной резистентности молодняка.

Ключевые слова: аэроионизация, эфирные масла, микробная обсеменённость, телята.

Введение

В условиях современного животноводства особое значение в повышении защитных сил организма телят приобретают факторы, влияющие на их адаптационные возможности, клинико-гематологические показатели и интенсивность обменных процессов [1, 2]. Одним из перспективных методов повышения естественной резистентности молодняка является искусственная ионизация воздуха [3, 4]. Наряду с этим важную роль в системе выращивания телят играет комплексное применение аэроионизации и эфирных масел, оказывающее положительное влияние на функциональное состояние организма и уровень его неспецифической устойчивости [5, 6].

Возрастной период от 2 до 30 суток у телят следует рассматривать как самостоятельный физиологический этап, характеризующийся высокой напряжённостью адаптационных процессов и значительной зависимостью состояния организма от условий внешней среды. Если в первые сутки жизни телёнок находится в условиях родильного отделения и получает молозиво, то начиная со 2-х суток он переводится в систему выращивания, где определяющее значение приобретают условия содержания, санитарное

состояние помещений и стабильность микроклимата. В этот период продолжается функциональная перестройка организма, обеспечивающая адаптацию к новой среде обитания: совершенствуются механизмы терморегуляции, изменяются процессы дыхания и теплоотдачи, формируется устойчивость к колебаниям температуры и влажности воздуха, а также постепенно повышается переносимость аэрозольных факторов.

Особое значение в возрасте 2-30 суток имеют барьерные механизмы и системы местной защиты организма, прежде всего слизистые оболочки дыхательных путей. Дыхательная система телят раннего возраста отличается функциональной незрелостью, повышенной реактивностью слизистой оболочки и высокой чувствительностью к различным раздражителям. При поступлении в дыхательные пути органической пыли и микробных аэрозолей возрастает нагрузка на мукоцилиарный клиренс - важнейший механизм самоочищения респираторного тракта, обеспечивающий удаление инородных частиц и микроорганизмов.

Эфирные масла представляют собой летучие органические соединения растительного происхождения, обладающие антимикробными, противовоспалительными и антиоксидантными свойствами, а также способностью улучшать микроклимат окружающей среды. Они широко применяются в медицине и в последние годы всё активнее внедряются в животноводство в качестве природных кормовых добавок и средств оптимизации условий содержания животных [7, 8, 9].

Результаты исследований свидетельствуют о том, что введение смесей эфирных масел в рацион телят или их использование в воздушной среде помещений оказывает положительное влияние на иммунологические показатели организма. Так, у телят, получавших эфирные масла корицы, орегано и эвкалипта, отмечалось повышение активности антиоксидантной системы и усиление иммунного ответа, проявлявшееся увеличением уровня IgA и снижением концентрации белков острой фазы воспаления, что способствует повышению устойчивости организма к инфекционным и стрессовым воздействиям [10, 11, 12].

В условиях ужесточения требований к применению антибиотиков и антибактериальных стимуляторов в животноводстве эфирные масла рассматриваются как перспективная натуральная альтернатива, способная снижать нагрузку патогенной микрофлоры без риска формирования антибиотикорезистентности [13, 14]. Преимуществом эфирных масел является их способность повышать общую резистентность животных к заболеваниям желудочно-кишечного и дыхательного трактов. Несмотря на определённые различия в результатах отдельных исследований, рядом авторов подтверждена тенденция к снижению выраженности диарейного синдрома и улучшению общего состояния здоровья телят при использовании эфирных масел [15, 16].

Комплексное применение эфирных масел и аэроионизации, основанной на насыщении воздуха отрицательными аэроионами, направлено не только на стимуляцию иммунитета и обменных процессов, но и на улучшение микроклимата помещений для содержания телят. В ряде исследований установлено, что совместное использование эфирных масел сосны и мяты с аэроионизацией способствовало снижению пылевой и микробной загрязнённости воздуха в телятниках, повышению неспецифической резистентности организма, а также улучшению физиологических и биохимических показателей крови животных, что положительно отражалось на росте и развитии молодняка [17, 18].

В современных условиях интенсификации животноводства эфирные масла рассматриваются как экологически безопасные натуральные средства, способствующие укреплению иммунитета, улучшению процессов пищеварения и конверсии корма, формированию более благоприятного микроклимата и снижению стрессовой нагрузки на организм телят. Кроме того, они могут выступать эффективной альтернативой синтетическим антибиотикам и стимуляторам роста [19, 20].

В связи с вышеизложенным изучение применения эфирных масел в технологии выращивания телят, особенно в сочетании с такими методами, как аэроионизация,

представляет собой актуальное направление научных исследований и практики современного животноводства.

Материалы и методы. Научно-производственный эксперимент выполнен на базе молочно-товарного комплекса в Алматинской области Республика Казахстан. Инфраструктура предприятия включает специализированные зоны для содержания дойного стада и выращивания молодняка, включая телят раннего возраста, кормоприготовительный цех, площадки для хранения кормов и подстилочного материала, ветеринарный блок, а также комплекс инженерно-технологических коммуникаций системы водо- и электроснабжения, обеспечения микроклимата. Рельеф местности представлен предгорной зоной с достаточным уровнем увлажнения. Климат региона континентальный, смягченный близостью горного массива, с умеренно жарким летом и относительно мягкой зимой. Почвенно-климатические условия предгорья благоприятны для возделывания зерновых и кормовых культур, а также для эффективного ведения животноводства. Орошение земель в районе расположения хозяйства осуществляется сочетанным способом: за счет атмосферных осадков и искусственного полива включая системы капельного орошения. Глубина залегания грунтовых вод вариабельна; по данным замеров в шахтном колодце на территории агрокомплекса, уровень зеркала воды находится на отметке 14 метров.

Для комплексной оценки эффективности разработанной технологии нами применялись три группы методов: *Зоотехнические методы*: научно-хозяйственные опыты проводились на телятах, сформированных в группы-аналоги. Животные опытных групп содержались в индивидуальныхдомиках, где проводилась комплексная обработка воздушной среды, в то время как телята контрольной группы находились в аналогичныхдомиках при обычных условиях. В ходе исследований оценивали динамику живой массы (путем систематического взвешивания), величину среднесуточных приростов и общую сохранность поголовья. *Ветеринарно-санитарные методы*: осуществлялся непрерывный мониторинг ключевых параметров микроклимата. Измерялись концентрация отрицательных и положительных аэроионов, относительная влажность и температура воздуха, а также уровень содержания вредных газов (аммиака и сероводорода). *Ветеринарно-микробиологические методы*: проводилось определение общей бактериальной обсемененности воздуха (КМАФАнМ) в помещениях до и после применения эфирных масел. *Статистическая обработка данных*: полученные цифровые результаты подвергались биометрическому анализу методами вариационной статистики. Для подтверждения статистической существенности и достоверности различий между группами применялся t -критерий Стьюдента с оценкой уровней значимости $p < 0,05$ и $p < 0,01$.

Объектом исследований являлись телята крупного рогатого скота молочного направления продуктивности в возрасте от 2 до 30 суток. Предметом изучения выступали параметры воздушной среды в зоне локализации животных физические показатели микроклимата и санитарно-микробиологическое состояние воздуха, изменяющиеся под воздействием сочетанного применения аэроионизации и мелкодисперсного распыления смеси эфирных масел. Принятая в хозяйстве технология выращивания предусматривает содержание телят в первые четыре недели жизни в индивидуальныхдомиках с последующим переводом в общий телятник. Основной массив экспериментальных наблюдений и инструментальных измерений выполнялся в период нахождения телят в индивидуальныхдомиках, размещенных внутри ангара закрытого типа (рисунок 1), что обеспечивало контролируемые условия среды и возможность равномерного санитарно-гигиенического мониторинга.



Рисунок 1 -Технология индивидуального содержания молодняка

Технологическое решение ангара включает двухрядное размещение индивидуальных пластиковых домиков с металлическими вольерами по обе стороны от центрального прохода с бетонным покрытием. Содержание телят осуществляется на соломенной подстилке. Данный способ размещения гарантирует надежную изоляцию молодняка, полностью исключает перекрестную контаминацию патогенами и позволяет вести точный индивидуальный мониторинг здоровья и режима питания каждого животного.

Для проведения опыта по принципу групп-аналогов были сформированы контрольная и опытная группы телят ($n = 15$ в каждой). Условия кормления, поения и ветеринарного обслуживания полностью соответствовали принятому в хозяйстве регламенту и были одинаковыми для всего поголовья. Экспериментальное воздействие в опытной группе осуществлялось непрерывно в течение 20 суток.

Искусственный аэроионный фон создавали с помощью ионизатора «Элион-132» и системы электроэффлювиальных люстр. Аэрозольное мелкодисперсное распыление смеси эфирных масел (*эвкалипт, мята, чайное дерево, лаванда*) выполняли ультразвуковым небулайзером *Bilovit BIOL-DYF-01* (технические характеристики: емкость 30 мл, рабочая площадь до 30 м², параметры питания 5 В, 1000 мА).

Параметры и временной регламент применяемых обработок систематизированы в таблице 1.

Таблица 1 – Схема и режимы санитарно-гигиенических обработок в опытной группе

Фактор воздействия	Используемое оборудование	Целевые параметры	Регламент и время проведения
Аэроионизация	«Элион-132», электроэффлювиальные люстры	250 - 300 тыс. ион/см ³ (отрицательные легкие ионы)	Ежедневно, 2 часа в сутки
Ароматерапия	Небулайзер Bilovit BIOL-DYF-01	Мелкодисперсный аэрозоль композиции эфирных масел	Ежедневно, 2 раза в сутки по 1 часу:
			04:00 - 05:00 (утренний сеанс)
			21:00 - 22:00 (вечерний сеанс)

Принятая схема исследования позволила дифференцировать динамику санитарно-гигиенических и физиологических показателей как прямой результат направленного сочетанного воздействия физико-химических факторов.

Результаты и обсуждение. Проведены исследования, по ветеринарно-санитарной оценке, сочетанного применения аэроионизации воздуха и аэрозольного распыления композиции натуральных эфирных масел (*Eucalyptus globulus, Mentha piperita, Melaleuca alternifolia, Lavandula angustifolia*) при выращивании телят молочного направления продуктивности в возрасте 2-30 суток. Эксперименты осуществляли в течение 20 суток с трехкратной репликацией в различные сезоны года (весенний, осенний и зимний периоды) при неизменном протоколе наблюдений. В каждом экспериментальном цикле по принципу

групп-аналогов формировали контрольную и опытную группы ($n = 15$ в каждой), сопоставимые по возрасту, клинко-физиологическому статусу, а также условиям кормления и содержания. Животные находились в индивидуальных боксах (домиках), параметры которых соответствовали действующим зоогигиеническим нормативам.

В процессе исследований проводили непрерывный мониторинг физических параметров микроклимата (температура, относительная влажность, скорость движения воздуха), а также уровня газовой нагрузки - концентраций аммиака (NH_3) и диоксида углерода (CO_2). Санитарно-микробиологическое состояние воздушной среды оценивали по показателю общей микробной обсемененности (КМАФАнМ) в зоне дыхания телят. Полученные данные подвергали статистической обработке методами биометрического анализа с оценкой достоверности межгрупповых различий. Результаты представлены в виде средних значений и ошибки средней ($M \pm m$).

Динамика микроклимата в контрольной и опытной группах. Накануне каждого экспериментального цикла исходные параметры микроклимата в зонах локализации телят контрольной и опытной групп не имели статистически значимых различий ($P > 0,05$), что подтверждает корректность формирования групп. В ходе проведения опыта показатели микроклимата находились в пределах технологически допустимых значений для молодняка раннего возраста. При этом фиксировались закономерные сезонные колебания, обусловленные градиентом наружных температур, гидротермическим режимом, кратностью воздухообмена и проведением плановых технологических операций (раздача кормов, замена подстилочного материала, общая санитарная обработка).

В опытной группе под влиянием сочетанного воздействия аэроионизации и аэрозолей эфирных масел наиболее выраженные изменения зафиксированы в показателях, определяющих качественный состав воздушной среды. Отмечено снижение уровня запыленности (по интенсивности седиментации взвешенных частиц на горизонтальных поверхностях), стабилизация относительной влажности в пространстве индивидуальных боксов, а также тенденция к снижению концентрации аммиака при идентичных режимах навозоудаления. Следует отметить, что аэроионизация не является альтернативой приточно-вытяжной вентиляции, в связи, с чем интерпретацию динамики газовой нагрузки проводили с учетом сопутствующего воздухообмена. Концентрации аммиака на уровне 20-25 ppm рассматривались как потенциально критические для респираторной системы телят; достижение пороговых значений в 10-15 ppm служило маркером для оперативной корректировки режимов вентиляции. Обобщенные физико-химические показатели микроклимата в зоне содержания животных представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Динамика показателей микроклимата отражена в таблице, $M \pm m$

Сезоны	Группа	Температура, °C (день 0)	Температура, °C (день 20)	Влажность, % (день 0)	Влажность, % (день 20)	Скорость воздуха, м/с (день 0)	Скорость воздуха, м/с (день 20)
Зима	Контроль	15,6±0,3	12,9±0,3	82,2±1,8	83,5±1,6	0,22±0,01	0,23±0,01
	Опыт	15,5±0,3	13,1±0,3	82,0±1,7	83,8±1,5	0,21±0,01	0,23±0,01
Осень	Контроль	19,3±0,2	19,7±0,2	59,6±1,4	57,1±1,3	0,24±0,01	0,25±0,01
	Опыт	19,2±0,2	19,8±0,2	59,4±1,3	56,0±1,2	0,24±0,01	0,25±0,01
Весна	Контроль	15,4±0,3	17,8±0,3	53,8±1,5	54,1±1,4	0,18±0,01	0,19±0,01
	Опыт	15,3±0,3	17,9±0,3	53,6±1,4	51,2±1,3	0,18±0,01	0,19±0,01

Согласно данным, представленным в таблице 2, при суммарной оценке за все сезоны была выявлена устойчивая тенденция: в опытной группе к 20-му дню выращивания относительная влажность воздуха в зоне индивидуальных домиков была ниже по сравнению с контрольной группой при сопоставимых значениях температуры и скорости движения воздуха. С практической точки зрения полученный результат имеет существенное значение, поскольку повышенная относительная влажность в сочетании с органической пылью и микробными аэрозолями способствует более длительной персистенции аэрозольных частиц в воздушной среде, что, в свою очередь, увеличивает риск раздражения дыхательных путей и развития респираторных нарушений у телят раннего возраста.

Санитарно-микробиологические исследования показали, что исходный уровень микробной обсеменённости воздуха в зоне содержания телят характеризовался выраженной сезонной вариабельностью. В холодный период года при закрытых проёмах и сниженной интенсивности естественного воздухообмена регистрировались более высокие значения общей бактериальной обсеменённости воздуха, тогда как в тёплый период при усилении воздухообмена отмечалась тенденция к их снижению. При этом на начальном этапе эксперимента показатели в опытной и контрольной группах были сопоставимы. На фоне реализации комплекса мероприятий в опытной группе было зафиксировано снижение общей микробной обсеменённости воздушной среды по сравнению с контролем, наиболее выраженное на 10 - 20-е сутки эксперимента. Возможный биологический механизм выявленного эффекта заключается в том, что аэроионизация способствует электрическому зарядению аэрозольных частиц и ускоряет их осаждение, тогда как распыление летучих фитокомпонентов при корректном дозировании может оказывать санитарно-корректирующее воздействие на аэрозольную микрофлору. Принципиально важно, что оценка санитарно-микробиологического состояния воздушной среды основывалась на результатах культуральных исследований данных посевов, а не на субъективных органолептических признаках, что обеспечивает объективность и воспроизводимость полученных данных. Данные санитарно-микробиологической оценки воздушной среды, включая показатели общей микробной обсеменённости воздуха в зоне дыхания телят, приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Общая микробная обсеменённость воздуха в зоне содержания телят, $M \pm m$

Сезоны	Группа	День 0, КОЕ/м ³	День 10, КОЕ/м ³	День 20, КОЕ/м ³	Изменение к дню 0, %
Зима	Контроль	1450±120	1520±130	1480±125	+2,1
	Опыт	1430±115	1080±95	920±88	-35,7
Весна	Контроль	1180±105	1205±110	1160±98	-1,7
	Опыт	1175±100	900±85	780±80	-33,6
Осень	Контроль	980±90	1020±92	995±88	+1,5
	Опыт	975±88	760±70	690±65	-29,2

Согласно данным, представленным в таблице 3, при интегральной оценке результатов за три сезона снижение микробной обсеменённости воздуха в опытной группе носило закономерный, воспроизводимый характер. К 20-м суткам эксперимента отмечалось уменьшение этого показателя на 25-40 % по сравнению с исходным уровнем. В контрольной группе, напротив, регистрировалось либо отсутствие достоверных изменений, либо сезонно обусловленные колебания значений вокруг первоначальных величин. Выявленный эффект следует рассматривать как один из ключевых ветеринарно-санитарных результатов исследования, поскольку уровень микробной нагрузки воздушной среды напрямую детерминирует риски аэрогенного раздражения и инфицирования слизистых оболочек респираторного тракта у телят раннего возраста.

Клинический статус и сохранность телят. Программа клинического мониторинга в течение каждого экспериментального цикла включала ежедневную оценку общего состояния

животных, их пищевой возбудимости (аппетита), поведенческой активности, а также регистрацию симптомов респираторной патологии (кашель, серозные или слизистые носовые истечения, тахипноэ) и желудочно-кишечных расстройств (изменение консистенции фекалий, признаки дегидратации). На старте научно-хозяйственного опыта клинический статус телят в контрольной и опытной группах был полностью сопоставим (таблица 4).

В ходе дальнейших наблюдений у животных контрольной группы с большей частотой регистрировались эпизоды легких респираторных нарушений, манифестирующих на фоне гидротермических колебаний и нарастания аэрозольной контаминации воздуха (преимущественно в холодный сезон). В опытной группе отмечалось более благоприятное клиническое состояние: телята сохраняли высокую подвижность и стабильный аппетит, а признаки раздражения верхних дыхательных путей фиксировались существенно реже. Важным научно-практическим результатом явилось сокращение продолжительности (в днях) проявления кашля и серозных истечений у молодняка опытной группы, что коррелирует с данными о снижении уровня микробной обсемененности воздушной среды под влиянием разработанного метода.

В ходе исследований были научно обоснованы и внедрены в производство: определены эффективная концентрация легких аэроионов в расчете на 1 см³, дозировка эфирных масел мг/м³, а также экспозиция и кратность сеансов обработки воздушной среды в сутки. Комплексная санация воздуха эфирными маслами и респираторная поддержка аэроионами позволили сократить частоту возникновения легочных заболеваний у телят на 15-30%.

Таблица 4 – Частота проявления клинических признаков у телят за период эксперимента, n=15 (%)

Цикл	Группа	Респираторные признаки (≥1 эпизод)	Диарея (≥1 эпизод)	Средняя длительность эпизода, суток	Сохранность, %
I	Контроль	6 (40,0)	4 (26,7)	2,8±0,4	100
	Опыт	2 (13,3)	3 (20,0)	1,6±0,3	100
II	Контроль	5 (33,3)	3 (20,0)	2,4±0,3	100
	Опыт	2 (13,3)	2 (13,3)	1,5±0,2	100
III	Контроль	4 (26,7)	3 (20,0)	2,2±0,3	100
	Опыт	1 (6,7)	2 (13,3)	1,3±0,2	100

Анализ данных таблицы 4 показывает, что разработанный комплекс санитарно-гигиенических мероприятий направлен не на замещение стандартных ветеринарно-санитарных правил, а на их синергетическое дополнение с целью минимизации рисков аэрогенной патологии. В связи с этим в качестве основного клинического эффекта рассматривали снижение интенсивности и частоты проявления легких симптомов респираторных нарушений, а также стабилизацию общего гомеостаза организма.

Динамика живой массы и среднесуточного прироста. Взвешивание телят осуществляли в фиксированные контрольные точки (на 1-е, 10-е и 20-е сутки эксперимента) с последующим расчетом среднесуточного прироста живой массы (таблица 5). В контрольной группе показатели интенсивности роста в целом соответствовали нормативным значениям для раннего постнатального периода при соблюдении регламента выпойки молозива/молока и базовых зоогигиенических параметров.

Таблица 5 – Динамика живой массы и среднесуточных приростов подопытных телят, $M \pm m$

Цикл	Группа	Масса, кг (день 0)	Масса, кг (день 20)	Прирост за 20 суток, кг	Среднесуточный прирост, г
I	Контроль	39,8±0,9	50,6±1,0	10,8±0,4	540±20
	Опыт	39,7±0,8	52,0±0,9	12,3±0,4	615±20
II	Контроль	40,2±0,8	51,4±0,9	11,2±0,4	560±20
	Опыт	40,1±0,8	52,7±0,9	12,6±0,4	630±20
III	Контроль	40,6±0,9	51,8±1,0	11,2±0,4	560±20
	Опыт	40,5±0,9	53,1±1,0	12,6±0,4	630±20

В опытной группе зафиксирована устойчивая тенденция к увеличению среднесуточного прироста живой массы, что, вероятно, обусловлено снижением экзогенной стрессовой нагрузки на респираторный тракт животных и стабилизацией их пищевой активности.

Таким образом, применение искусственной аэроионизации воздушной среды в сочетании с аэрозольным распылением композиции натуральных эфирных масел (эвкалипта, мяты перечной, чайного дерева и лаванды) не только оптимизирует санитарно-гигиенические параметры микроклимата, но и оказывает синергетическое стимулирующее влияние на защитно-адаптационные механизмы организма телят раннего возраста.

Комплексная оценка эффективности разработанного метода. Сопоставление параметров микроклимата, санитарно-микробиологического статуса воздушной среды и клинико-лабораторных показателей свидетельствует, что сочетанное применение аэроионизации и фитоаэрозолей в условиях животноводческого комплекса обладает выраженным и воспроизводимым санитарно-корректирующим эффектом. Это проявляется в достоверном снижении микробной обсемененности воздуха в зоне дыхания телят. На данном фоне формировались благоприятные клинические тенденции (снижение частоты и продолжительности проявления легких симптомов респираторных нарушений), а также стабилизация профиля гематологических и иммунологических показателей, что указывает на меньшую напряженность адаптационно-компенсаторных реакций организма.

Высокая прикладная значимость исследования подтверждается тем, что описанные закономерности стабильно воспроизводились в течение трех сезонных циклов при строгом соблюдении единого протокола опыта (экспозиция 20 суток, $n=15$ в группе, фиксированный режим обработок). Данный факт обосновывает целесообразность широкого внедрения разработанной технологии в практику промышленного животноводства.

Заключение. На основании проведенных комплексных исследований, по ветеринарно-санитарной оценке, сочетанного применения аэроионизации воздуха и мелкодисперсного распыления композиции эфирных масел в технологии выращивания телят раннего возраста, сформулированы следующие выводы:

1. Санитарно-гигиеническая оптимизация среды: Установлено, что сочетанное воздействие исследуемых факторов обеспечивает синергетический эффект, выражающийся в оптимизации параметров микроклимата (стабилизация относительной влажности) и существенном (на 25-40 %) снижении уровня общей микробной обсемененности воздуха в зоне дыхания животных.

2. Клинико-физиологический статус: Применение аэроионизационно-ароматерапевтического комплекса минимизирует риски возникновения респираторного синдрома у телят в возрасте 2-30 суток, снижает выраженность катаральных явлений и способствует поддержанию высокого уровня естественной резистентности организма.

3. Продуктивный эффект и прикладное значение: Улучшение ветеринарно-санитарных характеристик воздушной среды способствовало снижению экзогенной стрессовой нагрузки

на молодняк, что выразилось в устойчивой тенденции к увеличению среднесуточных приростов живой массы подопытного поголовья.

Рекомендации производству. Разработанный комплекс мероприятий рекомендуется к внедрению на молочно-товарных комплексах промышленного типа в качестве эффективного элемента ветеринарно-санитарного контроля воздушной среды профилакториев и телятников. Материалы работы могут быть использованы в научно-исследовательском процессе при проектировании превентивных зоогигиенических технологий.

Финансирование: Работа выполнена в рамках инициативных исследований авторов, без привлечения грантовых и целевых бюджетных средств.

Благодарность: Авторы выражают глубокую признательность руководству и коллективу фермерского хозяйства Алматинской области, а также коллективу кафедры ветеринарной санитарии НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет» за предоставление производственной базы для проведения исследований и содействие в сборе научно-производственных данных.

Конфликт интересов: Авторы заявляют, что нет конфликта интересов.

Литература

- 1 Li W., Wang F., Han Y., Sun F., Liu C., Zhu Y., Zhong P. Effects of essential oils on calf growth, ruminal fermentation, and antioxidative status: a meta-analysis // *Frontiers in Veterinary Science*, 2025. <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1573846>
- 2 Cui H., Zhang C., Su K., Fan T., Chen L., Yang Z., Zhang M., Li J., Zhang Y., Liu J. Oregano essential oil in livestock and veterinary medicine // *Animals*, 2024. <https://doi.org/10.3390/ani14111532>
- 3 Arámbula C.I.; Diaz C.E.; Garcia M.I. Performance, chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Ruta chalepensis* and *Origanum vulgare* // *Journal of Physics: Conference Series*, 2019. 1386, 012059. <https://doi.org/10.1088/1742-6596/1386/1/012059>.
- 4 Jianu C., Lukinich-Gruia A.T., Rădulescu M., Mioc M., Mioc A., Șoica C., Constantin A.T., David I., Bujancă G., Radu R.G. Essential Oil of *Origanum vulgare* var. *aureum* L. from Western Romania: Chemical Analysis, In Vitro and In Silico Screening of Its Antioxidant Activity // *Applied Sciences*, 2023, 13(8), 5076; <https://doi.org/10.3390/app13085076>
- 5 Yursida Y., Andrew F., Agustina K., Mareza E., Kalsum U., Ikhwan I. Rahayuningsih, S., Yuniarti E., Putra N.R. Harnessing the power of cinnamon oil: A review of its potential as natural biopesticide and its implications for food security // *Heliyon*, 2025. 11, e41827, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2025.e41827>.
- 6 Khan S.T., Khan M., Ahmad J., Wahab R., Abd-Elkader O.H., Musarrat J., Alkhathlan H.Z., Al-Kedhairi A.A. Thymol and carvacrol induce autolysis, stress, growth inhibition and reduce the biofilm formation by *Streptococcus mutans* // *AMB Express*, 2017. 7, 49, <https://doi.org/10.1186/s13568-017-0344-y>.
- 7 Speranza B., Bevilacqua A., Campaniello D., Altieri C., Corbo M.R., Sinigaglia M. Minimal Inhibitory Concentrations of Thymol and Carvacrol: Toward a Unified Statistical Approach to Find Common Trends // *Microorganisms*, 2023. 11, <https://doi.org/10.3390/microorganisms11071774>.
- 8 Drăgan F., Moisa C.F., Teodorescu A., Burlou-Nagy C., Fodor K.I., Marcu F., Popa D.E., Teaha D.I.M. Evaluating in vitro antibacterial and antioxidant properties of *Origanum vulgare* volatile oil // *Farmacia*, 2022. 70. <https://doi.org/10.31925/farmacia.2022.6.15>
- 9 Walasek-Janusz M., Grzegorzczak A., Malm A., Nurzyńska-Wierdak R., Zalewski D. Chemical Composition, and Antioxidant and Antimicrobial Activity of Oregano Essential Oil // *Molecules* 2024, 29(2), 435; <https://doi.org/10.3390/molecules29020435>
- 10 Peiris M., Weerts Z., Aktar R., Masclee A.M., Blackshaw A., Keszthelyi D. A putative anti-inflammatory role for TRPM8 in irritable bowel syndrome-An exploratory study // *Neurogastroenterol Motil*, 2021. 33, e14170, <https://doi.org/10.1111/nmo.14170>.

- 11 Najar B., Shortrede J.E., Pistelli L., Buhagiar J. Chemical Composition and in Vitro Cytotoxic Screening of Sixteen Commercial Essential Oils on Five Cancer Cell Lines // *Chem Biodivers*, 2020. 17, e1900478, <https://doi:10.1002/cbdv.201900478>.
- 12 Alliger K., Khalil M., König B., Weisenburger S., Koch E., Engel M. Menthacarin attenuates experimental colitis // *Phytomedicine*, 2020. 77, 153212, <https://doi:10.1016/j.phymed.2020.153212>.
- 13 Elgendy E., Ibrahim H., Elmecherry H., Sedki A., Mekhemer F. Chemical and Biological Comparative in Vitro Studies of Cinnamon Bark and Lemon Peel Essential Oils // *Food and Nutrition Sciences*, 2017. 08, 110-125, <https://doi:10.4236/fns.2017.81008>.
- 14 Ait Dra L., Ait Sidi Brahim M., Boualy B., Aghraz A., Barakate M., Oubaassine S., Markouk M., Larhsini M. Chemical composition, antioxidant and evidence antimicrobial synergistic effects of *Periploca laevigata* essential oil with conventional antibiotics // *Industrial Crops and Products*, 2017. 109, 746-752, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.028>.
- 15 Santana de Oliveira M., Vostinaru O., Rigano D., de Aguiar Andrade E.H. Editorial: Bioactive compounds present in essential oils: Advances and pharmacological applications // *Frontiers in Pharmacology*, 2023. Volume 14 - 2023, <https://doi:10.3389/fphar.2023.1130097>.
- 16 Kryvtsova M., Hrytsyna M., Salamon I., Skybitska M., Novykevych O. Chemotypes of Species of the Genus *Thymus* L. in Carpathians Region of Ukraine-Their Essential Oil Qualitative and Quantitative Characteristics and Antimicrobial Activity // *Horticulturae* 2022, 8(12), 1218; <https://doi.org/10.3390/horticulturae8121218>
- 17 Pandur E., Micalizzi G., Mondello L., Horváth A., Sipos K., Horváth G. Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Essential Oils Prepared at Different Plant Phenophases on *Pseudomonas aeruginosa* LPS-Activated THP-1 Macrophages // *Antioxidants* (Basel), 2022. 11, <https://doi:10.3390/antiox11071330>.
- 18 Trendafilova A., Todorova M., Ivanova V., Zhelev P., Aneva I. Essential Oil Composition of Five *Thymus* Species from Bulgaria // *Chem Biodivers*, 2021. 18, e2100498, <https://doi:10.1002/cbdv.202100498>.
- 19 Zhao W., Choi C.Y., Li G., Li H., Shi Z. Pre-weaned dairy calf management practices, morbidity and mortality of bovine respiratory disease and diarrhea in China // *Livestock Science* 251(9):104608. [DOI:10.1016/j.livsci.2021.104608](https://doi:10.1016/j.livsci.2021.104608)
- 20 Palhares Campolina J. Effects of a blend of essential oils in milk replacer on performance, rumen fermentation, blood parameters, and health scores of dairy heifers // Published: March 11, 2021 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231068>

References

- 1 Li W., Wang F., Han Y., Sun F., Liu C., Zhu Y., Zhong P. Effects of essential oils on calf growth, ruminal fermentation, and antioxidative status: a meta-analysis // *Frontiers in Veterinary Science*, 2025. <https://doi:10.3389/fvets.2025.1573846>
- 2 Cui H., Zhang C., Su K., Fan T., Chen L., Yang Z., Zhang M., Li J., Zhang Y., Liu J. Oregano essential oil in livestock and veterinary medicine // *Animals*, 2024. <https://DOI:10.3390/ani14111532>
- 3 Arámbula C.I.; Diaz C.E.; Garcia M.I. Performance, chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Ruta chalepensis* and *Origanum vulgare* // *Journal of Physics: Conference Series*, 2019. 1386, 012059. <https://doi:10.1088/1742-6596/1386/1/012059>.
- 4 Jianu C., Lukinich-Gruia A.T., Rădulescu M., Mioc M., Mioc A., Șoica C., Constantin A.T., David I., Bujancă G., Radu R.G. Essential Oil of *Origanum vulgare* var. *aureum* L. from Western Romania: Chemical Analysis, In Vitro and In Silico Screening of Its Antioxidant Activity // *Applied Sciences*, 2023, 13(8), 5076; <https://doi.org/10.3390/app13085076>
- 5 Yursida Y., Andrew F., Agustina K., Mareza E., Kalsum U., Ikhwan I. Rahayuningsih, S., Yuniarti E., Putra N.R. Harnessing the power of cinnamon oil: A review of its potential as natural biopesticide and its implications for food security // *Heliyon*, 2025. 11, e41827, <https://doi:10.1016/j.heliyon.2025.e41827>.

- 6 Khan S.T., Khan M., Ahmad J., Wahab R., Abd-Elkader O.H., Musarrat J., Alkhathlan H.Z., Al-Kedhairi A.A. Thymol and carvacrol induce autolysis, stress, growth inhibition and reduce the biofilm formation by *Streptococcus mutans* // *AMB Express*, 2017. 7, 49, [https://doi: 10.1186/s13568-017-0344-y](https://doi.org/10.1186/s13568-017-0344-y).
- 7 Speranza B., Bevilacqua A., Campaniello D., Altieri C., Corbo M.R., Sinigaglia M. Minimal Inhibitory Concentrations of Thymol and Carvacrol: Toward a Unified Statistical Approach to Find Common Trends // *Microorganisms*, 2023. 11, [https://doi: 10.3390/microorganisms11071774](https://doi.org/10.3390/microorganisms11071774).
- 8 Drăgan F., Moisa C.F., Teodorescu A., Burlou-Nagy C., Fodor K.I., Marcu F., Popa D.E., Teaha D.I.M. Evaluating in vitro antibacterial and antioxidant properties of *Origanum vulgare* volatile oil // *Farmacia*, 2022. 70, [https://doi: 10.31925/farmacia.2022.6.15](https://doi.org/10.31925/farmacia.2022.6.15)
- 9 Walasek-Janusz M., Grzegorzczak A., Malm A., Nurzyńska-Wierdak R., Zalewski D. Chemical Composition, and Antioxidant and Antimicrobial Activity of Oregano Essential Oil // *Molecules* 2024, 29(2), 435; <https://doi.org/10.3390/molecules29020435>
- 10 Peiris M., Weerts Z., Aktar R., Masclee A.M., Blackshaw A., Keszthelyi D. A putative anti-inflammatory role for TRPM8 in irritable bowel syndrome-An exploratory study // *Neurogastroenterol Motil*, 2021. 33, e14170, [https://doi:10.1111/nmo.14170](https://doi.org/10.1111/nmo.14170).
- 11 Najar B., Shortrede J.E., Pistelli L., Buhagiar J. Chemical Composition and in Vitro Cytotoxic Screening of Sixteen Commercial Essential Oils on Five Cancer Cell Lines // *Chem Biodivers*, 2020. 17, e1900478, [https://doi:10.1002/cbdv.201900478](https://doi.org/10.1002/cbdv.201900478).
- 12 Alliger K., Khalil M., König B., Weisenburger S., Koch E., Engel M. Menthacarin attenuates experimental colitis // *Phytomedicine*, 2020. 77, 153212, [https://doi:10.1016/j.phymed.2020.153212](https://doi.org/10.1016/j.phymed.2020.153212).
- 13 Elgendy E., Ibrahim H., Elmechery H., Sedki A., Mekhemer F. Chemical and Biological Comparative in Vitro Studies of Cinnamon Bark and Lemon Peel Essential Oils // *Food and Nutrition Sciences*, 2017. 08, 110-125, [https://doi:10.4236/fns.2017.81008](https://doi.org/10.4236/fns.2017.81008).
- 14 Ait Dra L., Ait Sidi Brahim M., Boualy B., Aghraz A., Barakate M., Oubaassine S., Markouk M., Larhsini M. Chemical composition, antioxidant and evidence antimicrobial synergistic effects of *Periploca laevigata* essential oil with conventional antibiotics // *Industrial Crops and Products*, 2017. 109, 746-752, <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.028>.
- 15 Santana de Oliveira M., Vostinaru O., Rigano D., de Aguiar Andrade E.H. Editorial: Bioactive compounds present in essential oils: Advances and pharmacological applications // *Frontiers in Pharmacology*, 2023. Volume 14 - 2023, [https://doi:10.3389/fphar.2023.1130097](https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1130097).
- 16 Kryvtsova M., Hrytsyna M., Salamon I., Skybitska M., Novykevych O. Chemotypes of Species of the Genus *Thymus* L. in Carpathians Region of Ukraine-Their Essential Oil Qualitative and Quantitative Characteristics and Antimicrobial Activity // *Horticulturae* 2022, 8(12), 1218; <https://doi.org/10.3390/horticulturae8121218>
- 17 Pandur E., Micalizzi G., Mondello L., Horváth A., Sipos K., Horváth G. Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Essential Oils Prepared at Different Plant Phenophases on *Pseudomonas aeruginosa* LPS-Activated THP-1 Macrophages // *Antioxidants* (Basel), 2022. 11, [https://doi:10.3390/antiox11071330](https://doi.org/10.3390/antiox11071330).
- 18 Trendafilova A., Todorova M., Ivanova V., Zhelev P., Aneva I. Essential Oil Composition of Five *Thymus* Species from Bulgaria // *Chem Biodivers*, 2021. 18, e2100498, [https://doi:10.1002/cbdv.202100498](https://doi.org/10.1002/cbdv.202100498).
- 19 Zhao W., Choi C.Y., Li G., Li H., Shi Z. Pre-weaned dairy calf management practices, morbidity and mortality of bovine respiratory disease and diarrhea in China // *Livestock Science* 251(9):104608. [DOI:10.1016/j.livsci.2021.104608](https://doi.org/10.1016/j.livsci.2021.104608)
- 20 Palhares Campolina J. Effects of a blend of essential oils in milk replacer on performance, rumen fermentation, blood parameters, and health scores of dairy heifers // Published: March 11, 2021 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0231068>

БҰЗАУЛАРДЫ ӨСІРУ ТЕХНОЛОГИЯСЫНДА АЭРОИОНИЗАЦИЯ МЕН ЭФИР МАЙЛАРЫН КЕШЕНДІ ҚОЛДАНУ НӘТИЖЕЛЕРІ

А.А. Алимов *, Н.А. Еділ 

Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Алматы қ., Қазақстан Республикасы
*aitbai.65@mail.ru

Аннотация. Мақалада ерте жастағы бұзауларды өсіру технологиясында ауаны және эфир майларын аэроионизациялауды үйлесімді қолдану тиімділігін зерттеу нәтижелері ұсынылған. Жұмыстың мақсаты осы факторлардың ауа ортасының параметрлеріне және өнеркәсіптік мал шаруашылығы жағдайындағы төлдің физиологиялық мәртебесіне әсерін ветеринариялық-санитариялық бағалау болды. Зерттеу әдіснамасы дәлелді ветеринариялық санитария қағидаттарына негізделген және жануарларды ұстау жағдайларын санитариялық-гигиеналық, микробиологиялық және зоотехникалық бағалауды қамтыған. Эксперимент өндірістік жағдайларда екі топтағы бақылау және тәжірибелік бұзауларда, әрқайсысында 15 бастан, бірдей тамақтандыру және ұстау жағдайларында өткізілді. Эксперименттік іс-шаралар кешені ауаны аэроионизациялауды және табиғи эфир майларын мөлшерлеп шашыратуды қамтыды. Өзірленген тәсілдің тиімділігі микроклиматтық көрсеткіштердің динамикасы, жануарлардың тыныс алу аймағындағы ауаның микробтық тұқымдану деңгейі, сондай-ақ бұзаулардың жай-күйінің клиникалық-физиологиялық маркерлері бойынша бағаланды. Тәжірибелер нәтижелердің қайталануын растау үшін жылдың түрлі маусымдарында репликалаумен 20 тәулік бойы бірыңғай хаттама бойынша орындалды. Аэроионизация мен эфир майларын қолданудың бұзаулардың ауа ортасына айқын санитарлық-түзету әсерін тигізетіні анықталды. Бұл микробтық жүктемені төмендетуден және микроклимат параметрлерін оңтайландырудан, негізінен салыстырмалы ылғалдылық пен санитариялық жайлылық деңгейінен көрінеді. Алынған деректер респираторлық патологиялардың даму қаупінің төмендегенін, сондай-ақ жас төлдің физиологиялық бейімделуі және табиғи төзімділігін қолдау үшін қолайлы жағдайлардың қалыптасқанын куәландырады.

Түйін сөздер: аэроионизация, эфир майлары, микробтық тұқымдану, бұзаулар.

RESULTS OF COMPLEX APPLICATION OF AEROIONIZATION AND ESSENTIAL OILS IN CALF GROWING TECHNOLOGY

A.A. Alimov , N.A. Yedil 

Kazakh National Agrarian Research University, Almaty, Republic of Kazakhstan
*aitbai.65@mail.ru

Abstract. The article presents the results of a study of the effectiveness of the combined use of air ionization and essential oils in the technology of raising young calves. The purpose of the work was to veterinary and sanitary assessment of the influence of these factors on the parameters of the air environment and the physiological status of young animals in industrial animal husbandry. The research methodology was based on the principles of evidence-based veterinary sanitation and included a sanitary-hygienic, microbiological and zootechnical assessment of animal conditions. The experiment was carried out under production conditions on two groups of control and experimental calves, 15 heads each, which were under identical feeding and keeping conditions. The experimental set of measures included air ionization and dosed spraying of natural essential oils. The effectiveness of the developed approach was assessed by the dynamics of microclimatic indicators, the level of microbial contamination of the air in the respiratory zone of animals, as well

as by clinical and physiological markers of the condition of calves. The experiments were carried out according to a single protocol for 20 days with replication in different seasons of the year to confirm the reproducibility of the results. It has been established that the combined use of aeroionization and essential oils has a pronounced sanitary-correcting effect on the air environment of calves. This is expressed in a decrease in microbial load and optimization of microclimate parameters, mainly relative humidity and level of sanitary comfort. The data obtained indicate a decrease in the risk of developing respiratory pathologies, as well as the formation of favorable conditions for physiological adaptation and maintenance of natural resistance of young animals.

Keywords: aeroionization, essential oils, microbial contamination, calves.

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ *TREPONEMA PALLIDUM* IN VITRO: ОТ КРОЛИЧЬЕЙ МОДЕЛИ К ЧЕЛОВЕЧЕСКИМ КЛЕТОЧНЫМ СИСТЕМАМ

А.К. Наханов , С.К. Коканов *, Б.А. Еспембетов , Н.С. Сырым ,
А.А. Теребай , Л.Г. Мараховская

ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности»,
Национальный холдинг «QazBioPharm», Гвардейский, Республика Казахстан

*s.kokanov@biosafety.kz

Аннотация. *Treponema pallidum subsp. pallidum* является возбудителем сифилиса - социально значимой инфекции человека, заболеваемость которой сохраняет тенденцию к росту во многих регионах мира. Несмотря на наличие эффективной антибактериальной терапии, изучение биологии данного патогена длительное время было ограничено невозможностью его устойчивого культивирования в искусственных условиях. Исторически поддержание лабораторных штаммов *T. pallidum* осуществлялось преимущественно путем интратестикулярного пассирования на лабораторных кроликах, что сопровождалось биоэтическими, технологическими и регуляторными ограничениями. Цель обзора - систематизировать современные данные о развитии систем культивирования *T. pallidum in vitro*: от кроличьей модели и ранних тканевых культур до платформы Sf1Er, прямого выделения современных клинических штаммов и появления человеческих клеточных систем. В обзоре рассмотрены биологические причины трудности культивирования *T. pallidum*, включая редуцированный геном, ограниченные метаболические возможности, зависимость от клетки-хозяина и чувствительность к кислороду. Показано, что система долгосрочного сокультивирования с эпителиальными клетками кролика Sf1Er в среде ТрСМ-2 стала ключевым технологическим этапом в экспериментальной трепонемологии. Последующие исследования расширили спектр культивируемых штаммов, продемонстрировали возможность прямого выделения современных изолятов от пациентов и открыли перспективу использования человеческих фибробластных клеточных систем. Сделан вывод, что культивирование *T. pallidum in vitro* следует рассматривать как перспективную научно-технологическую платформу для изучения физиологии возбудителя, взаимодействия с клетками хозяина, оценки антибиотикочувствительности, снижения зависимости от животных моделей и развития биобезопасных экспериментальных подходов.

Ключевые слова: *Treponema pallidum*; сифилис; культивирование *in vitro*; Sf1Er; ТрСМ-2; человеческие фибробласты; клеточные культуры; кроличья модель; биобезопасность; трепонемология.

Введение

Сифилис остается одной из наиболее значимых бактериальных инфекций человека, передаваемых преимущественно половым путем. Несмотря на наличие эффективной антибактериальной терапии, глобальная эпидемиологическая ситуация по сифилису остается неблагоприятной. По данным ВОЗ, в 2022 году было зарегистрировано около 8 млн новых случаев сифилиса среди взрослых в возрасте 15-49 лет, что подтверждает сохраняющуюся актуальность изучения возбудителя, совершенствования лабораторного мониторинга и

разработки новых экспериментальных подходов к исследованию *Treponema pallidum* [1]. Глобальные оценки распространенности инфекций, передаваемых половым путем, также показывают, что сифилис сохраняет значительную медико-социальную нагрузку [2].

Современная эпидемиологическая ситуация подтверждает, что сифилис остается не только исторически значимой, но и актуальной инфекцией XXI века. Обзор Peeling и соавторов характеризует сифилис как инфекцию с выраженной инвазивностью, способностью к иммунному уклонению, длительным латентным течением и широким спектром клинических проявлений [3]. Наблюдение CDC за инфекциями, передаваемыми половым путем, указывает на дальнейшую значимость сифилиса для общественного здравоохранения [4]. Общие международные вызовы контроля инфекций, передаваемых половым путем, включают рост заболеваемости, неравномерный доступ к диагностике и необходимость усиления лабораторного мониторинга [5].

Современная лабораторная диагностика сифилиса преимущественно основана на серологических алгоритмах, включающих трепонемные и нетрепонемные тесты. Рекомендации CDC 2024 года подчеркивают, что серология остается основой лабораторного подтверждения сифилиса, а методы прямого выявления *T. pallidum* применяются главным образом при наличии активных поражений и соответствующей лабораторной инфраструктуры [6]. Однако серологические методы не позволяют изучать жизнеспособность возбудителя, его рост, взаимодействие с клетками, фенотипическую вариабельность и чувствительность к антибактериальным препаратам.

Treponema pallidum subsp. pallidum представляет собой высокоадаптированную спирохету с выраженной зависимостью от организма хозяина. Биологические особенности возбудителя, включая редуцированный геном, ограниченные метаболические возможности, чувствительность к кислороду и сложное строение наружной мембраны, в течение десятилетий препятствовали его устойчивому культивированию *in vitro* [7-15]. В результате экспериментальная трепонемология длительное время зависела от моделей *in vivo*, прежде всего от пассирования патогена на лабораторных кроликах.

Кроличья модель сыграла фундаментальную роль в сохранении лабораторных штаммов, изучении патогенеза сифилиса и разработке методов диагностики. Однако ее использование связано с рядом ограничений: необходимостью содержания специализированных вивариев, биоэтической нагрузкой, межсерийной вариабельностью биологического материала и трудностью стандартизации условий получения живых трепонем [16-17]. Эти факторы стимулировали поиск альтернативных клеточных систем, способных поддерживать жизнеспособность и репродукцию *T. pallidum* в контролируемых условиях *in vitro*.

Цель обзора - систематизировать современные данные о развитии систем культивирования *Treponema pallidum in vitro*: от кроличьей модели и ранних тканевых культур до платформы Sf1Ep, прямого выделения современных клинических штаммов и человеческих клеточных систем, а также оценить их значение для экспериментальной трепонемологии, биобезопасности и перспектив замещения животных моделей.

Методология обзора

Настоящая работа представляет собой обзорную статью аналитического типа, основанную на обобщении опубликованных данных о развитии систем культивирования *Treponema pallidum in vitro*. Такой формат выбран с учетом цели статьи: не проводить метаанализ количественных эффектов, а последовательно проследить развитие технологических подходов к культивированию *Treponema pallidum in vitro*, показать биологические причины трудности культивирования, оценить значение кроличьей модели, систем Sf1Ep/TrCM-2, прямого выделения современных клинических штаммов и первых человеческих клеточных платформ.

Поиск и отбор источников проводили по тематическим блокам: эпидемиология сифилиса; геномная и метаболическая организация *T. pallidum*; наружная мембрана и антигенная вариабельность; лабораторное поддержание штаммов и кроличья модель; ранние попытки культивирования *in vitro*; долгосрочное культивирование на клетках Sf1Er; прямое выделение современных клинических штаммов; человеческие клеточные системы; антибиотикорезистентность; лабораторная биобезопасность и перспективы замещения животных моделей.

В обзор включали оригинальные экспериментальные работы, обзорные публикации и документы международных или национальных организаций, содержащие сведения о биологии *T. pallidum*, условиях поддержания возбудителя *in vivo* и *in vitro*, клеточных линиях, культуральных средах, газовой атмосфере, режимах субкультивирования, критериях жизнеспособности, молекулярном типировании, геномной эпидемиологии, биобезопасности и использовании животных моделей.

Приоритет отдавали публикациям, в которых были описаны воспроизводимые условия культивирования, поддержания, субкультивирования или выделения *T. pallidum*, а также работам, повлиявшим на развитие экспериментальной трепонемологии. Дополнительно учитывали руководства ВОЗ, CDC и национальных лабораторных служб, поскольку они задают контекст безопасной работы с клиническим материалом и живыми культурами возбудителя.

Хронологически обзор охватывает классические исследования 1970-1980-х годов и современные публикации 2018-2026 годов, связанные с долгосрочным культивированием, расширением спектра штаммов, прямой изоляцией клинических образцов и переходом к человеческим клеточным системам. Такой временной диапазон позволяет показать эволюцию исследовательской логики: от кратковременного сохранения подвижности спирохет к воспроизводимым клеточным платформам.

Ограничением обзора является отсутствие собственного экспериментального сравнения культуральных систем и невозможность прямого статистического сопоставления результатов разных лабораторий. В опубликованных работах различались исходные штаммы, плотность инокулята, клеточные линии, состав среды, режим кислородной атмосферы, интервалы пассажей и критерии оценки жизнеспособности. Поэтому выводы статьи основаны на качественном сопоставлении воспроизводимости, технологической значимости, биологической релевантности и перспектив практического применения описанных систем.

Биологические причины трудности культивирования *Treponema pallidum*

Treponema pallidum относится к числу наиболее требовательных к условиям культивирования бактериальных патогенов. В отличие от многих возбудителей бактериальных инфекций, она не размножается на стандартных плотных и жидких питательных средах. Это связано не с отсутствием одного технического приема, а с комплексом биологических особенностей: редуцированным геномом, ограниченным метаболизмом, зависимостью от клетки-хозяина, чувствительностью к кислороду и высокой лабильностью наружной мембраны [7-13].

Одной из ключевых причин является выраженная геномная редукция. Геном *T. pallidum* имеет небольшой размер и содержит ограниченный набор генов, обеспечивающих автономный метаболизм. У возбудителя отсутствуют полноценные пути цикла трикарбоновых кислот, окислительного фосфорилирования и многие ферментные системы, необходимые для самостоятельного синтеза аминокислот, жирных кислот, нуклеотидов и ряда кофакторов [7-9]. Поэтому *T. pallidum* зависит от поступления готовых метаболитов из окружающей среды и организма хозяина.

Особенности *T. pallidum* как «скрытого» патогена подробно рассмотрены Radolf и соавторами, которые подчеркивают сочетание инвазивности, иммунного уклонения, метаболической зависимости от хозяина и ограниченной возможности генетической

манипуляции [11]. Эти свойства объясняют, почему традиционные микробиологические подходы, успешно применяемые к многим бактериальным патогенам, оказались малопригодными для бледной трепонемы.

Наружная мембрана *T. pallidum* отличается низкой плотностью поверхностно-экспонированных белков, что способствует иммунному уклонению, но одновременно делает возбудителя чувствительным к физическим, химическим и окислительным воздействиям [11-12]. Структурное моделирование белкового репертуара наружной мембраны подтверждает сложность ее организации и необходимость осторожной интерпретации поверхностной антигенности [13].

Дополнительным фактором является антигенная вариабельность белков семейства Trp, особенно TrpK. Показано, что TrpK является мишенью опсонизирующих антител и защитного иммунного ответа [14], а его вариабельные участки способны накапливать изменения под давлением иммунной системы хозяина [15]. Для культивирования это важно как показатель сложной адаптации *T. pallidum* к длительному существованию в организме, а не к автономному росту во внешней среде.

Таким образом, трудность культивирования *T. pallidum* определяется сочетанием нескольких факторов: неспособностью к полноценному автономному биосинтезу, потребностью в восстановительной микроаэрофильной среде, чувствительностью к окислительному и механическому стрессу, а также зависимостью от клеточного микроокружения.

Таблица 1 – Биологические факторы, ограничивающие культивирование *Treponema pallidum in vitro*

Биологический фактор	Проявление	Значение для культивирования
Редуцированный геном	Ограниченный набор генов автономного метаболизма	Необходимость поступления готовых метаболитов из среды или клеточного монослоя
Ограниченный энергетический метаболизм	Зависимость преимущественно от гликолиза	Высокая чувствительность к составу среды и доступности углеводных субстратов
Чувствительность к кислороду	Повреждение при избытке кислорода и окислительном стрессе	Необходимость микроаэрофильной и восстановительной среды
Лабильная наружная мембрана	Низкая плотность поверхностных белков, чувствительность к повреждению	Необходимость мягких условий инкубации и обработки
Зависимость от клетки-хозяина	Потребность в метаболическом и контактном взаимодействии	Использование клеточного монослоя вместо бесклеточных питательных сред
Медленное деление	Длительный период удвоения популяции	Необходимость продолжительного наблюдения и регулярного субкультивирования

Примечание. Таблица составлена авторами на основании данных о геномной организации, метаболической редукции и особенностях культивирования *T. pallidum* [7-13].

Кроличья модель: историческое значение и ограничения

Исторически кроличья модель стала основным способом поддержания жизнеспособных штаммов *Treponema pallidum* и получения инфекционного материала для экспериментальной трепонемологии. В классических протоколах *T. pallidum* выделяли из клинического материала или лабораторных штаммов, после чего поддерживали путем пассивирования в организме лабораторных кроликов, преимущественно через интратестикулярное заражение [16].

Кроличья модель сыграла фундаментальную роль в сохранении эталонных и клинических штаммов, включая *Nichols* и другие лабораторные линии, которые использовались для изучения патогенеза сифилиса, антигенной структуры возбудителя, иммунного ответа и чувствительности к антибактериальным препаратам [16]. Именно экспериментальные модели сифилиса позволили показать роль TrpK в иммунном ответе и накопление варибельности под иммунным давлением [14-15].

Однако зависимость от кроличьей модели имеет существенные ограничения. Использование лабораторных животных связано с биоэтическими требованиями и необходимостью соблюдения принципов гуманного обращения, включая подходы Replacement, Reduction and Refinement, то есть замену, сокращение и совершенствование экспериментов на животных [17]. Кроме того, содержание животных, заражение, наблюдение, эвтаназия и получение материала требуют специализированной инфраструктуры, обученного персонала, контроля биологической безопасности и стабильного ветеринарного сопровождения.

Технологическим ограничением является межсерийная варибельность материала, полученного от животных. На выход трепонем, степень воспалительной реакции, качество тканевого лизата и состав примесей могут влиять индивидуальные особенности животного, стадия инфекции, условия содержания, сопутствующая микробиота и технические особенности выделения материала [16].

С развитием долгосрочных систем культивирования *in vitro* роль кроличьей модели начала меняться. Она сохраняет значение как исторически проверенная модель для поддержания штаммов и оценки вирулентности, однако уже не может рассматриваться как единственная технологическая основа трепонемологии.

Таблица 2 – Значение и ограничения кроличьей модели в исследованиях *Treponema pallidum*

Аспект	Значение кроличьей модели	Ограничение
Поддержание штаммов	Позволяет сохранять жизнеспособные и вирулентные штаммы	Требует использования лабораторных животных и специализированного вивария
Получение материала	Обеспечивает источник подвижных спирохет	Материал содержит тканевые компоненты хозяина
Изучение вирулентности	Позволяет оценивать инфекционность после пассажей	Связана с биоэтической нагрузкой
Стандартизация	Исторически применялась как воспроизводимая модель	Возможна межсерийная варибельность материала
Биобезопасность	Модель хорошо описана в лабораторных протоколах	Требует контроля зараженных животных и биологических отходов
Замещение <i>in vitro</i>	Используется как сравнительная или исходная модель	Современные клеточные системы создают основу для снижения зависимости от животных

Примечание. Таблица составлена авторами на основании данных о лабораторном поддержании *T. pallidum* и принципах гуманного обращения с лабораторными животными [16-17].

Ранние попытки культивирования *in vitro*: от выживания к ограниченной репликации

Попытки культивировать *Treponema pallidum* вне организма животного предпринимались задолго до появления современных клеточных технологий. Первые эксперименты с тканевыми культурами не привели к созданию устойчивой воспроизводимой системы размножения возбудителя [18]. На протяжении десятилетий основной проблемой оставалось то, что в искусственных условиях удавалось поддерживать подвижность и кратковременную

жизнеспособность спирохет, но не стабильную репликацию с возможностью последовательного пассирования [18-19].

В 1970-е годы интерес к *in vitro*-культивированию *T. pallidum* усилился благодаря развитию культур клеток млекопитающих и методов контролируемой газовой инкубации. Было показано, что вирулентные трепонемы способны прикрепляться к поверхности клеток тканевых культур и сохранять подвижность дольше, чем в бесклеточных условиях [20-21]. При этом наиболее благоприятные результаты получали при сниженной концентрации кислорода и добавлении восстановительных компонентов в культуральную среду [21].

Особое место занимают работы, в которых сообщалось о возможности субкультивирования *T. pallidum* в клетках ВНК-21 [22]. Однако последующие независимые исследования не смогли подтвердить эти результаты [23]. Этот эпизод показал, насколько критичным для трепонемологии является независимое подтверждение данных о репликации и пассировании возбудителя.

Наиболее важным этапом раннего периода стали исследования, связанные с клеточной линией Sf1Ер - эпителиальными клетками кролика. Было показано, что среди нескольких исследованных культур именно Sf1Ер обеспечивала наиболее длительное сохранение вирулентных трепонем [19]. В дальнейшем были опубликованы исследования, подтвердившие возможность репликации *T. pallidum* в культуре Sf1Ер и уточнившие факторы, влияющие на размножение и субкультивирование возбудителя [18, 24-25].

Таким образом, ранний период *in vitro*-исследований *T. pallidum* прошел путь от безуспешных тканевых культур и кратковременного выживания спирохет к ограниченной репликации в системе Sf1Ер. Эти данные создали основу для последующего технологического прорыва 2018 года.

Таблица 3 – Ранние этапы культивирования *Treponema pallidum in vitro*

Этап	Клеточная система / условия	Основной результат	Ограничение	Источники
Ранние тканевые культуры	Различные тканевые экспланты	Попытки поддержания спирохет вне организма животного	Отсутствие устойчивого роста	[18]
1970-е годы	Бесклеточные и тканевые системы	Продленное выживание вирулентных трепонем	Нет доказанного длительного пассирования	[19]
Клеточные культуры млекопитающих	Разные линии клеток	Прикрепление к клеточной поверхности	Преимущественно выживание, а не стабильная репликация	[20-21]
ВНК-21	Клетки почки новорожденного хомяка	Сообщение о росте и пассажах	Результаты не подтверждены независимо	[22-23]
Sf1Ер, 1981	Эпителиальные клетки кролика, 1,5% O ₂	Показано размножение вирулентного штамма <i>Nichols</i>	Ограниченная длительность системы	[18]
Sf1Ер, 1982-1986	Уточнение условий субкультивирования	Подтверждение роли условий среды	Не достигнута длительная непрерывная культура	[24-25]

Примечание. Таблица составлена авторами по опубликованным данным ранних исследований культивирования *T. pallidum in vitro* [18-25].

Долгосрочное культивирование *Treponema pallidum in vitro*: технологический прорыв

Принципиальный перелом в экспериментальной трепонемологии произошел в 2018 году, когда Edmondson, Hu и Norris описали воспроизводимую систему долгосрочного культивирования *Treponema pallidum subsp. pallidum in vitro* [26]. До этого клеточные системы рассматривались преимущественно как модели продленного выживания или ограниченной репликации, тогда как поддержание жизнеспособных штаммов возбудителя продолжало зависеть от пассирования на лабораторных кроликах.

Основу данной платформы составило сокультивирование трепонем с эпителиальными клетками кролика Sf1Ep в модифицированной среде ТрСМ-2 при низком содержании кислорода. Ключевыми условиями были наличие клеточного монослоя, восстановительная культуральная среда, поддержание микроаэрофильной атмосферы, регулярное обновление среды и субкультивирование каждые 6-7 суток [26].

Дальнейшие исследования подтвердили устойчивость и расширяемость этой технологии. В 2021 году было показано, что система позволяет поддерживать непрерывное культивирование *T. pallidum* в течение длительного времени и применима не только к штамму *Nichols*, но и к другим штаммам и подвидам патогенных трепонем [27]. Отдельные протоколы культивирования описали практические условия работы с культурой в стандартной лабораторной среде [28].

Оптимизация параметров культуры показала, что устойчивое размножение *T. pallidum* зависит от качества клеточного монослоя Sf1Ep, состава среды ТрСМ-2, концентрации кислорода, режима замены среды, плотности инокулята, интервалов субкультивирования и контроля контаминации [27-28]. Следовательно, данная система требует высокой технологической дисциплины: малейшее нарушение условий может привести к снижению подвижности, нарушению репликации и потере культуры.

Долгосрочное культивирование *in vitro* изменило возможности исследования *T. pallidum*. Оно создало условия для получения более стандартизированного живого материала, проведения длительных наблюдений за ростом и адаптацией штаммов, межштаммового сравнения, оценки факторов репликации и последующего изучения антибиотикочувствительности [26-29].

Таблица 4 – Ключевые элементы системы долгосрочного культивирования *Treponema pallidum in vitro*

Элемент системы	Характеристика	Значение для культивирования	Источники
Клеточная линия Sf1Ep	Эпителиальные клетки кролика	Создают клеточное микроокружение и поддерживают репликацию	[26-28]
Среда ТрСМ-2	Модифицированная культуральная среда	Обеспечивает питательные, восстановительные и буферные условия	[26-28]
Низкокислородная атмосфера	Микроаэрофильные условия	Снижает повреждающее действие кислорода и окислительного стресса	[26-27]
Регулярное субкультивирование	Перенос культуры через определенные интервалы	Поддерживает логарифмическое размножение	[26-28]
Контроль состояния монослоя	Поддержание жизнеспособности клеточного монослоя	Сохраняет стабильность взаимодействия с клеточной поверхностью	[27-28]
Межштаммовое применение	Использование разных штаммов <i>T. pallidum</i>	Позволяет изучать физиологическую вариабельность	[27, 29]

Примечание. Таблица составлена авторами на основании данных о долгосрочном культивировании *T. pallidum in vitro* [26-29].

Прямое выделение современных клинических штаммов от пациентов

Следующим важным этапом после создания системы долгосрочного культивирования стало прямое выделение современных клинических штаммов *Treponema pallidum* из материала пациентов. Это направление имеет принципиальное значение, поскольку классическая трепонемология длительное время опиралась преимущественно на лабораторные штаммы, поддерживаемые через кроличью модель, тогда как циркулирующие в человеческой популяции варианты возбудителя могут иметь собственные генетические и физиологические особенности.

В 2025 году Bosak и соавторы предложили протокол *in vitro*-изоляции *T. pallidum* непосредственно из клинических образцов пациентов с сифилисом без предварительного пассирования на кроликах [30]. Клинический материал помещали в среду ТрСМ-2, затем использовали фильтрацию и последующее культивирование на клетках Sf1Ер. Такой подход позволял одновременно снизить загрязнение клинического материала сопутствующими компонентами и обогатить культуру жизнеспособными спирохетами.

Практическая ценность работы заключалась в том, что из клинических образцов удалось получить стабильные культуры *T. pallidum*. Это показало, что *in vitro*-система может использоваться не только для поддержания уже известных лабораторных штаммов, но и для выделения современных клинически значимых изолятов [30].

Геномные исследования современных штаммов показывают, что различия между линиями *T. pallidum* не ограничиваются формальными типировочными маркерами. Глобальный анализ выявил широкое распространение двух основных линий - *Nichols* и *SS14* - и показал, что обе линии циркулируют в разных странах [31-32]. Развитие молекулярного типирования также позволило оценивать географическое распределение типов и связь отдельных генетических вариантов с клиническими формами инфекции [33].

Происхождение и распространение современных линий *T. pallidum* рассматриваются в геномных исследованиях Агора и соавторов, которые показали существование пандемического кластера, связанного с современным сифилисом [34]. В дальнейшем были опубликованы данные о независимом возникновении макролидной устойчивости в нескольких циркулирующих линиях [35], а также о современных вспышках и популяционной структуре возбудителя в отдельных регионах [36]. Международное исследование клинического и геномного разнообразия *T. pallidum* подтвердило значение репрезентативных данных о циркулирующих штаммах для будущих вакцинных исследований [37]. Анализ современных и древних геномов дополнительно показывает, что выбор референсного генома и стратегия картирования могут влиять на филогенетическую интерпретацию [38], а интегрированные геномные подходы позволяют уточнять классификацию линий возбудителя [39].

Таким образом, прямое выделение *T. pallidum* из клинического материала пациентов стало логичным развитием платформы долгосрочного культивирования. Оно переводит *in vitro*-культивирование из области фундаментальной лабораторной модели в область прикладной клинической и эпидемиологической трепонемологии.

Таблица 5 – Значение прямого выделения современных клинических штаммов *Treponema pallidum in vitro*

Аспект	Содержание	Научное и практическое значение	Источники
Источник материала	Клинические образцы пациентов с сифилисом	Позволяет работать с современными вариантами возбудителя	[30]
Исключение кроличьей стадии	Первичное выделение проводится непосредственно <i>in vitro</i>	Снижает зависимость от животных моделей	[30]

Аспект	Содержание	Научное и практическое значение	Источники
Клеточная поддержка	Среда TrCM-2 и клетки Sf1Er	Обеспечивает условия для выживания и репликации	[26-27, 30]
Генетическая характеристика	<i>Nichols-like</i> и <i>SS14-like</i> линии	Позволяет изучать современные линии в живой культуре	[30-36]
Перспектива применения	Геномика, фенотипирование, антибиотикочувствительность, патогенез	Расширяет возможности клинической трепонемологии	[29-36]

Примечание. Таблица составлена авторами на основании данных о прямой *in vitro*-изоляции современных штаммов *T. pallidum* и исследований генетического разнообразия возбудителя [30-36].

Человеческие клеточные системы культивирования *Treponema pallidum*

Переход от кроличьих клеток Sf1Er к человеческим клеточным системам стал следующим закономерным этапом развития *in vitro*-культивирования *Treponema pallidum*. Система Sf1Er + TrCM-2 доказала возможность длительного поддержания и размножения возбудителя *in vitro* [26-27], однако она основана на клетках животного происхождения. Для изучения взаимодействия *T. pallidum* с тканями человека более физиологически релевантными являются модели, включающие человеческие клетки.

В 2026 году Bosak, Hrala, Pospisilova, Bosakova и Smajs описали первую человеческую клеточную систему культивирования сифилитической спирохеты *T. pallidum* [40]. Авторы оценивали три линии человеческих фибробластов крайней плоти - HFF1, HFFC и MoNa - как альтернативу кроличьим эпителиальным клеткам Sf1Er. Выбор фибробластов человека является логичным, поскольку *T. pallidum* в организме взаимодействует с тканевыми структурами, межклеточным матриксом и клетками соединительной ткани.

Методически человеческая клеточная система основана на проверенной логике долгосрочного культивирования: среде TrCM-2, низкокислородных условиях, клеточном монослое и регулярном контроле роста спирохет [40]. Вместе с тем перенос протокола с Sf1Er на человеческие фибробласты нельзя считать простой заменой клеточного субстрата: происхождение линии, число пассажей, состояние монослоя и особенности клеточного метаболизма могут существенно влиять на результат.

Главное преимущество человеческих фибробластов состоит в повышении физиологической релевантности модели и возможности изучать адгезию, выживание, репликацию и клеточный ответ в контролируемых условиях. Однако опубликованные данные пока получены ограниченным числом исследовательских групп. Не определены допустимые диапазоны плотности клеток и инокулята, критерии стабильности длительных пассажей и степень сохранения вирулентности и фенотипа исходного штамма.

Критическими ограничениями остаются межлабораторная вариабельность, различия между партиями сыворотки и реагентов, возможный дрейф свойств клеточных линий, сложность унификации газового режима и субъективность оценки подвижности трепонем. Поэтому необходимы независимое воспроизведение результатов, многоцентровая валидация, единые контрольные штаммы и согласованные критерии приемлемости культуры. Трехмерные культуры, органоиды и микрофизиологические платформы потенциально лучше воспроизводят тканевую архитектуру, но для *T. pallidum* пока остаются перспективными, а не валидированными моделями [41-44].

Следовательно, человеческие клеточные системы являются важным направлением развития, но на современном этапе должны рассматриваться как экспериментальные платформы, требующие дальнейшей стандартизации и независимого подтверждения.

Таблица 6 – Значение человеческих клеточных систем для культивирования *Treponema pallidum*

Аспект	Характеристика	Значение для исследований	Источники
Клеточный субстрат	Человеческие фибробластные линии HFF1, HFFC и MoNa	Повышение физиологической релевантности модели	[40]
Альтернатива Sf1Er	Замена кроличьих эпителиальных клеток человеческими клетками	Снижение зависимости от клеток животного происхождения	[26-27, 40]
Методическая основа	ТрСМ-2, клеточный монослой, низкокислородные условия	Сохранение проверенной логики долгосрочной культуры	[26-27, 40]
Будущие модели	Органоиды, трехмерные культуры, микрофизиологические системы	Приближение к тканевым условиям организма человека	[41-44]
Ограничения	Ограниченный объем данных; зависимость от характеристик клеточной линии и реагентов; риск межлабораторной вариабельности	Требуются независимая валидация, контрольные штаммы и единые критерии приемлемости	[40]

Примечание. Таблица составлена авторами на основании данных о первой человеческой клеточной системе культивирования *T. pallidum* и современных органоидных платформах [40-44].

Таблица 7 – Сравнительная характеристика моделей культивирования *Treponema pallidum*

Критерий	Кроличья модель	Sf1Er + ТрСМ-2	Человеческие фибробласты	3D-модели/органоиды
Воспроизводимость	Средняя; зависит от животного и стадии инфекции	Высокая при строгом соблюдении протокола	Предварительно подтверждена; требуется независимая валидация	Не установлена для <i>T. pallidum</i>
Физиологическая релевантность	Системная модель инфекции, но межвидовые различия	Ограничена клетками кролика	Выше для взаимодействия с клетками человека	Потенциально наиболее высокая
Стоимость и инфраструктура	Высокие; необходим виварий	Средние; клеточная лаборатория и контроль газовой среды	Средние/высокие; требуется стандартизованная клеточная линия	Высокие; сложные матриксы и оборудование
Биоэтическая нагрузка	Высокая	Низкая	Низкая	Низкая
Биобезопасность	Риски работы с зараженными	Риски манипуляций с живой	Аналогичные риски живой культуры плюс	Зависит от закрытости и сложности

	животными и отходами	культурой	контроль человеческих клеток	системы
Длительное культивирование	Поддержание через пассажи <i>in vivo</i>	Подтверждено	Показано в первой системе, но объем данных ограничен	Не продемонстрировано
Антибиотикочувствительность	Возможна, но трудоемка и вариабельна	Перспективна для фенотипической оценки	Перспективна, после валидации	Теоретически возможна
Стандартизация и межлабораторная переносимость	Ограниченная	Наиболее разработанная среди <i>in vitro</i> -систем	Недостаточная; необходимы контрольные критерии	Отсутствует для <i>T. pallidum</i>

Примечание. Сравнение выполнено авторами по данным о кроличьей модели, системах Sf1Er/TrCM-2, человеческих фибробластах и перспективных трехмерных моделях [16-17, 26-28, 40-44].

Аналогичный риск-ориентированный подход к управлению биологическими рисками и биозащите лабораторий представлен в профильных публикациях журнала «Биобезопасность и Биотехнология» [57-58].

Биобезопасность и регуляторные аспекты культивирования *Treponema pallidum in vitro*

Развитие систем культивирования *T. pallidum in vitro* расширило возможности экспериментальной трепонемологии, однако одновременно повысило требования к биобезопасности, регуляторному контролю и документированию лабораторных процедур. Если серологическая диагностика сифилиса преимущественно связана с исследованием инаktivированных или непропативных образцов, то культивирование живого возбудителя, работа с клиническим материалом, клеточными культурами и криобанками требуют более строгого риск-ориентированного подхода.

Современные документы ВОЗ по лабораторной биобезопасности подчеркивают риск-ориентированный подход: уровень мер защиты должен определяться не только свойствами биологического агента, но и характером выполняемой процедуры, объемом материала, вероятностью образования аэрозолей, компетентностью персонала и возможными последствиями инцидента [45-46]. Такой подход особенно важен для работы с *T. pallidum*, поскольку риск при микроскопии, фильтрации, культивировании, криохранении и транспортировке образцов будет различаться.

Согласно паспорту безопасности патогена, *T. pallidum* относится к патогенам человека, работа с которыми требует соответствующего уровня лабораторной изоляции, стандартных процедур и контроля персонала [47]. Для статьи это важно сформулировать аккуратно: речь идет не о максимальной опасности, а о необходимости четкой системы контроля, обучения персонала, инженерной защиты и процедурной дисциплины.

Первым критическим звеном является работа с клиническим материалом. Образцы из оральных и генитальных поражений пациентов могут содержать не только *T. pallidum*, но и сопутствующую микробиоту, клетки хозяина, кровь, секреты слизистых оболочек и другие потенциально инфекционные компоненты [30, 45-47]. Поэтому прием, маркировка, транспортировка внутри лаборатории, первичная обработка и внесение материала в культуру должны выполняться по утвержденным стандартным операционным процедурам.

Второе звено - культивирование живого возбудителя на клеточных культурах. Система Sf1Er + TrCM-2, а также человеческие фибробластные модели требуют регулярных манипуляций: замены среды, микроскопического контроля, переноса культуры, учета количества трепонем и оценки подвижности [26-27, 40]. Каждая такая операция может сопровождаться риском загрязнения культуры, случайного контакта персонала с материалом или перекрестной контаминации между штаммами.

Третье звено - криохранение и учет штаммов. Долгосрочное культивирование *T. pallidum* и прямое выделение клинических штаммов создают необходимость формирования коллекций живых культур [27, 30]. Каждая культура должна иметь уникальный идентификационный код, паспорт штамма, сведения о происхождении, дате выделения, количестве пассажей, условиях культивирования, результатах контроля контаминации и месте хранения.

Таблица 8 – Основные риски и меры контроля при культивировании *Treponema pallidum in vitro*

Этап работы	Потенциальный риск	Основные меры контроля	Источники
Прием клинического материала	Контакт с потенциально инфекционными образцами	Маркировка, герметичная упаковка, биологический шкаф безопасности, средства индивидуальной защиты	[30, 45-47]
Первичная обработка образцов	Образование аэрозолей, загрязнение поверхностей	Минимизация аэрозолей, закрытые емкости, дезинфекция рабочих поверхностей	[45-46]
Фильтрация и внесение в культуру	Контаминация культуры, контакт персонала с материалом	Работа по СОП, стерильные расходные материалы, разделение зон	[30, 45-47]
Сокультивирование с клетками	Перекрестная контаминация штаммов, потеря культуры	Раздельная работа со штаммами, контроль микоплазм, журнал пассажей	[26-27, 40]
Криохранение	Ошибки идентификации, потеря прослеживаемости	Паспорт штамма, уникальный код, журнал криобанка, резервное хранение	[27, 30]
Утилизация отходов	Сохранение инфекционного материала в отходах	Автоклавирование, химическая дезинфекция, журналы обеззараживания	[45-46]

Примечание. Таблица составлена авторами с учетом современных подходов к лабораторной биобезопасности и данных о культивировании *T. pallidum in vitro* [26-27, 30, 40, 45-47].

Перспективы применения *in vitro*-культивирования *Treponema pallidum*

Развитие систем культивирования *T. pallidum in vitro* сформировало экспериментальную платформу, которая объединяет исследования физиологии возбудителя, взаимодействия с клетками хозяина, антибиотикочувствительности, современных клинических изолятов и постепенного сокращения использования животных моделей [16-17, 26-30, 35, 40].

Ключевыми направлениями применения являются анализ метаболических потребностей и реакции на микроокружение, изучение адгезии и репликации на клетках хозяина, а также фенотипическая оценка действия антибактериальных препаратов. Последняя особенно важна на фоне распространения молекулярных маркеров устойчивости к макролидам, хотя пенициллин сохраняет статус основного средства терапии сифилиса [35, 48-51].

Прямое выделение клинических штаммов позволяет сопоставлять геномные и фенотипические характеристики актуальных *Nichols-like* и *SS14-like* линий, а

стандартизированные клеточные культуры могут служить источником более однородного биологического материала для межлабораторных исследований, разработки контрольных материалов и сравнительной иммунологии [26-36, 52-55].

Практическая ценность таких платформ будет определяться межлабораторной воспроизводимостью. Необходимы унифицированные критерии качества: исходная плотность и подвижность трепонем, состояние клеточного монослоя, состав среды, газовый режим, интервалы пассажей, отсутствие бактериальной и микоплазменной контаминации, условия криохранения и документированная прослеживаемость штамма [26-28, 40].

Технологическая стандартизация должна охватывать весь цикл работы, а не только рецептуру среды. Для клеточных технологий принципиально важны контроль жизнеспособности клеток, воспроизводимость характеристик монослоя и масштабируемость процессов; аналогичные требования рассматриваются в публикациях журнала «Биобезопасность и Биотехнология» по клеточным платформам и управлению биологическими рисками [56-58].

В дальнейшем возможна интеграция культуральных систем с микрофлюидными устройствами, автоматизированным контролем газовой среды и цифровой регистрацией параметров культуры. Однако внедрение таких решений требует предварительной валидации, паспортизации штаммов и регламентированных процедур биобезопасности.

Будущий прогресс будет зависеть от перехода от отдельных лабораторных достижений к воспроизводимым системам качества: с контрольными штаммами, паспортами культур, едиными критериями пригодности и прослеживаемостью пассажей. Поэтапная стратегия должна включать валидацию Sf1Ep/TrCM-2, работу с клиническими изолятами, независимую проверку человеческих клеточных систем и только затем развитие трехмерных моделей.

Специализированные коллекции *T. pallidum* могут использоваться для сравнительных исследований, межлабораторной проверки протоколов и подготовки контрольных материалов. Их создание требует этического сопровождения клинического материала, регламентированного обмена штаммами и строгого учета биологических рисков.

Культуральные системы целесообразно сочетать с темнопольной микроскопией, количественным учетом, геномным секвенированием, транскриптомикой и тестированием антибактериальных препаратов. Такое объединение позволит перейти от констатации роста к анализу механизмов адаптации, персистенции и межштаммовой вариабельности.

Важным направлением является также интеграция культуральных систем с современными аналитическими методами. Получение живых культур открывает возможность сочетать темнопольную микроскопию, количественный учет спирохет, геномное секвенирование, транскриптомный анализ, протеомику, оценку метаболических маркеров и тестирование антибактериальных препаратов. Именно объединение культуральной модели с молекулярными методами позволит перейти от описания факта роста к пониманию механизмов адаптации, персистенции и межштаммовой вариабельности *T. pallidum*.

Культивирование *Treponema pallidum in vitro* прошло путь от кратковременного сохранения спирохет до воспроизводимых систем долгосрочного сокультивирования. Кроличья модель сохраняет значение для отдельных задач, однако ее ограничения стимулировали развитие клеточных альтернатив.

Система Sf1Ep + TrCM-2 стала наиболее разработанной основой долгосрочного культивирования и прямого выделения клинических изолятов. Человеческие фибробластные системы повышают физиологическую релевантность, но требуют независимой межлабораторной валидации и унификации контрольных параметров.

Приоритетами дальнейшей работы являются стандартизация, контроль качества и биобезопасности, паспортизация культур, оценка антибиотикочувствительности и развитие моделей взаимодействия с клетками человека. Таким образом, *in vitro*-культивирование

представляет перспективную, но технологически требовательную платформу современной трепонемологии.

Следующим важным этапом стало прямое выделение современных клинических штаммов *T. pallidum* от пациентов без предварительного пассирования на кроликах [30]. Этот подход приблизил *in vitro*-культивирование к задачам клинической и эпидемиологической трепонемологии, поскольку позволил получать живые культуры актуальных циркулирующих линий возбудителя.

Появление человеческих клеточных систем культивирования стало еще одним принципиальным шагом. Использование фибробластных линий человека повышает физиологическую релевантность модели и создает условия для изучения взаимодействия спирохеты с клетками хозяина в более приближенной к естественной системе [40].

Вместе с тем современные системы культивирования *T. pallidum* требуют строгой стандартизации. Необходимы унифицированные протоколы подготовки клеточных культур, состава среды, газовой атмосферы, режима субкультивирования, оценки жизнеспособности, контроля контаминации, криохранения и учета штаммов.

Таким образом, *in vitro*-культивирование *T. pallidum* формирует новую научно-технологическую платформу для современной трепонемологии. Ее значение заключается в возможности изучать живой возбудитель в контролируемых условиях, снижать зависимость от животных моделей, получать современные клинические штаммы, развивать человеческие клеточные системы и создавать основу для будущих биотехнологических и диагностических решений.

Заключение

1. Историческая зависимость исследований *Treponema pallidum* от кроличьей модели была обусловлена невозможностью длительного и воспроизводимого культивирования возбудителя в искусственных условиях.

2. Биологические особенности *T. pallidum* - редуцированный геном, ограниченный метаболизм, чувствительность к кислороду и зависимость от клеточного микроокружения - определяют необходимость использования клеточных систем, а не обычных бесклеточных питательных сред.

3. Система Sf1Er + TrCM-2 стала ключевым технологическим прорывом, обеспечившим долгосрочное культивирование и регулярное субкультивирование *T. pallidum in vitro*.

4. Прямое выделение современных клинических штаммов от пациентов расширило значение *in vitro*-культивирования для клинической, эпидемиологической и сравнительной трепонемологии.

5. Человеческие клеточные системы являются перспективным направлением, поскольку повышают физиологическую релевантность модели и позволяют изучать взаимодействие *T. pallidum* с клетками человека.

6. Дальнейшее развитие данного направления требует стандартизации протоколов, контроля биобезопасности, учета штаммов, межлабораторной валидации и соблюдения биоэтических требований.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов: Концепция и дизайн обзора - А.К. Наханов, С.К. Коканов; сбор и анализ литературы - А.К. Наханов, Б.А. Еспембетов, Н.С. Сырым, А.А. Теребай; подготовка первоначального текста - А.К. Наханов; критическая редакция рукописи - С.К. Коканов, Л.Г. Мараховская; утверждение окончательной версии - все авторы.

Соответствие принципам этики: Настоящая работа является обзорной статьей и не содержит результатов собственных экспериментов с участием людей или животных. Этическое одобрение для подготовки обзора не требовалось.

Использование генеративного искусственного интеллекта: При подготовке редакционной версии рукописи могли использоваться инструменты языковой обработки текста для структурирования, стилистического редактирования и проверки связности изложения. Научное содержание, интерпретация источников и окончательная ответственность за текст принадлежат авторам.

Литература

1. World Health Organization. Sexually transmitted infections (STIs): strategic information. Syphilis estimates, 2022 / World Health Organization. - Geneva : WHO, 2024.
2. Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016 / J. Rowley, S. Vander Hoorn, E. Korenromp [et al.] // Bulletin of the World Health Organization. - 2019. - Vol. 97, No. 8. - P. 548-562P. - DOI: 10.2471/BLT.18.228486.
3. Peeling R.W. Syphilis / R.W. Peeling, D. Mabey, M.L. Kamb, X.S. Chen, J.D. Radolf, A.S. Benzaken // Nature Reviews Disease Primers. - 2017. - Vol. 3. - Article 17073. - DOI: 10.1038/nrdp.2017.73.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Infections Surveillance, 2023 / Centers for Disease Control and Prevention. - Atlanta : CDC, 2024.
5. Sexually transmitted infections: challenges ahead / M. Unemo, C.S. Bradshaw, J.S. Hocking [et al.] // The Lancet Infectious Diseases. - 2017. - Vol. 17, No. 8. - P. e235-e279.
6. CDC Laboratory Recommendations for Syphilis Testing, United States, 2024 / J.R. Papp, I.U. Park, Y. Fakile [et al.] // MMWR Recommendations and Reports. - 2024. - Vol. 73, No. 1. - P. 1-32. - DOI: 10.15585/mmwr.rr7301a1.
7. Complete genome sequence of *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete / C.M. Fraser, S.J. Norris, G.M. Weinstock [et al.] // Science. - 1998. - Vol. 281, No. 5375. - P. 375-388. - DOI: 10.1126/science.281.5375.375.
8. Weinstock G.M. The genome of *Treponema pallidum*: new light on the agent of syphilis / G.M. Weinstock, J.M. Hardham, M.P. McLeod, E.J. Sodergren, S.J. Norris // FEMS Microbiology Reviews. - 1998. - Vol. 22, No. 4. - P. 323-332.
9. Norris S.J. Biology of *Treponema pallidum*: correlation of functional activities with genome sequence data / S.J. Norris, D.L. Cox, G.M. Weinstock // Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology. - 2001. - Vol. 3, No. 1. - P. 37-62.
10. Lafond R.E. Biological basis for syphilis / R.E. Lafond, S.A. Lukehart // Clinical Microbiology Reviews. - 2006. - Vol. 19, No. 1. - P. 29-49. - DOI: 10.1128/CMR.19.1.29-49.2006.
11. *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete: making a living as a stealth pathogen / J.D. Radolf, R.K. Deka, A. Anand [et al.] // Nature Reviews Microbiology. - 2016. - Vol. 14, No. 12. - P. 744-759. - DOI: 10.1038/nrmicro.2016.141.
12. Radolf J.D. The *Treponema pallidum* outer membrane / J.D. Radolf, S. Kumar // Current Topics in Microbiology and Immunology. - 2018. - Vol. 415. - P. 1-38. - DOI: 10.1007/82_2017_44.

13. Structural modeling of the *Treponema pallidum* outer membrane protein repertoire / K.L. Hawley, J.M. Montezuma-Rusca, K.N. Delgado [et al.] // Journal of Bacteriology. - 2021. - Vol. 203, No. 15. - Article e00082-21.
14. *Treponema pallidum* major sheath protein homologue TprK is a target of opsonic antibody and the protective immune response / A. Centurion-Lara, C. Castro, L. Barrett [et al.] // Journal of Experimental Medicine. - 1999. - Vol. 189, No. 4. - P. 647-656.
15. Antigenic variation in *Treponema pallidum*: TprK sequence diversity accumulates in response to immune pressure during experimental syphilis / L. Giacani, B.J. Molini, E.Y. Kim [et al.] // Journal of Immunology. - 2010. - Vol. 184, No. 7. - P. 3822-3829.
16. Lukehart S.A. Isolation and laboratory maintenance of *Treponema pallidum* / S.A. Lukehart, C.M. Marra // Current Protocols in Microbiology. - 2007. - Chapter 12. - Unit 12A.1. - DOI: 10.1002/9780471729259.mc12a01s7.
17. National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals / National Research Council. - 8th ed. - Washington, DC : The National Academies Press, 2011. - DOI: 10.17226/12910.
18. Fieldsteel A.H. Cultivation of virulent *Treponema pallidum* in tissue culture / A.H. Fieldsteel, D.L. Cox, R.A. Moeckli // Infection and Immunity. - 1981. - Vol. 32, No. 2. - P. 908-915. - DOI: 10.1128/iai.32.2.908-915.1981.
19. Fieldsteel A.H. Prolonged survival of virulent *Treponema pallidum* (Nichols strain) in cell-free and tissue culture systems / A.H. Fieldsteel, F.A. Becker, J.G. Stout // Infection and Immunity. - 1977. - Vol. 18, No. 1. - P. 173-182. - DOI: 10.1128/iai.18.1.173-182.1977.
20. Fitzgerald T.J. *Treponema pallidum* (Nichols strain) in tissue cultures: cellular attachment, entry, and survival / T.J. Fitzgerald, J.N. Miller, J.A. Sykes // Infection and Immunity. - 1975. - Vol. 11, No. 5. - P. 1133-1140. - DOI: 10.1128/iai.11.5.1133-1140.1975.
21. Interaction of *Treponema pallidum* (Nichols strain) with cultured mammalian cells: effects of oxygen, reducing agents, serum supplements, and different cell types / T.J. Fitzgerald, R.C. Johnson, J.A. Sykes, J.N. Miller // Infection and Immunity. - 1977. - Vol. 15, No. 2. - P. 444-452. - DOI: 10.1128/iai.15.2.444-452.1977.
22. Growth and subculture of pathogenic *Treponema pallidum* (Nichols strain) in BHK-21 cultured tissue cells / R.H. Jones, M.A. Finn, J.J. Thomas, C. Folger // British Journal of Venereal Diseases. - 1976. - Vol. 52, No. 1. - P. 18-23. - DOI: 10.1136/sti.52.1.18.
23. Foster J.W. The *in vitro* cultivation of *Treponema pallidum*. Corroborative studies / J.W. Foster, D.S. Kellogg, J.W. Clark, A. Balows // British Journal of Venereal Diseases. - 1977. - Vol. 53, No. 6. - P. 338-339. - DOI: 10.1136/sti.53.6.338.
24. Fieldsteel A.H. Further studies on replication of virulent *Treponema pallidum* in tissue cultures of Sf1Ep cells / A.H. Fieldsteel, D.L. Cox, R.A. Moeckli // Infection and Immunity. - 1982. - Vol. 35, No. 2. - P. 449-455.
25. Norris S.J. Factors affecting the multiplication and subculture of *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* in a tissue culture system / S.J. Norris, D.G. Edmondson // Infection and Immunity. - 1986. - Vol. 53, No. 3. - P. 534-539.
26. Edmondson D.G. Long-term *in vitro* culture of the syphilis spirochete *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* / D.G. Edmondson, B. Hu, S.J. Norris // mBio. - 2018. - Vol. 9, No. 3. - Article e01153-18. - DOI: 10.1128/mBio.01153-18.
27. Parameters affecting continuous *in vitro* culture of *Treponema pallidum* strains / D.G. Edmondson, B.D. DeLay, L.E. Kowis, S.J. Norris // mBio. - 2021. - Vol. 12, No. 1. - Article e03536-20. - DOI: 10.1128/mBio.03536-20.
28. Edmondson D.G. *In vitro* cultivation of the syphilis spirochete *Treponema pallidum* / D.G. Edmondson, S.J. Norris // Current Protocols. - 2021. - Vol. 1. - Article e44. - DOI: 10.1002/cpz1.44.

29. *In vitro* analysis of seven syphilis-causing *Treponema pallidum* strains revealed inherent growth rate differences / J. Bosak, M. Hrala, P. Andrla [et al.] // Scientific Reports. - 2025. - Vol. 15. - Article 18827. - DOI: 10.1038/s41598-025-18827-9.
30. *In vitro* isolation of contemporary *Treponema pallidum* strains directly from clinical samples of syphilis patients / J. Bosak, M. Hrala, F. Skokan [et al.] // Clinical Microbiology and Infection. - 2025. - Vol. 31, No. 6. - P. 1061-1065. - DOI: 10.1016/j.cmi.2025.03.017.
31. Directly sequenced genomes of contemporary strains of syphilis reveal recombination-driven diversity in genes encoding predicted surface-exposed antigens / L. Grillova, T. Bawa, L. Mikalova [et al.] // Frontiers in Microbiology. - 2019. - Vol. 10. - Article 1691. - DOI: 10.3389/fmicb.2019.01691.
32. Global phylogeny of *Treponema pallidum* lineages reveals recent expansion and spread of contemporary syphilis / M.A. Beale, M. Marks, M.J. Cole [et al.] // Nature Microbiology. - 2021. - Vol. 6, No. 12. - P. 1549-1560. - DOI: 10.1038/s41564-021-01000-z.
33. Enhanced molecular typing of *Treponema pallidum*: geographical distribution of strain types and association with neurosyphilis / C.M. Marra, S.K. Sahi, L.C. Tantaló [et al.] // Journal of Infectious Diseases. - 2010. - Vol. 202, No. 9. - P. 1380-1388.
34. Origin of modern syphilis and emergence of a pandemic *Treponema pallidum* cluster / N. Arora, V.J. Schuenemann, G. Jager [et al.] // Nature Microbiology. - 2016. - Vol. 2. - Article 16245. - DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.245.
35. Genomic epidemiology of syphilis reveals independent emergence of macrolide resistance across multiple circulating lineages / M.A. Beale, M. Marks, S.K. Sahi [et al.] // Nature Communications. - 2019. - Vol. 10. - Article 3255. - DOI: 10.1038/s41467-019-11216-7.
36. Characterisation of *Treponema pallidum* lineages within the contemporary syphilis outbreak in Australia: a genomic epidemiological analysis / M.L. Taouk, G. Taiaroa, S. Pasricha [et al.] // The Lancet Microbe. - 2022. - Vol. 3, No. 6. - P. e417-e426. - DOI: 10.1016/S2666-5247(22)00035-0.
37. Clinical and genomic diversity of *Treponema pallidum* subspecies pallidum to inform vaccine research: an international, molecular epidemiology study / A.C. Sena, M.M. Matoga, L. Yang [et al.] // The Lancet Microbe. - 2024. - Vol. 5, No. 9. - Article 100871. - DOI: 10.1016/S2666-5247(24)00087-9.
38. Insights into *Treponema pallidum* genomics from modern and ancient genomes using a novel mapping strategy / M. Pla-Díaz, G. Akgul, M. Molak [et al.] // BMC Biology. - 2025. - Vol. 23, No. 1. - Article 7. - DOI: 10.1186/s12915-024-02108-4.
39. Integrated genomic approaches improve *Treponema pallidum* phylogenetics and lineage classification / G.S. Long, A.E. Singh [et al.] // Canadian Journal of Microbiology. - 2025. - Vol. 71. - P. 1-11. - DOI: 10.1139/cjm-2025-0021.
40. First human cell-based cultivation system for the syphilis spirochete *Treponema pallidum* / J. Bosak, M. Hrala, P. Pospisilova [et al.] // BMC Microbiology. - 2026. - Vol. 26. - Article 288. - DOI: 10.1186/s12866-026-04856-5.
41. Applications and research trends in organoid-based infectious disease models / J.O. Ryu, Y.J. Seong, E. Lee [et al.] // Scientific Reports. - 2025. - Vol. 15. - Article 25185. - DOI: 10.1038/s41598-025-07816-7.
42. Mapping the scientific output of organoids for animal and human modeling infectious diseases: a bibliometric assessment / J. Yan, A. Wiedemann [et al.] // Veterinary Research. - 2024. - Vol. 55. - Article 81. - DOI: 10.1186/s13567-024-01333-7.
43. Park G. Replacing animal testing with stem cell-organoids: advantages and limitations / G. Park, Y.A. Rim, Y. Sohn, Y. Nam, J.H. Ju // Stem Cell Reviews and Reports. - 2024. - Vol. 20, No. 6. - P. 1375-1386. - DOI: 10.1007/s12015-024-10723-5.
44. 3D engineered tissue models for studying human-specific infectious viral diseases / K.S. Hwang, J. Choi, J. Kim [et al.] // Bioactive Materials. - 2023. - Vol. 21. - P. 576-594. - DOI: 10.1016/j.bioactmat.2022.09.014.

45. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual / World Health Organization. - 4th ed. - Geneva : WHO, 2020. - ISBN 978-92-4-001131-1.
46. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual: Risk Assessment / World Health Organization. - Geneva : WHO, 2020.
47. Public Health Agency of Canada. Pathogen Safety Data Sheet: *Treponema pallidum* / Public Health Agency of Canada. - Updated September 27, 2024.
48. Stamm L.V. Syphilis: antibiotic treatment and resistance / L.V. Stamm // Epidemiology and Infection. - 2015. - Vol. 143, No. 8. - P. 1567-1574. - DOI: 10.1017/S0950268814002830.
49. Near-universal resistance to macrolides of *Treponema pallidum* in North America / N.A.P. Lieberman, T.B. Reid, C.A. Cannon [et al.] // New England Journal of Medicine. - 2024. - Vol. 390, No. 22. - P. 2127-2128. - DOI: 10.1056/NEJMc2314441.
50. *Treponema pallidum* macrolide resistance and molecular strain types in South Africa / J.M.E. Venter, E.E. Muller, M.P. Mahlangu [et al.] // Journal of Clinical Microbiology. - 2021. - Vol. 59. - Article e02385-20.
51. Muller E.E. Macrolide resistance testing and molecular subtyping of *Treponema pallidum* strains from southern Africa / E.E. Muller, G. Paz-Bailey, D.A. Lewis // Sexually Transmitted Infections. - 2012. - Vol. 88, No. 6. - P. 470-474. - DOI: 10.1136/sextrans-2011-050322.
52. Сейдахметова Б.А., Жаппарова Г.А., Мараховская Л.Г., Теребай А.А., Наханов А.К. Масштабирование культуры клеток Vero для производства биопрепаратов // Биобезопасность и Биотехнология. - 2022. - № 9. - С. 44-52. - DOI: 10.58318/2957-5702-2022-9-44-52.
53. Бурабаев Б.К., Джекебеков К.К., Уланкызы А. [и др.]. Управление биологическими рисками в Научно-исследовательском институте проблем биологической безопасности // Биобезопасность и Биотехнология. - 2020. - № 1. - С. 10-11.
54. Килибаев С.С., Таболдиев Д.Р., Джалдыбаева А.Е., Жунискулов Р.Б. Система биологической безопасности и биозащиты в НИИ // Биобезопасность и Биотехнология. - 2023. - № 14.
55. Canadian Public Health Laboratory Network National Syphilis In-Laboratory Serological Testing Recommendations / M. Morshed [et al.] // Journal of the Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada. - 2025. - DOI: 10.3138/jammi-2024-0027.
56. Giacani L. The endemic treponematoses / L. Giacani, S.A. Lukehart // Clinical Microbiology Reviews. - 2014. - Vol. 27, No. 1. - P. 89-115. - DOI: 10.1128/CMR.00070-13.
57. Smajs D. Genetics of human and animal uncultivable treponemal pathogens / D. Smajs, M. Strouhal, S. Knauf // Infection, Genetics and Evolution. - 2018. - Vol. 61. - P. 92-107.
58. A defined syphilis vaccine candidate inhibits dissemination of *Treponema pallidum* subspecies pallidum / K.V. Lithgow, R. Hof, C. Wetherell [et al.] // Nature Communications. - 2017. - Vol. 8. - Article 14273.

References

1. World Health Organization. Sexually transmitted infections (STIs): strategic information. Syphilis estimates, 2022 / World Health Organization. - Geneva : WHO, 2024.
2. Chlamydia, gonorrhoea, trichomoniasis and syphilis: global prevalence and incidence estimates, 2016 / J. Rowley, S. Vander Hoorn, E. Korenromp [et al.] // Bulletin of the World Health Organization. - 2019. - Vol. 97, No. 8. - P. 548-562P. - DOI: 10.2471/BLT.18.228486.
3. Peeling R.W. Syphilis / R.W. Peeling, D. Mabey, M.L. Kamb, X.S. Chen, J.D. Radolf, A.S. Benzaken // Nature Reviews Disease Primers. - 2017. - Vol. 3. - Article 17073. - DOI: 10.1038/nrdp.2017.73.
4. Centers for Disease Control and Prevention. Sexually Transmitted Infections Surveillance, 2023 / Centers for Disease Control and Prevention. - Atlanta : CDC, 2024.

5. Sexually transmitted infections: challenges ahead / M. Unemo, C.S. Bradshaw, J.S. Hocking [et al.] // The Lancet Infectious Diseases. - 2017. - Vol. 17, No. 8. - P. e235-e279.
6. CDC Laboratory Recommendations for Syphilis Testing, United States, 2024 / J.R. Papp, I.U. Park, Y. Fakile [et al.] // MMWR Recommendations and Reports. - 2024. - Vol. 73, No. 1. - P. 1-32. - DOI: 10.15585/mmwr.rr7301a1.
7. Complete genome sequence of *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete / C.M. Fraser, S.J. Norris, G.M. Weinstock [et al.] // Science. - 1998. - Vol. 281, No. 5375. - P. 375-388. - DOI: 10.1126/science.281.5375.375.
8. Weinstock G.M. The genome of *Treponema pallidum*: new light on the agent of syphilis / G.M. Weinstock, J.M. Hardham, M.P. McLeod, E.J. Sodergren, S.J. Norris // FEMS Microbiology Reviews. - 1998. - Vol. 22, No. 4. - P. 323-332.
9. Norris S.J. Biology of *Treponema pallidum*: correlation of functional activities with genome sequence data / S.J. Norris, D.L. Cox, G.M. Weinstock // Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology. - 2001. - Vol. 3, No. 1. - P. 37-62.
10. Lafond R.E. Biological basis for syphilis / R.E. Lafond, S.A. Lukehart // Clinical Microbiology Reviews. - 2006. - Vol. 19, No. 1. - P. 29-49. - DOI: 10.1128/CMR.19.1.29-49.2006.
11. *Treponema pallidum*, the syphilis spirochete: making a living as a stealth pathogen / J.D. Radolf, R.K. Deka, A. Anand [et al.] // Nature Reviews Microbiology. - 2016. - Vol. 14, No. 12. - P. 744-759. - DOI: 10.1038/nrmicro.2016.141.
12. Radolf J.D. The *Treponema pallidum* outer membrane / J.D. Radolf, S. Kumar // Current Topics in Microbiology and Immunology. - 2018. - Vol. 415. - P. 1-38. - DOI: 10.1007/82_2017_44.
13. Structural modeling of the *Treponema pallidum* outer membrane protein repertoire / K.L. Hawley, J.M. Montezuma-Rusca, K.N. Delgado [et al.] // Journal of Bacteriology. - 2021. - Vol. 203, No. 15. - Article e00082-21.
14. *Treponema pallidum* major sheath protein homologue TprK is a target of opsonic antibody and the protective immune response / A. Centurion-Lara, C. Castro, L. Barrett [et al.] // Journal of Experimental Medicine. - 1999. - Vol. 189, No. 4. - P. 647-656.
15. Antigenic variation in *Treponema pallidum*: TprK sequence diversity accumulates in response to immune pressure during experimental syphilis / L. Giacani, B.J. Molini, E.Y. Kim [et al.] // Journal of Immunology. - 2010. - Vol. 184, No. 7. - P. 3822-3829.
16. Lukehart S.A. Isolation and laboratory maintenance of *Treponema pallidum* / S.A. Lukehart, C.M. Marra // Current Protocols in Microbiology. - 2007. - Chapter 12. - Unit 12A.1. - DOI: 10.1002/9780471729259.mc12a01s7.
17. National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals / National Research Council. - 8th ed. - Washington, DC : The National Academies Press, 2011. - DOI: 10.17226/12910.
18. Fieldsteel A.H. Cultivation of virulent *Treponema pallidum* in tissue culture / A.H. Fieldsteel, D.L. Cox, R.A. Moeckli // Infection and Immunity. - 1981. - Vol. 32, No. 2. - P. 908-915. - DOI: 10.1128/iai.32.2.908-915.1981.
19. Fieldsteel A.H. Prolonged survival of virulent *Treponema pallidum* (Nichols strain) in cell-free and tissue culture systems / A.H. Fieldsteel, F.A. Becker, J.G. Stout // Infection and Immunity. - 1977. - Vol. 18, No. 1. - P. 173-182. - DOI: 10.1128/iai.18.1.173-182.1977.
20. Fitzgerald T.J. *Treponema pallidum* (Nichols strain) in tissue cultures: cellular attachment, entry, and survival / T.J. Fitzgerald, J.N. Miller, J.A. Sykes // Infection and Immunity. - 1975. - Vol. 11, No. 5. - P. 1133-1140. - DOI: 10.1128/iai.11.5.1133-1140.1975.
21. Interaction of *Treponema pallidum* (Nichols strain) with cultured mammalian cells: effects of oxygen, reducing agents, serum supplements, and different cell types / T.J. Fitzgerald, R.C. Johnson, J.A. Sykes, J.N. Miller // Infection and Immunity. - 1977. - Vol. 15, No. 2. - P. 444-452. - DOI: 10.1128/iai.15.2.444-452.1977.

22. Growth and subculture of pathogenic *Treponema pallidum* (Nichols strain) in BHK-21 cultured tissue cells / R.H. Jones, M.A. Finn, J.J. Thomas, C. Folger // British Journal of Venereal Diseases. - 1976. - Vol. 52, No. 1. - P. 18-23. - DOI: 10.1136/sti.52.1.18.
23. Foster J.W. The *in vitro* cultivation of *Treponema pallidum*. Corroborative studies / J.W. Foster, D.S. Kellogg, J.W. Clark, A. Balows // British Journal of Venereal Diseases. - 1977. - Vol. 53, No. 6. - P. 338-339. - DOI: 10.1136/sti.53.6.338.
24. Fieldsteel A.H. Further studies on replication of virulent *Treponema pallidum* in tissue cultures of Sf1Ep cells / A.H. Fieldsteel, D.L. Cox, R.A. Moeckli // Infection and Immunity. - 1982. - Vol. 35, No. 2. - P. 449-455.
25. Norris S.J. Factors affecting the multiplication and subculture of *Treponema pallidum subsp. pallidum* in a tissue culture system / S.J. Norris, D.G. Edmondson // Infection and Immunity. - 1986. - Vol. 53, No. 3. - P. 534-539.
26. Edmondson D.G. Long-term *in vitro* culture of the syphilis spirochete *Treponema pallidum subsp. pallidum* / D.G. Edmondson, B. Hu, S.J. Norris // mBio. - 2018. - Vol. 9, No. 3. - Article e01153-18. - DOI: 10.1128/mBio.01153-18.
27. Parameters affecting continuous *in vitro* culture of *Treponema pallidum* strains / D.G. Edmondson, B.D. DeLay, L.E. Kowis, S.J. Norris // mBio. - 2021. - Vol. 12, No. 1. - Article e03536-20. - DOI: 10.1128/mBio.03536-20.
28. Edmondson D.G. *In vitro* cultivation of the syphilis spirochete *Treponema pallidum* / D.G. Edmondson, S.J. Norris // Current Protocols. - 2021. - Vol. 1. - Article e44. - DOI: 10.1002/cpz1.44.
29. *In vitro* analysis of seven syphilis-causing *Treponema pallidum* strains revealed inherent growth rate differences / J. Bosak, M. Hrala, P. Andrla [et al.] // Scientific Reports. - 2025. - Vol. 15. - Article 18827. - DOI: 10.1038/s41598-025-18827-9.
30. *In vitro* isolation of contemporary *Treponema pallidum* strains directly from clinical samples of syphilis patients / J. Bosak, M. Hrala, F. Skokan [et al.] // Clinical Microbiology and Infection. - 2025. - Vol. 31, No. 6. - P. 1061-1065. - DOI: 10.1016/j.cmi.2025.03.017.
31. Directly sequenced genomes of contemporary strains of syphilis reveal recombination-driven diversity in genes encoding predicted surface-exposed antigens / L. Grillova, T. Bawa, L. Mikalova [et al.] // Frontiers in Microbiology. - 2019. - Vol. 10. - Article 1691. - DOI: 10.3389/fmicb.2019.01691.
32. Global phylogeny of *Treponema pallidum* lineages reveals recent expansion and spread of contemporary syphilis / M.A. Beale, M. Marks, M.J. Cole [et al.] // Nature Microbiology. - 2021. - Vol. 6, No. 12. - P. 1549-1560. - DOI: 10.1038/s41564-021-01000-z.
33. Enhanced molecular typing of *Treponema pallidum*: geographical distribution of strain types and association with neurosyphilis / C.M. Marra, S.K. Sahi, L.C. Tantaló [et al.] // Journal of Infectious Diseases. - 2010. - Vol. 202, No. 9. - P. 1380-1388.
34. Origin of modern syphilis and emergence of a pandemic *Treponema pallidum* cluster / N. Arora, V.J. Schuenemann, G. Jager [et al.] // Nature Microbiology. - 2016. - Vol. 2. - Article 16245. - DOI: 10.1038/nmicrobiol.2016.245.
35. Genomic epidemiology of syphilis reveals independent emergence of macrolide resistance across multiple circulating lineages / M.A. Beale, M. Marks, S.K. Sahi [et al.] // Nature Communications. - 2019. - Vol. 10. - Article 3255. - DOI: 10.1038/s41467-019-11216-7.
36. Characterisation of *Treponema pallidum* lineages within the contemporary syphilis outbreak in Australia: a genomic epidemiological analysis / M.L. Taouk, G. Taiaroa, S. Pasricha [et al.] // The Lancet Microbe. - 2022. - Vol. 3, No. 6. - P. e417-e426. - DOI: 10.1016/S2666-5247(22)00035-0.
37. Clinical and genomic diversity of *Treponema pallidum* subspecies pallidum to inform vaccine research: an international, molecular epidemiology study / A.C. Sena, M.M. Matoga, L. Yang [et al.] // The Lancet Microbe. - 2024. - Vol. 5, No. 9. - Article 100871. - DOI: 10.1016/S2666-5247(24)00087-9.

38. Insights into *Treponema pallidum* genomics from modern and ancient genomes using a novel mapping strategy / M. Pla-Diaz, G. Akgul, M. Molak [et al.] // BMC Biology. - 2025. - Vol. 23, No. 1. - Article 7. - DOI: 10.1186/s12915-024-02108-4.
39. Integrated genomic approaches improve *Treponema pallidum* phylogenetics and lineage classification / G.S. Long, A.E. Singh [et al.] // Canadian Journal of Microbiology. - 2025. - Vol. 71. - P. 1-11. - DOI: 10.1139/cjm-2025-0021.
40. First human cell-based cultivation system for the syphilis spirochete *Treponema pallidum* / J. Bosak, M. Hrala, P. Pospisilova [et al.] // BMC Microbiology. - 2026. - Vol. 26. - Article 288. - DOI: 10.1186/s12866-026-04856-5.
41. Applications and research trends in organoid-based infectious disease models / J.O. Ryu, Y.J. Seong, E. Lee [et al.] // Scientific Reports. - 2025. - Vol. 15. - Article 25185. - DOI: 10.1038/s41598-025-07816-7.
42. Mapping the scientific output of organoids for animal and human modeling infectious diseases: a bibliometric assessment / J. Yan, A. Wiedemann [et al.] // Veterinary Research. - 2024. - Vol. 55. - Article 81. - DOI: 10.1186/s13567-024-01333-7.
43. Park G. Replacing animal testing with stem cell-organoids: advantages and limitations / G. Park, Y.A. Rim, Y. Sohn, Y. Nam, J.H. Ju // Stem Cell Reviews and Reports. - 2024. - Vol. 20, No. 6. - P. 1375-1386. - DOI: 10.1007/s12015-024-10723-5.
44. 3D engineered tissue models for studying human-specific infectious viral diseases / K.S. Hwang, J. Choi, J. Kim [et al.] // Bioactive Materials. - 2023. - Vol. 21. - P. 576-594. - DOI: 10.1016/j.bioactmat.2022.09.014.
45. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual / World Health Organization. - 4th ed. - Geneva : WHO, 2020. - ISBN 978-92-4-001131-1.
46. World Health Organization. Laboratory Biosafety Manual: Risk Assessment / World Health Organization. - Geneva : WHO, 2020.
47. Public Health Agency of Canada. Pathogen Safety Data Sheet: *Treponema pallidum* / Public Health Agency of Canada. - Updated September 27, 2024.
48. Stamm L.V. Syphilis: antibiotic treatment and resistance / L.V. Stamm // Epidemiology and Infection. - 2015. - Vol. 143, No. 8. - P. 1567-1574. - DOI: 10.1017/S0950268814002830.
49. Near-universal resistance to macrolides of *Treponema pallidum* in North America / N.A.P. Lieberman, T.B. Reid, C.A. Cannon [et al.] // New England Journal of Medicine. - 2024. - Vol. 390, No. 22. - P. 2127-2128. - DOI: 10.1056/NEJMc2314441.
50. *Treponema pallidum* macrolide resistance and molecular strain types in South Africa / J.M.E. Venter, E.E. Muller, M.P. Mahlangu [et al.] // Journal of Clinical Microbiology. - 2021. - Vol. 59. - Article e02385-20.
51. Muller E.E. Macrolide resistance testing and molecular subtyping of *Treponema pallidum* strains from southern Africa / E.E. Muller, G. Paz-Bailey, D.A. Lewis // Sexually Transmitted Infections. - 2012. - Vol. 88, No. 6. - P. 470-474. - DOI: 10.1136/sextrans-2011-050322.
51. Muller E.E., Paz-Bailey G., Lewis D.A. Macrolide resistance testing and molecular subtyping of *Treponema pallidum* strains from southern Africa. Sex Transm Infect. 2012;88(6):470–474. doi:10.1136/sextrans-2011-050322.
52. Seidakhmetova B.A., Zhapparova G.A., Marakhovskaya L.G., Terebai A.A., Nakhanov A.K. Masshtabirovanie kul'tury kletok Vero dlya proizvodstva biopreparatov [Scaling up Vero cell culture for the production of biological products]. Biobezopasnost' i Biotekhnologiya (Biosafety and Biotechnology). 2022;(9):44–52. doi:10.58318/2957-5702-2022-9-44-52.
53. Burabaev B.K., Dzhekebekov K.K., Ulankyzy A., et al. Upravlenie biologicheskimi riskami v Nauchno-issledovatel'skom institute problem biologicheskoi bezopasnosti [Biological risk management at the Research Institute for Biological Safety Problems]. Biobezopasnost' i Biotekhnologiya (Biosafety and Biotechnology). 2020;(1):10–11.

54. Kilibaev S.S., Taboldiev D.R., Dzhaldybaeva A.E., Zhuniskulov R.B. Sistema biologicheskoi bezopasnosti i biozashchity v NII [Biosafety and biosecurity system in the research institute]. Biobezopasnost' i Biotekhnologiya (Biosafety and Biotechnology). 2023;(14).

55. Canadian Public Health Laboratory Network National Syphilis In-Laboratory Serological Testing Recommendations / M. Morshed [et al.] // Journal of the Association of Medical Microbiology and Infectious Disease Canada. - 2025. - DOI: 10.3138/jammi-2024-0027.

56. Giacani L. The endemic treponematoses / L. Giacani, S.A. Lukehart // Clinical Microbiology Reviews. - 2014. - Vol. 27, No. 1. - P. 89-115. - DOI: 10.1128/CMR.00070-13.

57. Smajs D. Genetics of human and animal uncultivable treponemal pathogens / D. Smajs, M. Strouhal, S. Knauf // Infection, Genetics and Evolution. - 2018. - Vol. 61. - P. 92-107.

58. A defined syphilis vaccine candidate inhibits dissemination of *Treponema pallidum* subspecies pallidum / K.V. Lithgow, R. Hof, C. Wetherell [et al.] // Nature Communications. - 2017. - Vol. 8. - Article 14273.

TREPONEMA PALLIDUM-ДЫ IN VITRO КУЛЬТИВАЦИЯЛАУ: ҚОЯН МОДЕЛІНЕН АДАМ ЖАСУШАЛЫҚ ЖҮЙЕЛЕРІНЕ ДЕЙІН

**А.К. Наханов  , С.К. Коканов  *, Б.А. Еспембетов  , Н.С. Сырым  ,
А.А. Терейбай  , Л.Г. Мараховская**

«Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС,
«QazBioPharm» ұлттық холдингі, Гвардейский, Қазақстан Республикасы

[*s.kokanov@biosafety.kz](mailto:s.kokanov@biosafety.kz)

Аннотация. *Treponema pallidum subsp. pallidum* - мерездің қоздырғышы болып табылатын, адам денсаулығы үшін әлеуметтік маңызы жоғары инфекциялық агент. Тиімді бактерияға қарсы емдеу әдістерінің болуына қарамастан, бұл патогеннің биологиясын зерттеу ұзақ уақыт бойы оны жасанды жағдайда тұрақты культивациялау мүмкіндігінің шектеулі болуына байланысты күрделі мәселе болып келді. Шолудың мақсаты - *T. pallidum*-ды *in vitro* культивациялау жүйелерінің дамуы туралы қазіргі деректерді жүйелеу: қоян моделінен және ерте тіндік культуралардан бастап Sf1Ep платформасына, заманауи клиникалық штаммдарды тікелей бөліп алуға және адам жасушаларына негізделген жүйелердің пайда болуына дейін. Шолуда *T. pallidum*-ды культивациялауды қиындататын биологиялық факторлар, соның ішінде геномның редукциясы, метаболизмдік мүмкіндіктердің шектеулілігі, иесі жасушасына тәуелділік және оттегіге сезімталдық қарастырылды. *T. pallidum*-ды *in vitro* культивациялау қоздырғыштың физиологиясын, иесі жасушаларымен өзара әрекеттесуін, антибиотиктерге сезімталдығын зерттеуге, жануарлар модельдеріне тәуелділікті азайтуға және биоқауіпсіз эксперименттік тәсілдерді дамытуға арналған перспективалы ғылыми-технологиялық платформа ретінде қарастырылуы тиіс.

Түйін сөздер: *Treponema pallidum*; мерез; *in vitro* культивациялау; Sf1Ep; TrCM-2; адам фибробласттары; жасуша культуралары; қоян моделі; биоқауіпсіздік; трепонемология.

IN VITRO CULTIVATION OF *TREPONEMA PALLIDUM*: FROM THE RABBIT MODEL TO HUMAN CELL-BASED SYSTEMS

A.K. Nakhanov , S.K. Kokanov *, B.A. Yespembetov , N.S. Syrym , A.A. Terebai ,
L.G. Marakhovskaya

LLP «Research Institute for Biological Safety Problems», National holding «QazBioPharm»,
Guardeyskiy, Republic of Kazakhstan
[*s.kokanov@biosafety.kz](mailto:s.kokanov@biosafety.kz)

Abstract. *Treponema pallidum subsp. pallidum* is the causative agent of syphilis, a socially significant human infection whose incidence continues to increase in many regions of the world. Despite the availability of effective antibacterial therapy, investigation of the biology of this pathogen has long been limited by the inability to maintain its stable growth under artificial conditions. Historically, laboratory strains of *T. pallidum* have been maintained mainly by intratesticular passage in laboratory rabbits, which is associated with bioethical, technological and regulatory limitations. The aim of this review is to systematize current data on the development of *T. pallidum in vitro* cultivation systems, from the rabbit model and early tissue cultures to the Sf1Ep platform, direct isolation of modern clinical strains and the emergence of human cell-based systems. The review discusses the biological factors that make *T. pallidum* difficult to cultivate, including genome reduction, limited metabolic capacity, dependence on host cells and oxygen sensitivity. Long-term co-cultivation with rabbit epithelial Sf1Ep cells in TpCM-2 medium is considered a key technological stage in experimental treponemology. It is concluded that *in vitro* cultivation of *T. pallidum* should be regarded as a promising scientific and technological platform for studying pathogen physiology, host-cell interactions, antimicrobial susceptibility, reduction of dependence on animal models and development of biosafe experimental approaches.

Keywords: *Treponema pallidum*; syphilis; *in vitro* cultivation; Sf1Ep; TpCM-2; human fibroblasts; cell cultures; rabbit model; biosafety; treponemology.

СЕРОПРЕВАЛЕНТНОСТЬ ГРИППА ЛОШАДЕЙ В КАЗАХСТАНЕ ЗА 2024-2025 ГОДА

Е.Д. Бурашев , М.Б. Орынбаев , З.Д. Омарова , Р.А. Рыстаева ,
А.Б. Тулендибаев , Т.У. Аргимбаева , Н.А. Әубәкір , Т.Т. Ермекбай ,
Х.Б. Абеуов *

ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности»,
Национальный холдинг «QazBioPharm», Гвардейский, Республика Казахстан

* kh.abeuov@biosafety.kz

Аннотация. Целью научно-исследовательских работ явилось проведение мониторинговых исследований за гриппом лошадей в РК за 2024-2025 года. Для изучения распространенности антител к вирусу гриппа лошадей на территории Казахстана в 2024 году были исследованы пробы назальных смывов, собранных в 9 областях, и сывороток крови лошадей, собранные в хозяйствах 16 областей РК.

Для установления серопревалентности антител к вирусу гриппа лошадей были проведены ИФА-исследования сывороток крови лошадей из разных регионов Казахстана. Также для определения циркуляции вируса гриппа лошадей были исследованы назальные смывы от лошадей методом ПЦР.

ИФА и ПЦР-исследования проведены согласно с утвержденными инструкциями использованных тест-наборов. При составлении картографирования использовалась ГИС-программа ArcGIS, с открытым исходным кодом.

Результаты серологических исследований, проведенных в 2024 году, свидетельствуют о наличии антител против вируса гриппа лошадей на территории Казахстана. Следует отметить, что при многочисленных положительных результатах серологических тестов, проведенные ПЦР-исследования не выявили ДНК вируса гриппа лошадей не в одном изучаемом образце.

На основании полученных данных, проведенных лабораторных диагностических исследований нами было проведено зонирование территории РК по эпизоотической ситуации гриппа лошадей за 2024-2025 годы. В результате определены благополучные по гриппу лошадей территории страны (0 %) и по показателям рисков: регион с низким риском распространения гриппа лошадей (1-29 %); регион со средним риском распространения гриппа лошадей (30-59 %) и регион с высоким риском распространения гриппа лошадей (60-100 %).

Ключевые слова: *грипп лошадей, серопревалентность, эпизоотическая ситуация, зонирование.*

Введение.

Племенное, продуктивное, а также спортивное коневодство для Республики Казахстан является традиционной и престижной отраслью животноводства, гордостью, мерилом благосостояния и богатства казахского народа.

Казахстан вошел в мировую пятерку стран с наибольшим поголовьем лошадей. Об этом говорится в обновленном рейтинге World Population Review этого года. Лидер списка – Мексика, здесь насчитывают почти шесть с половиной миллионов голов, после идет США там 6,3 млн, третье место занимает Бразилия 5,8 млн лошадей. Среди азиатских стран первую строчку уверенно держат Казахстан и Монголия с одинаковой численностью 4,8 миллиона, Далее Китай, где насчитывается 3,7 миллиона лошадей. Как отмечают авторы исследования, данные по Монголии, Казахстану и Китаю остаются стабильными с 2023 года.

В нашем Министерстве сельского хозяйства эту цифру подтвердили и уточнили расклад по регионам страны. Лидер у нас Туркестанская область, там насчитывается поголовье в 508 тысяч 810 лошадей. На втором месте область Абай – 456 тысяч 492, тройку лидеров завершает Карагандинская область – 449 тысяч 48. Ну и меньше всего лошадей в Атырауском регионе, их там 149 тысяч 263 [1].

Развитие отрасли коневодства выдвигает на первый план и целый ряд проблем, включая ветеринарные – меры по профилактике, лечению и искоренению болезней различных этиологий, в том числе и инфекционной патологии, а также сдерживающих ее развитие факторов. Так, по данным отдельных исследователей, ежегодно среди лошадей регистрируются в республике бруцеллез, лептоспироз, сальмонеллез, а в отдельные годы листериоз, инфекционная анемия лошадей, грипп лошадей, ринопневмония, сап, мыт и эпизоотический лимфангит [2].

Грипп лошадей (ГЛ) вызывают два подтипа вирусов гриппа А (род *Alphainfluenzavirus* семейства *Orthomyxoviridae*): H7N7 (ранее подтип 1) и H3N8 (ранее подтип 2); однако появлявшиеся в последние 30 лет сообщения об инфекциях, вызванных подтипом вируса H7N7 крайне неменогочисленны [3].

У полностью чувствительных представителей семейства лошадиных клинические признаки заболевания включают пирексию, выделения из носа и грубый сухой кашель; описаны редкие случаи пневмонии у молодых жеребят и ослов и энцефалит у лошадей [4]. Для гриппа характерно быстрое распространение в чувствительной популяции. Вирус распространяется через органы дыхания и опосредованно: через зараженный персонал, транспортные средства и предметы, находившиеся в контакте с патогенными микроорганизмами. У чувствительных лошадей инкубационный период может составлять менее 24 ч. У частично иммунных вакцинированных животных инкубационный период может быть более длительным, у них может отсутствовать один или несколько клинических признаков, и распространение заболевания может быть ограниченным. В связи с этими клиническая диагностика инфекции вирусом гриппа лошадей (ВГЛ) является более сложной задачей, поскольку другие вирусные заболевания, например, респираторная инфекция, ассоциированная с герпесвирусом, может по своим клиническим проявлениям быть сходной с легкой формой гриппа. Инфицированные ВГЛ становятся чувствительными к вторичной бактериальной инфекции, и у них могут возникнуть слизисто-гнойные выделения из носа, в результате чего будет диагностировано бактериальное заболевание, а основная причина останется незамеченной.

Полагают, что ВГЛ произошли от вирусов птичьего гриппа, и недавно были зафиксированы случаи передачи птичьих вирусов лошадям и ослам. Анализ геномной последовательности вируса H3N8, выделенного в 1989 г. у лошадей во время непродолжительной эпидемии гриппа в Северо-Восточном Китае, показал, что этот вирус имеет больше сходство с вирусами птичьего гриппа, чем с ВГЛ [5]. В Египте подтип птичьего гриппа H5N1 был ассоциирован с респираторным заболеванием ослов [6].

В эндемичных странах с помощью вакцинации можно минимизировать экономические потери, вызванные ГЛ, и во многих конно-спортивных организациях существует обязательная вакцинация. Вакцинация не вызывает стерильный иммунитет; вакцинированные лошади могут распространять вирус и безмолвно способствовать распространению заболевания. Для того чтобы устранить такие ситуации, необходимо разрабатывать надлежащие стратегии управления рисками.

В настоящее время территория Республики Казахстан в основном благополучна по ГЛ, однако спорадические случаи данного заболевания возникают в различных регионах страны в результате заноса из неблагополучных стран. Последняя зарегистрированная крупная вспышка ГЛ прошла в 2012 году, когда эпизоотией была охвачена вся территория Казахстана.

Для поддержания статуса благополучия необходимо проводить постоянный мониторинг ГЛ, а для повышения эффективности профилактических мероприятий с использованием вакцинации необходимо проводить постоянное генетическое типирование

ВГЛ. В рамках данной программы нами был проведен мониторинг на наличие антител к ВГЛ в регионах страны. Целью научно-исследовательских работ явилось проведение мониторинговых исследований за ГЛ в РК за 2024-2025 года.

Материалы и методы исследований. Для изучения распространенности антител к ВГЛ на территории Казахстана в 2024 году были исследованы 816 проб назальных смывов, собранных в 9 областях, и 1628 сывороток крови лошадей, собранные в хозяйствах 16 областей РК. Всего за 2025 год мониторинговой группой НИИПББ собрано всего 3478 биообразцов, из которых 713 цельной крови, 1426 сыворотки крови и 1339 носоглоточных смывов.

При полевых выездах сотрудники также проводили анамнез по эпизоотической ситуации и ветеринарным мероприятиям. Согласно отчетам районных ветеринарных инспекций КВКИН МСХ РК практически все регионы страны по лошадям были вакцинированы от сибирской язвы (вакцина против сибирской язвы из штамма 55-ВНИИВВиМ живая, жидкая), а также частично против бешенства и лимфангоита.

Ранее также сотрудниками Института проведены мониторинговые исследования по изучению эпизоотической ситуации по инфекционным болезням животных, результаты которых были опубликованы в научных изданиях [7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14].

Перед взятием цельной крови, сыворотки крови и смывов лошадей хорошо фиксируют на специальном станке. У лошадей кровь берут из яремной вены в верхней трети шеи. Иглы перед взятием крови от каждого животного обязательно стерилизуют кипячением. Шерсть на месте взятия крови тщательно выстригают, и кожу дезинфицируют спиртом или 3 %-ным раствором карболовой кислоты, смывы берут специальным тампоном из носовой полости животного.

Метод ИФА основан на конкурентном взаимодействии конъюгированных с пероксидазой моноклональных антител к NP ВГА (конъюгат) и сывороточных вирусспецифических антител с рекомбинантным NP ВГА, иммобилизованным в лунках иммунологического планшета. ИФА проведен согласно инструкции используемой ИФА тест-системы для лошадей фирмы IDvet (поставщик BIOVET.UA.).

Для определения циркуляции вируса гриппа лошадей были исследованы назальные смывы от лошадей методом ПЦР, методика которой утверждена СОПом. Методика используется для обнаружения РНК вируса гриппа лошадей серотипа H3N8, с помощью полимеразной цепной реакции в реальном времени с обратной транскриптазой (ОТ-ПЦР). ПЦР проводится с использованием прибора Roche LightCycler®, версия 2.0. и специфические для вируса гриппа лошадей серотипа H3N8 праймера, а также набор для проведения ОТ-ПЦР (Qiagen).

Постановка реакции гемагглютинации (РГА). РГА проводили в соответствии с лабораторной методикой. Методика включает подготовку антигена и эритроцитов, титрование антигена, подготовку исследуемой сыворотки (при необходимости) и проведение реакции с последующим считыванием результатов. Суть процедуры заключается в смешивании исследуемого образца (сыворотки или вирусной суспензии) с антигеном, способным вызывать гемагглютинацию, и эритроцитами. При этом наблюдают за склеиванием эритроцитов (агглютинацией) или её отсутствием, что позволяет определить наличие или отсутствие специфических антител.

Для картографирования использовалась ГИС-программа ArcGIS, с открытым исходным кодом. Адреса мест отбора проб были преобразованы в координаты широты и долготы с помощью инструмента «Геокодирование адресов» в ArcGIS. В случаях, когда были доступны только приблизительные местоположения, использовались координаты центроида административных районов [15].

Результаты исследований. Были проведены серологические исследования по выявлению антител к гриппу среди лошадей методом постановки ИФА. В 2024 году всего из проб от 1628 животных, исследованных на наличие антител к вирусу гриппа лошадей, было у 541 животного выявлены антитела к вирусу гриппа лошадей, что составило 33,23 %. Доля

серопозитивных животных составляла в Туркестанской (66,3 %), Атырауской (50 %), Жамбылской (49,6 %), Карагандинской (45,4 %) и Улытауской (45,4 %) и наименьшее количество в Алматинской (8,46 %) и ЗКО (8,2 %) областях (рисунок 1).

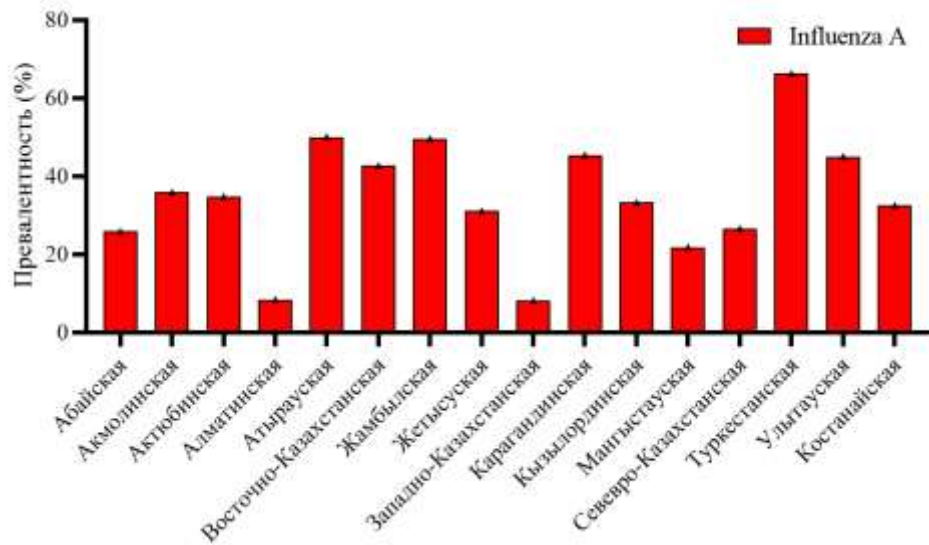


Рисунок 1 – Серопревалентность гриппа среди лошадей в разрезе областей в 2024 году

Проведенными в 2024 году лабораторными исследованиями серопозитивные животные были выявлены в 130 из 155 исследованных населенных пунктов, в 67 из 75 исследованных районов 16 областей РК. Серораспространенность ГЛ представлена на рисунке 23. Анализ данных показал, что более 80 % серопозитивных животных выявлено в 63 населенных пунктах, от 50 до 80 % в 19 населенных пунктах, от 30 до 50 % в 18 населенных пунктах, до 30 % серопозитивных животных выявлено в остальных 30 населенных пунктах.

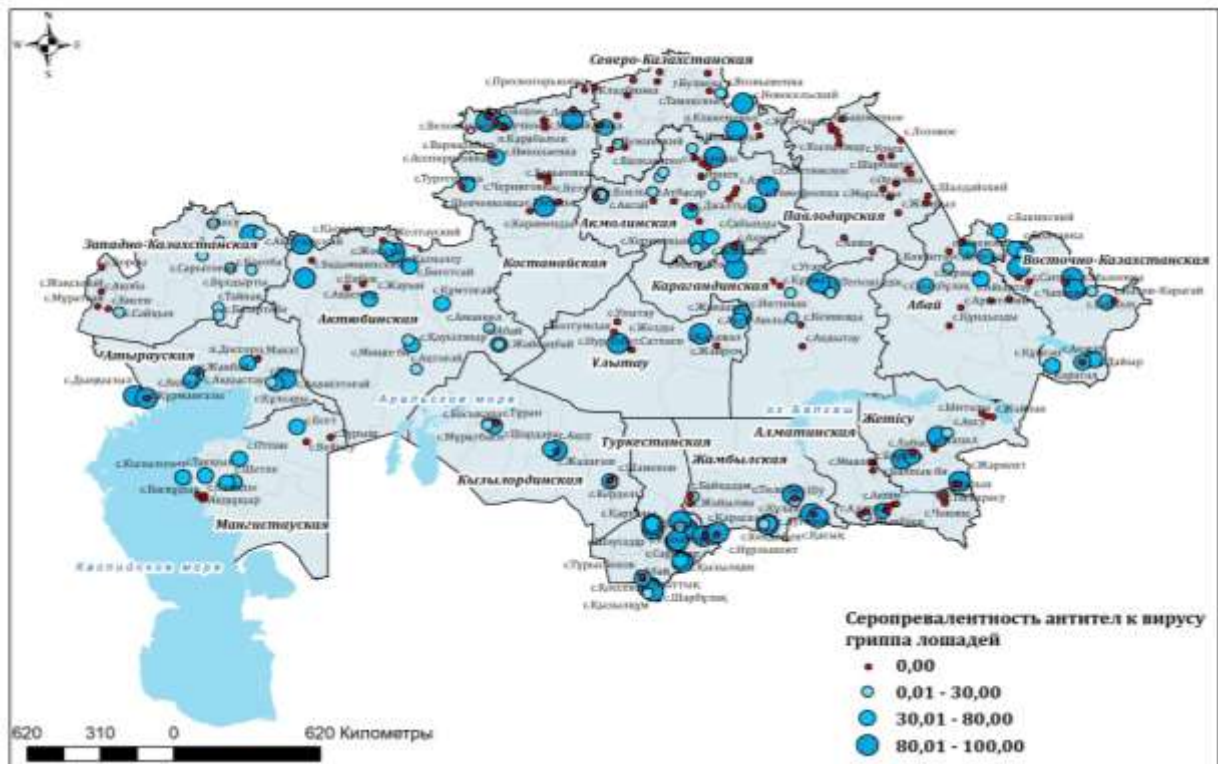


Рисунок 2 – Серопревалентность антител к вирусу гриппа лошадей в Казахстане в 2024 году

В результате проведенных в 2024 году исследований из 816 проанализированных образцов в 8 пробах была выявлена РНК вируса гриппа А (таблица 1).

Положительные образцы использовали для заражения 9-11 суточных развивающихся куриных эмбрионов путем инокуляции их в аллантайную полость по общепринятой методике. После проведенных 5-ти последовательных пассажей на РКЭ были выделены 3 полевые изоляты ВГЛ. Положительные результаты также дополнительно были подтверждены в РГА.

С использованием специфических праймеров выделенные вирусы идентифицированы как субтип вируса гриппа типа А.

Таблица 1 – Распространенность гриппа лошадей в Казахстане за 2024 год

Наименование областей	Количество исследованных животных	Количество животных с положительными результатами	Превалентность	Количество выделенных вирусных изолятов
Алматинская	120	2	1,67	1
Атырауская	60	0	0	
Жамбылская	128	4	3,12	1
Жетысуская	130	2	1,54	1
Кызылординская	55	0	0	0
Мангистауская	60	0	0	0
Туркестанская	149	0	0	0
Улытауская	25	0	0	0
Костанайская	89	0	0	0
Итого	816	8	0,98	3

Таким образом, вирус гриппа лошадей в 2024 году был обнаружен в Алматинской (1,67 %), Жетысуской (1,54 %) и Жамбылской (3,12 %) областях.

В 2025 году также экспедиционные выезды были осуществлены в Кызылординскую, Туркестанскую, Жамбылскую, Карагандинскую, Жетысускую и Алматинскую области. В процессе экспедиционных выездов проведен эпизоотологический мониторинг и осуществлен отбор биологических образцов от лошадей из различных сельских округов и хозяйств вышеуказанных областей. Ниже приведены данные ИФА-исследований по установлению серопревалентности ГЛ по стране за 2025 год.

В 2025 году по области Абай всего исследована 41 проба, все исследованные методом ИФА пробы показали отрицательные результаты на антитела ГЛ. Также отрицательные результаты в ИФА на антитела к вирусу ГЛ получены с пробами лошадей из хозяйств Актюбинской и Улытауской областей.

По результатам ИФА-исследований в 2025 году все 90 проб сывороток, доставленных из различных хозяйств СКО показали отрицательные результаты на противогриппозные антитела лошадей, также ПЦР-исследованиями назальных смывов не удалось выявить патогенный агент ГЛ. Таким образом, хозяйства СКО обозначены как благополучные по болезни гриппа лошадей.

В 2025 году от животных из Акмолинской области всего исследовано 119 проб, все они оказались положительными в ИФА на ГЛ.

В результате проведенных в 2025 году серологических исследований 120 проб, доставленных из Алматинской области, 82 пробы показали положительные результаты по присутствию антител к вирусу ГЛ в ИФА, средний показатель серопревалентности ГЛ по области составил 68,3 %.

В результате исследования в 2025 году, образцов сывороток лошадей Атырауской области, из обследованных всего 48 проб, 6 проб показали положительные результаты на антитела ГЛ, что указывает о среднем показателе серопревалентности к ГЛ по данной области – 12,5 %.

При проведении серологических исследований 46 образцов из ВКО установлено, что 5 проб показали положительные результаты, средний показатель серопревалентности по области – 10,9 %. Средний показатель серопревалентности ГЛ за 2025 год у животных из ВКО составляет 10,9 %.

По итогам проведенных лабораторных исследований, установлено, что средний показатель серопревалентности к ГЛ по Жамбылской области за 2025 год составил 8,9 %.

В результате проведенных ИФА-исследований проб, доставленных в 2025 году из области Жетысу, получены результаты, свидетельствующие о том, что из 130 проб положительные результаты получены в 94 (серопревалентность по области составила – 72,3 %).

В целом по ЗКО из всех доставленных и обследованных в 2025 году в ИФА 58 проб 11 оказались сероположительными, что указывает на серопревалентности, равной 19,0 % по ГЛ в ЗКО.

В 2025 году по Карагандинской области было происследовано 86 проб, из них показали положительные результаты на антитела ГЛ в ИФА получены в 2-х случаях, что указывает на средний показатель серопревалентности ГЛ по Карагандинской области в 2,3 %.

Средний показатель серопревалентности к ГЛ по Кызылординской области составляет 8,7 % (из всех 46 проб, происследованных в 2025 году в ИФА положительные результаты были получены по 4 пробам).

Анализ данных за 2025 год показывает, что у 46 происследованных в ИФА животных из Мангистауской области положительные результаты на антитела к ВГЛ установлены у 5, что свидетельствует о среднем показателе серопревалентности равном 10,9 %.

Средний показатель серопревалентности у лошадей из Павлодарской области за 2025 год составил 7,9% (из 38 проб положительно реагировало в ИФА на антитела к ВГЛ – 3 пробы).

Всего по Туркестанской области ИФА-методом происследовано 99 образцов положительные результаты получены в 31 пробе, средний показатель серопревалентности к ГЛ в 2025 году составила 31,3 %.

Все доставленные пробы биологического материала были исследованы в ИФА на наличие противовирусных антител ГЛ. Результаты по определению серопревалентности на антитела к ВГЛ по областям приведены на рисунке 3.

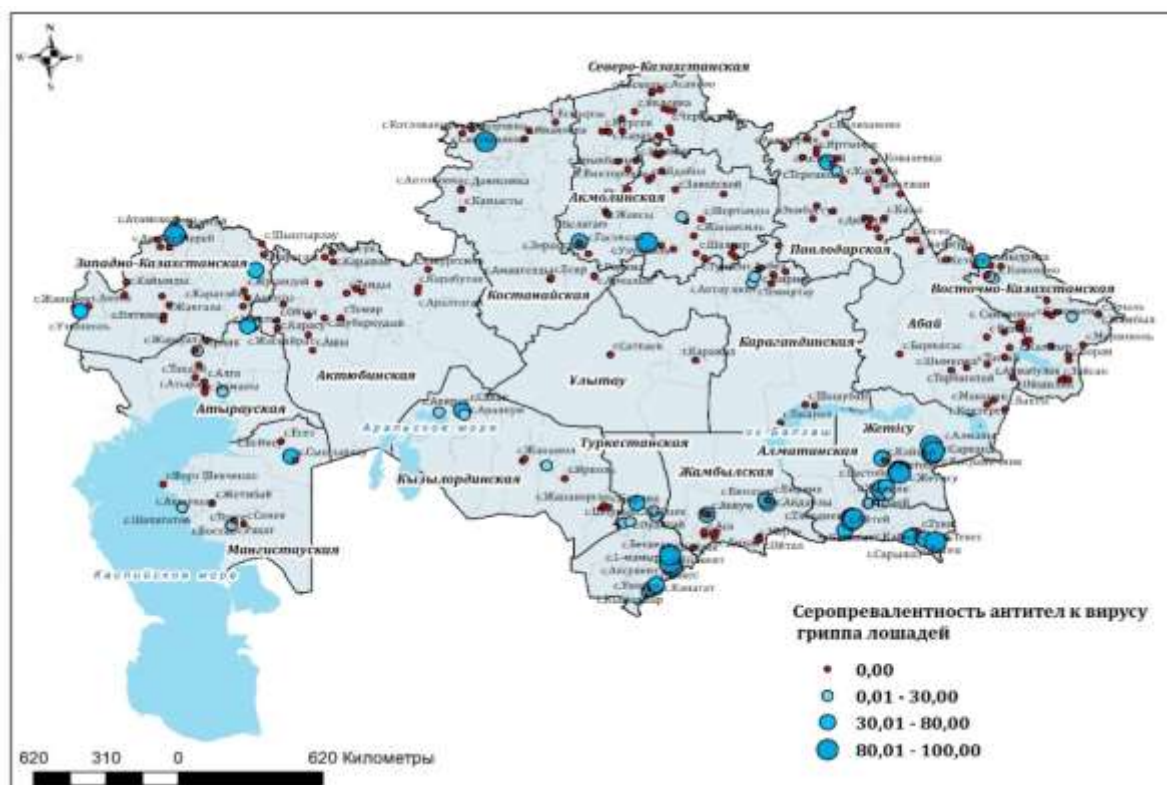


Рисунок 3 – Результат ИФА по определению серопревалентности к ГЛ в Казахстане за 2025 год.

На основании полученных данных, проведенных лабораторных диагностических исследований нами было проведено зонирование территории РК по серопревалентности к ГЛ за 2025 год. В результате определены благополучные по антителам ГЛ территории страны (0 %) и регион с низким обнаружением серопревалентности к ГЛ (1-29 %); регион со средним серопревалентности к ГЛ (30-59 %) и регион с высоким серопревалентности к ГЛ (60-100 %).

Зонирование территории РК по серопревалентности к ГЛ за 2025 год представлено на рисунке 4.

государств, с целью предотвращения заноса и распространения данной инфекции на территории Республики.

Финансирование: Работа выполнена в рамках научно-технической программы «Совершенствование мер обеспечения биологической безопасности в Казахстане: противодействие опасным и особо опасным инфекциям» на 2023-2025 годы, при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан.

Конфликт интересов: Авторы заявляют, что нет конфликта интересов.

Литература

1. <https://tv7.kz/ru/projects/news-ru/23856-kazakhstan-v-pyatjorke-stran-s-krupnejshim-pogolovom-loshadej/>
2. Статические данные на 1 июля 2023 года МСХ РК. Астана, 2023 г.
3. WEBSTER R.G. (1993). Are equine 1 influenza viruses still present in horses? *Equine Vet. J.*, 25, 537–538.
4. Daly J.M., Whitwell K.E., Miller J., Dowd G., Cardwell J.M. & Smith K.C. (2006). Investigation of equine influenza cases exhibiting neurological disease: coincidence or association? *J. Comp. Pathol.*, 134 (2–3), 231–235. [PMID: 16527298]
5. Guo Y., Wang M., Kawaoka Y., Gorman O., Ito T., Saito T. & Webster R.G. (1992). Characterisation of a new avian-like influenza A virus from horses in China. *Virology*, 188, 245–255.
6. Abdel-Moneim A.S., Abdel-Ghany A.E. & Shany A.S.S. (2010). Isolation and characterisation of highly pathogenic avian influenza subtype H5N1 from donkeys. *J. Biomed. Sci.*, doi. 10.1186/1423-0127-17-25.
7. Nakhanov A.K., Abeuov K.B., Omarova Z.D., Ermekbai T.T., Burashev E.D., Orynbayev M.B. The First Case of Foot-and-Mouth Disease Caused by O/ME-SA/IND-2001 Virus in Kazakhstan. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* DOI. 10.21055/0370-1069-2023-2-140-145. IF: 1.6. Q3
8. А.К. Бопи, З.Д. Омарова, Рыстаева Р.А., А.Б. Тулендибаев, Т.У. Аргимбаева, Д.Ә. Әлібекова, Н.А. Әубәкір, Т.Т. Ермекбай, А.А. Серикбай, М.Б. Орынбаев, Х.Б. Абеуов. Мониторинг высокопатогенного гриппа птиц в Казахстане. *Научный журнал «Биобезопасность и Биотехнология»*, № 10 (2022), С.24-30
9. М.Ж. Каукарбаева, Ж.Б. Кондибаева, Ж.К. Кошембетов, Х.Б. Абеуов, М.К. Исакеев, М. Амирбеков, Н.Р. Сатторов. Эпизоотологический мониторинг и профилактика инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота в Республике Казахстан. *Доклады Таджикской академии сельскохозяйственных наук*, № 4 (74) 2022, С. 62-66
10. Е.Д. Бурашев, М.Б. Орынбаев, Х.Б. Абеуов, Р.А. Рыстаева, З.Д. Омарова, А.Б. Тулендибаев, Т.У. Аргимбаева, Д.А. Алибекова, Н.А. Аубакир Т.Т. Ермекбай. Серопревалентность ящура в Казахстане на 2021-2023 гг. *Научный журнал «Биобезопасность и Биотехнология»*, № 17 (2024), С.23-33
11. Е.Д. Бурашев, М.Б. Орынбаев, Х.Б. Абеуов, Р.А. Рыстаева, З.Д. Омарова, А.Б. Тулендибаев, Т.У. Аргимбаева, Д.А. Алибекова, Н.А. Аубакир Т.Т. Ермекбай. Иммунный статус домашней птицы к вирусу болезни Ньюкасла в Казахстане. *Научный журнал «Биобезопасность и Биотехнология»*, № 18 (2024), С.44-50
12. Abeuov, K., Burashev, Y., Rystaeva, R., Omarova, Z., Tulendibaev, A., Aubakir, N., Ermekbai, T., Argimbayeva, T., Alibekova, D., Abduraimov, Y., Rsalyev, A. Seropositivity of equine rhinopneumonitis in Kazakhstan. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*, (2025). (2), 39-49. <https://doi.org/10.11134/btp.2.2025.5>
13. Әубәкір Н.А., Бурашев Е.Д., Абеуов Х.Б., Рыстаева Р.А., Омарова З.Д., Аргимбаева Т.У., Тулендибаев А.Б., Әлібекова Д.Ә., Ермекбай Т.Т., Орынбаев М.Б. Изучение эпизоотической ситуации по гриппу лошадей в Республике Казахстан. *Материалы Международной научно-практической конференции на тему «Биологическая безопасность в*

условиях глобальных угроз: научно-технологические подходы противодействия» – Астана – Акционерное общество «Национальный холдинг «QazBioPharm», 2025. – 131 с. С. 16-17

14. Ермекбай Т.Т., Бурашев Е.Д., Абеуов Х.Б., Рыстаева Р.А., Омарова З.Д., Аргимбаева Т.У., Әубәкір Н.А., Әлібекова Д.Ә., Тулендибаев А.Б. Қазақстандағы жылқылардың ринопневмониясы: таралуы, серопреваленттілігі және эпизоотологиялық талдауы. «Жаһандық қатерлер жағдайындағы биологиялық қауіпсіздік: қарсы ісқимылдың ғылыми-технологиялық тәсілдері» тақырыбындағы халықаралық ғылыми-практикалық конференция материалдары – Астана – «QazBioPharm» ұлттық холдингі» АҚ, 2025. – 131 б. 21-22 б.

15. <https://www.esri.com/ru-ru/arcgis/open-vision/initiatives/open-source>.

References

1. <https://tv7.kz/ru/projects/news-ru/23856-kazakhstan-v-pyatjorke-stran-s-krupnejshim-pogolovem-loshadej/>
2. Static data as of July 1, 2023 of the Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan. Astana, 2023
3. WEBSTER R.G. (1993). Are equine 1 influenza viruses still present in horses? *Equine Vet. J.*, 25, 537–538.
4. Daly J.M., Whitwell K.E., Miller J., Dowd G., Cardwell J.M. & Smith K.C. (2006). Investigation of equine influenza cases exhibiting neurological disease: coincidence or association? *J. Comp. Pathol.*, 134 (2–3), 231–135. [PMID: 16527298]
5. Guo Y., Wang M., Kawaoka Y., Gorman O., Ito T., Saito T. & Webster R.G. (1992). Characterisation of a new avian-like influenza A virus from horses in China. *Virology*, 188, 245–255.
6. Abdel-Moneim A.S., Abdel-Ghany A.E. & Shany A.S.S. (2010). Isolation and characterisation of highly pathogenic avian influenza subtype H5N1 from donkeys. *J. Biomed. Sci.*, doi. 10.1186/1423-0127-17-25.
7. Nakhanov A.K., Abeuov K.B., Omarova Z.D., Ermekbai T.T., Burashev E.D., Orynbaev M.B. The First Case of Foot-and-Mouth Disease Caused by O/ME-SA/IND-2001 Virus in Kazakhstan. *Problemy Osobo Opasnykh Infektsii* DOI. 10.21055/0370-1069-2023-2-140-145. IF: 1.6. Q3
8. A.K. Bopi, Z.D. Omarova, Rystaeva R.A., A.B. Tulendibaev, T.U. Argimbayeva, D.A. Alibekova, N.A. Aubakir, T.T. Ermekbai, A.A. Serikbai, M.B. Orynbaev, H.B. Abeuov. Monitoring of highly pathogenic avian influenza in Kazakhstan. *Scientific Journal "Biosafety and Biotechnology"*, No. 10 (2022), pp.24-30
9. M.J. Kaukarbayeva, J.B. Kondibaeva, J.K. Koshemetov, H.B. Abeuov, M.K. Isakeev, M. Amirbekov, N.R. Sattorov. Epizootological monitoring and prevention of infectious rhinotracheitis in cattle in the Republic of Kazakhstan. *Reports of the Tajik Academy of Agricultural Sciences*, No. 4 (74) 2022, pp. 62-66
10. E.D. Burashev, M.B. Orynbaev, H.B. Abeuov, R.A. Rystaeva, Z.D. Omarova, A.B. Tulendibaev, T.U. Argimbayeva, D.A. Alibekova, N.A. Aubakir, T.T. Ermekbai. Foot-and-mouth disease seroprevalence in Kazakhstan for 2021-2023 *Scientific Journal "Biosafety and Biotechnology"*, No. 17 (2024), pp.23-33
11. E.D. Burashev, M.B. Orynbaev, H.B. Abeuov, R.A. Rystaeva, Z.D. Omarova, A.B. Tulendibaev, T.U. Argimbayeva, D.A. Alibekova, N.A. Aubakir, T.T. Ermekbai. The immune status of poultry to the Newcastle disease virus in Kazakhstan. *Scientific Journal "Biosafety and Biotechnology"*, No. 18 (2024), pp.44-50
12. Abeuov, K., Burashev, Y., Rystaeva, R., Omarova, Z., Tulendibaev, A., Aubakir, N., Ermekbai, T., Argimbayeva, T., Alibekova, D., Abduraimov, Y., Rsalyev, A. Seropositivity of equine rhinopneumonitis in Kazakhstan. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*, (2025). (2), 39-49. <https://doi.org/10.11134/btp.2.2025.5>

13. Aubakir N.A., Burashev E.D., Abeuov H.B., Rystaeva R.A., Omarova Z.D., Argimbayeva T.U., Tulendibaev A.B., Alibekova D.A., Ermekbay T.T., Orynbaev M.B. Study of the epizootic situation of equine influenza in the Republic of Kazakhstan. Materials of the International Scientific and Practical Conference on "Biological safety in the context of global threats: scientific and technological approaches to counteraction" – Astana – Joint-Stock Company "National Holding "QazBioPharm", 2025. – 131 p. pp. 16-1713. Ermekbay T. T., Burashev E. D.,

14. Abeuov H. B., Rystaeva R. A., Omarova Z. D., Argimbayeva T. U., Aubakir N. A., Alibekova D. A., Tulendibaev A. B. rhinopneumonia of horses in Kazakhstan: prevalence, seroprevalence and epizootological analysis. Materials of the international scientific and practical conference "biosafety in the context of global threats: scientific and technological approaches to countermeasures "-Astana – JSC" National Holding" QazBioPharm", 2025. – 131 pp. 21-22.

15. <https://www.esri.com/ru-ru/arcgis/open-vision/initiatives/open-source>.

2024-2025 ЖЫЛДАРДАҒЫ ҚАЗАҚСТАНДАҒЫ ЖЫЛҚЫ ТҰМАУЫНЫҢ ЭПИЗООТИЯЛЫҚ ЖАҒДАЙЫ

Е.Д. Бурашев , М.Б. Орынбаев , З.Д. Омарова , Р.А. Рыстаева ,
А.Б. Тулендибаев , Т.У. Аргимбаева , Н.А. Әубәкір , Т.Т. Ермекбай ,
Х.Б. Абеуов *

«Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС,
«QazBioPharm» ұлттық холдингі, Гвардейский, Қазақстан Республикасы

* kh.abeuov@biosafety.kz

Аннотация. Ғылыми-зерттеу жұмыстарының мақсаты 2024-2025 жылдары ҚР жылқы тұмауына мониторингтік зерттеулер жүргізу болды. Қазақстан аумағында жылқы тұмауының вирусына антиденелердің таралуын зерттеу үшін 2024 жылы 9 облыста жиналған мұрын шайындыларының сынамасы және ҚР 16 облысының шаруашылықтарында жиналған жылқылардың қан сарысуы зерттелді.

Жылқы тұмауы вирусының антиденелеріне серопреваленттілігін анықтау үшін Қазақстанның әртүрлі аймақтарынан келген жылқылардың қан сарысуларына ИФТ-зерттеулер жүргізілді. Сондай-ақ, жылқы тұмауы вирусының айналымын анықтау үшін ПТР әдісімен жылқылардың мұрын шайындылары зерттелді.

ИФТ және ПТР-зерттеулер қолданылған тест-жиынтықтардың бекітілген нұсқауларына сәйкес жүргізілді. Картаға түсіру кезінде ArcGIS ашық бастапқы ГАЖ бағдарламасы қолданылды.

2024 жылы жүргізілген серологиялық зерттеулердің нәтижелері Қазақстан аумағында жылқы тұмауы вирусына қарсы антиденелердің бар екендігін айғақтайды. Серологиялық сынақтардың көптеген оң нәтижелерімен жүргізілген ПТР зерттеулері зерттелген бір үлгіде жылқы тұмауы вирусының ДНҚ-сын анықталмағанын атап өткен жөн.

Алынған қорытындылар, зертханалық диагностикалық зерттеулер негізінде біз 2024-2025 жылдары жылқы тұмауының эпизоотиялық жағдайы бойынша ҚР аумағын аймақтарға бөлдік. Нәтижесінде еліміздің жылқы тұмауы бойынша қолайлы аумақтары (0 %) және қауіп көрсеткіштері бойынша: жылқы тұмауының таралу қаупі төмен аймақ (1-29 %); жылқы тұмауының таралу қаупі орташа аймақ (30-59 %) және жылқы тұмауының таралу қаупі жоғары аймақ (60-100%) анықталды.

Түйін сөздер: жылқы тұмауы, серопреваленттілік, эпизоотиялық жағдай, аймақтарға бөлу.

THE EPIZOOTIC SITUATION OF EQUINE INFLUENZA IN KAZAKHSTAN IN 2024-2025

Ye.D. Burashev , M.B. Orynbaev , Z.D. Omarova , R.A. Rystaeva ,
A.B. Tulendibayev , T.U. Argimbayeva , N.A. Aubakir , T.T. Yermekbay ,
Kh.B. Abeuov 

LLP «Research Institute for Biological Safety Problems», National holding «QazBioPharm»,
Guardeyskiy, Republic of Kazakhstan

* kh.abeuov@biosafety.kz

Abstract. The purpose of the research was to conduct monitoring studies for equine influenza in the Republic of Kazakhstan for 2024-2025. To study the prevalence of equine influenza virus in Kazakhstan in 2024, nasal flushing samples collected in 9 regions and equine blood serums collected in farms in 16 regions of the Republic of Kazakhstan were examined.

To establish the seroprevalence of equine influenza virus, ELISA studies of equine blood sera from different regions of Kazakhstan were conducted. Nasal flushes from horses were also examined by PCR to determine the circulation of equine influenza virus.

ELISA and PCP studies were conducted in accordance with the approved instructions of the test kits used. When mapping, the open source GIS program ArcGIS was used.

The results of serological studies conducted in 2024 indicate the presence of antibodies against equine influenza virus in Kazakhstan. It should be noted that despite the numerous positive results of serological tests, the PCR studies did not reveal the DNA of the equine influenza virus in more than one studied sample.

Based on the results obtained and laboratory diagnostic studies conducted, we conducted a zoning of the territory of the Republic of Kazakhstan according to the epizootic situation of equine influenza for 2024-2025. As a result, the country's territories were identified as safe for equine influenza (0%) and according to risk indicators: a region with a low risk of equine influenza (1-29%); a region with an average risk of equine influenza (30-59%) and a region with a high risk of equine influenza (60-100%).

Keywords: *equine influenza, seroprevalence, epizootic situation, zoning.*

OPTIMIZATION OF REFOLDING CONDITIONS FOR RECOMBINANT OMP19 PROTEIN FROM BRUCELLA SPP.

Adilova G.S.*, Chervyakova O.V. , Issabek A.U. , Bopi A.K. , Shynybekova G.O. ,
Shoraeva K.A. 

LLP «Research Institute for Biological Safety Problems», National holding «QazBioPharm»,
Guardeyskiy, Republic of Kazakhstan

* g.adilova@biosafety.kz

Abstract. The recombinant Omp19 protein of *Brucella* spp. is considered as a promising antigen for the development of diagnostic test systems and immunobiological preparations. However, obtaining its soluble form remains a significant challenge. The aim of this study was to optimize the dialysis conditions for the recombinant Omp19 protein following purification by ion-exchange chromatography.

Dialysis was performed sequentially in several buffer systems with varying compositions of salts and stabilizing components. Dialysis efficiency and protein solubility were assessed using the SDS-PAGE method, with analysis of the supernatant and pellet fractions under various storage temperature conditions. The results showed that when buffers 1-4 were used, the recombinant protein predominantly converted to an insoluble form and was detected in the pellet. To increase the protein's solubility, the concentration of L-arginine in the dialysis buffer was optimized. It was found that using a buffer containing 880 mM L-arginine ensured that the protein remained in the soluble fraction and prevented the formation of a visible pellet.

Based on these results, we recommend using 880 mM L-arginine to stabilize the recombinant Omp19 protein during purification and storage, which is of practical importance for the further use of this protein in diagnostics and biotechnology research.

Keywords: *Brucella* spp.; Omp19; recombinant protein; dialysis; SDS-PAGE.

Introduction

Brucellosis remains one of the most significant zoonotic infections and has a substantial impact on animal and public health in endemic regions. In the Republic of Kazakhstan, the disease continues to be reported in livestock, highlighting the need to improve laboratory diagnosis and develop highly specific serological assays [1,2]. National studies have documented the circulation of *Brucella abortus* and *Brucella melitensis* in different regions of Kazakhstan, underscoring the importance of pathogen surveillance and molecular genetic characterization [3]. In this context, recombinant antigens are particularly valuable because they may improve the sensitivity and specificity of diagnostic methods compared with conventional serological tests.

Outer membrane proteins (Omp) of *Brucella* spp., including Omp19, Omp25, and Omp31, are important immunodominant antigens. Omp19 is an approximately 19kDa lipoprotein that is highly conserved and capable of inducing a humoral immune response [4]. Studies by Kazakh researchers have shown that recombinant Omp antigens can substantially improve the diagnostic performance of enzyme-linked immunosorbent assays compared with conventional methods [5].

Heterologous expression of recombinant proteins in *Escherichia coli* frequently results in the formation of insoluble aggregates and inclusion bodies, necessitating multistep purification that includes solubilization, ion-exchange chromatography, and subsequent renaturation of proteins. In the Laboratory of Molecular Biology and Genetic Engineering at RIBSP, LLP, imidazole-containing buffer systems and detergents are widely used to increase the recovery of the target protein in soluble form [6].

One of the most effective renaturation methods is stepwise dialysis with sequential changes in buffer systems, which allows for the gradual removal of denaturing agents and the stabilization of the

protein's native conformation. Particular attention is paid to the addition of L-arginine, which, according to several studies, reduces the aggregation of intermediate protein forms and increases the yield of the soluble fraction [7].

Despite the existence of research on recombinant *Brucella* spp. antigens, including studies conducted in Kazakhstan (S. Seifullin Kazakh Agrotechnical Research University and the RIBSP), the conditions for effective renaturation of Omp19 remain insufficiently optimized, which limits the production of a stable, functional preparation.

Therefore, this study aimed to evaluate the efficiency of stepwise dialysis of recombinant Omp19 from *Brucella* spp. in various buffer systems and to analyze the distribution of the protein between soluble and insoluble fractions using the SDS-PAGE method.

Materials and methods. The subject of this study is the recombinant Omp19 protein, purified by ion-exchange chromatography, at the "Molecular Biology and Genetic Engineering" laboratory of the RIBSP LLP.

The purification by ion-exchange chromatography of the recombinant Omp19 protein from *Brucella* spp. included the following steps: equilibration, washing, and elution using various concentrations of buffer solutions containing imidazole and 1% Triton X-100. The total protein concentration in the sample, as determined by the Lowry method, was 95 µg/mL.

Preparation of Dialysis Buffers. All solutions were prepared in deionized water using analytical-grade reagents. After the components were added, the solutions were thoroughly mixed until all substances had completely dissolved.

Buffer 1 (20 mM Tris-HCl, 300 mM NaCl, and 1 mM ethylenediaminetetraacetic acid [EDTA]), to prepare 1 L of buffer, 20 mL of 1 M Tris-HCl, 60 mL of 5 M NaCl, and 2 mL of EDTA solution were added to a volumetric flask. The volume was adjusted to 1 L with deionized water, and the solution was thoroughly mixed.

Buffer 2 (1 M L-arginine, 300 mM NaCl, 8 mM Na₂HPO₄, and 2 mM NaH₂PO₄).

A total of 60 mL of 5 M NaCl, 8 mL of 1 M Na₂HPO₄, and 2 mL of 1 M NaH₂PO₄ were added to a volumetric flask. Next, 210.7 g of L-arginine was added and mixed until completely dissolved. The volume was adjusted to 1 L with deionized water.

Buffer 3 (phosphate-salt buffer), to prepare 2 L of buffer, 2.88 g of Na₂HPO₄, 0.61 g of KH₂PO₄, 17.5 g of NaCl, and 0.4 g of KCl were dissolved in deionized water. After all components had dissolved, the volume was adjusted to 2 L.

Buffer 4 (20 mM PBS), to prepare 2 L of solution, 5.68 g of Na₂HPO₄, 0.48 g of KH₂PO₄, 16 g of NaCl, and 0.4 g of KCl were dissolved in deionized water. After all components had dissolved, the volume was adjusted to 2 L with purified water.

Buffer 5 (55 mM Tris-HCl, 20 mM NaCl, 0.88 mM KCl, and 880 mM L-arginine), the required amounts of each component were dissolved in deionized water, and the solution was brought to the calculated final volume. This buffer was used to stabilize the protein after dialysis.

Preparation of 2× buffer for SDS-PAGE samples. To prepare 20 mL of 2× sample buffer, 2.5 mL of 4× Tris-HCl/SDS buffer (pH 6.8), 5 mL of glycerol, 0.32 g of SDS, and 2 mg of bromophenol blue were combined. The volume was adjusted to 20 mL with deionized water, and the solution was mixed until all components had completely dissolved. Immediately before use, 50 µL of β-mercaptoethanol was added to 950 µL of the prepared buffer. The buffer was stored at room temperature for no longer than one year.

Dialysis Procedure. For dialysis, 3-mL aliquots of purified recombinant Omp19 from *Brucella* spp. were loaded into dialysis cassettes. The cassettes were sequentially placed in five buffer solutions (buffers 1, 2, 3, 4, and 5), each with a volume of 500 mL. The flasks containing the buffers were placed on magnetic stirrers and incubated at 4 °C. After 2 h, each buffer was replaced with the next freshly prepared solution, and dialysis was continued for 16 h at 4 °C with constant stirring. Sequential buffer exchange was performed to gradually remove denaturing components and promote refolding of the recombinant protein [8].

After dialysis, the protein samples were removed from the cassettes and transferred to sterile microcentrifuge tubes. The samples were centrifuged at the maximum available speed for 30 min. The supernatants were carefully transferred to new sterile tubes. Each pellet was resuspended in 1.5 mL of

deionized water and then mixed with 1.5 mL of 2× sample buffer. A 20-μL aliquot of each sample was collected for subsequent SDS-PAGE analysis [9].

Polyacrylamide Gel Casting. For electrophoretic analysis, two glass or plastic cassettes for casting 10 × 10 × 1 mm mini-gels were prepared. Freshly prepared resolving-gel solution was immediately transferred into the cassettes with a Pasteur pipette to a height of approximately 8 cm. The gel surface was carefully overlaid with approximately 1 cm of deionized water to prevent contact with atmospheric oxygen and ensure uniform polymerization. The resolving gel was polymerized at room temperature for 30–60 min. Completion of polymerization was indicated by the appearance of a distinct boundary between the water layer and the gel surface. After polymerization, the water was removed and the gel surface was rinsed with 1× Tris-HCl/SDS buffer (pH 8.8). The concentrating gel solution was then prepared and added until the space above the resolving gel was completely filled. Combs were inserted to form wells, and the stacking gel was allowed to polymerize at room temperature for 30–45 min until completely solidified [10].

Sample Preparation. The samples were mixed with 2× sample buffer at a 1:1 ratio (v/v). Pellet samples were first resuspended in 1× sample buffer to obtain a homogeneous suspension. The prepared samples were heated in a boiling water bath or heating block at 95 °C for 5–10 min to denature the proteins and reduce disulfide bonds. The samples were then cooled to room temperature and used for SDS-PAGE analysis [10].

Electrophoresis. After polymerization of the stacking gel, the comb was removed and the wells were rinsed with 1× running buffer. The cassettes were installed in a vertical electrophoresis chamber, which was then filled with running buffer. The prepared samples and a molecular-weight marker were loaded into the wells. Electrophoresis was performed at 130 V for 90–100 min, with protein migration monitored using the bromophenol blue dye front [10].

Protein Detection. After electrophoresis, the gel was removed from the cassette and the stacking gel was discarded. Proteins were visualized by staining with Coomassie Brilliant Blue G-250; alternatively, the gel was used for subsequent Western blot analysis. Before staining, the gel was washed three times with distilled water for 10 min per wash and then incubated in staining solution for at least 2 h with constant agitation. Excess stain was removed by washing with distilled water until distinct protein bands became visible [11].

Results. Dialysis efficiency for recombinant Omp19 from *Brucella* spp. was evaluated by SDS-PAGE. Samples obtained at different stages of dialysis against four sequential buffers were separated into supernatant (S) and pellet (P) fractions and analyzed after exposure to different temperature conditions (37 °C, room temperature [RT], –20 °C, and –70 °C). A standard protein ladder was used as the molecular-weight marker (Figure 1A–D).

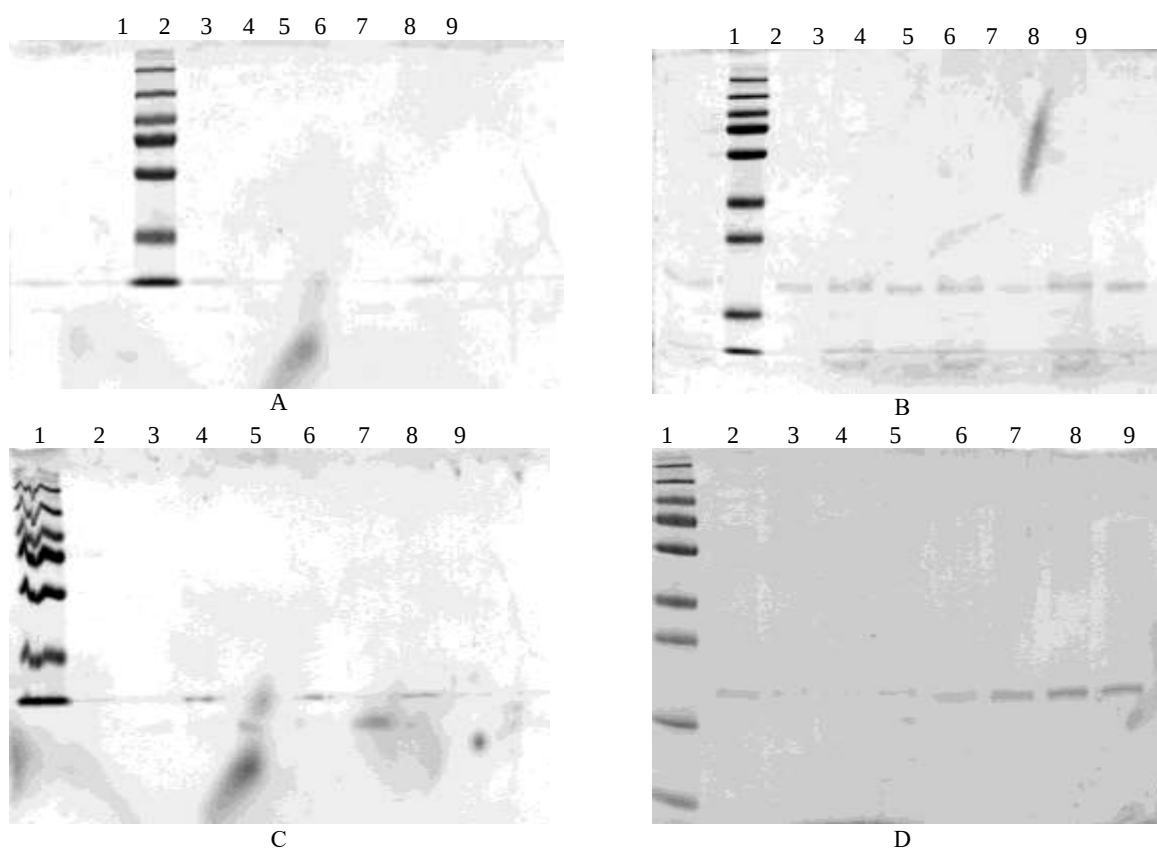


Figure 1. Dialysis efficiency of the recombinant Omp19 protein from *Brucella* spp. in various buffer systems.

A – Dialysis in buffer 1: 1 – pellet (+37), 2 – n.d. (+37), 3 – marker, 4 – pellet (RT), 5 – supernatant (RT), 6 – pellet (-20), 7 – supernatant (-20), 8 – pellet (-70), 9 – supernatant (-70);

B – Dialysis in Buffer 2: 1 – supernatant (+37), 2 – marker, 3 – pellet (+37), 4 – supernatant (RT), 5 – pellet (RT), 6 – supernatant (-20), 7 – pellet (-20), 8 – supernatant (-70), 9 – pellet (-70);

C – dialysis in buffer 3: 1 – marker, 2 – pellet (+37), 3 – supernatant (+37), 4 – pellet (RT), 5 – supernatant (RT), 6 – pellet (-20), 7 – supernatant (-20), 8 – pellet (-70), 9 – supernatant (-70).

D – dialysis in buffer 4: 1 – marker, 2 – supernatant (RT), 3 – supernatant (+37), 4 – supernatant (-20), 5 – supernatant (-70), 6 – pellet (RT), 7 – pellet (+37), 8 – pellet (-20), 9 – pellet (-70).

In buffer 1 (Figure 1A), the protein was detected predominantly in the pellet fraction under all temperature conditions, whereas little or no protein was detected in the supernatant. A similar pattern was observed in buffer 2 (Figure 1B): most of the protein was present in the pellet, while only small amounts were detected in the supernatant under selected conditions.

In buffer 3 (Figure 1C) the protein was predominantly present in the pellet regardless of the incubation temperature, indicating low solubility under these dialysis conditions. In buffer 4 (Figure 1D), the protein also remained predominantly associated with the pellet under all conditions examined.

Overall, the electrophoretic results (Figure 1A–D) showed that recombinant Omp19 predominantly transitioned to an insoluble form during dialysis against the tested buffer systems and was recovered in the pellet. These findings indicate that the initial refolding conditions were insufficient and that the buffer composition required optimization to improve protein solubility.

To optimize the dialysis conditions for recombinant Omp19 from *Brucella* spp., the effect of L-arginine concentration on protein stability was examined. Dialysis was initially performed using 1 M L-arginine. However, protein precipitation was observed at this concentration, indicating reduced solubility and stability. The L-arginine concentration was therefore reduced to 880 mM (buffer 5). The results are shown in Figure 2.

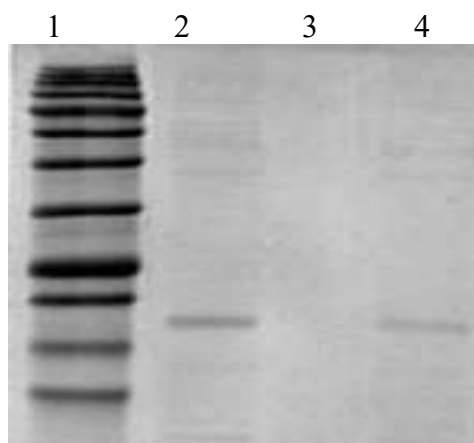


Figure 2. Dialysis results with optimized buffer composition. Lane 1, marker; lane 2, supernatant; lane 3, pellet; lane 4, supernatant after filtration.

As shown in Figure 2, recombinant Omp19 remained soluble and did not form a visible pellet during dialysis in the presence of 880 mM L-arginine. Therefore, 880 mM L-arginine was selected as the optimal concentration for subsequent purification and storage of recombinant Omp19.

Discussion. The results demonstrated that the efficiency of recombinant Omp19 dialysis depended strongly on the composition of the dialysis buffer. Electrophoretic analysis of samples dialyzed in buffers 1-4 showed that the protein was localized predominantly in the pellet fraction regardless of storage temperature. This distribution indicates protein aggregation and conversion to an insoluble state.

Aggregation is a major challenge in the recovery of recombinant proteins after removal of denaturing agents [12]. Current evidence indicates that the propensity of a protein to aggregate is determined by both its primary structure and environmental conditions, including ionic strength, pH, and buffer composition [13].

The observed behavior may be associated with structural features of Omp19. Omp19 has previously been characterized as an outer membrane lipoprotein of *Brucella* spp. containing hydrophobic regions that mediate interactions with membrane structures [14]. After removal of denaturants, these regions may promote intermolecular interactions and subsequent protein precipitation. Similar difficulties in obtaining soluble Omp19 have been reported in studies involving recombinant expression in *Escherichia coli* [15,16].

To improve recombinant-protein solubility, the concentration of L-arginine was optimized. Arginine is currently regarded as one of the most effective stabilizing additives used during protein refolding. It can suppress protein-protein interactions, reduce hydrophobic aggregation, and help maintain protein solubility during purification and storage [17]. A recent review likewise identified arginine as a widely used additive for recombinant-protein refolding because of its ability to increase solubility and prevent aggregate formation [17].

In the present study, 1 M L-arginine did not fully stabilize Omp19, as a proportion of the protein continued to pellet. When the arginine concentration was reduced to 880 mM, the protein remained in the soluble fraction and no visible pellet formed. Electrophoretic analysis confirmed that the target protein was recovered predominantly in the supernatant after dialysis. This result is consistent with the concentration-dependent effects of arginine, which are governed by the balance of its interactions with the protein surface and solvent molecules [17,18].

The 880 mM concentration likely provided more favorable conditions for stabilizing Omp19 after removal of denaturing agents. Arginine can shield hydrophobic regions of protein molecules and inhibit intermolecular contacts that lead to aggregation [17,18]. This mechanism may explain the greater solubility of Omp19 in the optimized buffer compared with the previously tested dialysis conditions.

Taken together, the results indicate that the standard buffer systems tested did not support efficient refolding of recombinant Omp19 from *Brucella* spp., whereas a buffer containing 880 mM L-arginine

substantially improved protein solubility and stability. These findings are relevant to the further purification, storage, and use of recombinant Omp19 as a diagnostic antigen or vaccine component. Future studies should additionally assess the immunoreactivity and structural integrity of the protein following optimized dialysis.

Conclusions. The result of this research shows that standard buffer systems used in the dialysis of the recombinant *Brucella* spp. Omp19 protein do not always ensure that it remains in a soluble form, which leads to the formation of a pellet and a decrease in the yield of the target protein. It has been shown that optimizing the composition of the dialysis buffer by using 880 mM L-arginine helps maintain the solubility and stability of the protein.

Based on these results, buffer 5 is recommended for the further purification, storage, and use of the recombinant Omp19 protein as a promising antigen for diagnostic and immunobiological studies.

Funding. This research has been funded by the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan under the program-targeted funding for scientific and scientific-technical programs for 2024–2026 (Project No. BR25293294, "Vaccine against brucellosis based on genomic technologies").

Conflict of interest. The authors declare that they have no conflicts of interest related to the conduct of this study or the preparation and publication of this article.

References

1. Pappas G., Papadimitriou P., Akritidis N., Christou L., Tsianos E. V. The new global map of human brucellosis // *Lancet Infectious Diseases*. – 2006. – Vol. 6, No. 2. – P. 91-99.
2. Tibor A., Weynants V., Denoel P., Schmitt D., van Broeck J., Letesson J. J. Outer membrane proteins Omp10, Omp16 and Omp19 of *Brucella* spp. are lipoproteins // *Infection and Immunity*. – 1999. – Vol. 67, No. 9. – P. 4960-4962.
3. Baneyx F., Mujacic M. Recombinant protein folding and misfolding in *Escherichia coli* // *Nature Biotechnology*. – 2004. – Vol. 22, No. 11. – P. 1399-1408.
4. Arakawa T., Tsumoto K. The effects of arginine on protein folding and aggregation // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2003. – Vol. 304, No. 1. – P. 148-152.
5. Bulashev A.K., Akibekov O.S., Syzdykova A.A. et al. Use of recombinant *Brucella* outer membrane proteins for serological diagnosis of brucellosis // *Veterinary World*. – 2020. – Vol. 13, No. 7. – P. 1439-1447.
6. Булашев А.К., Акибеков О.С., Сыздыкова А.А. и др. Использование рекомбинантных белков *Brucella* для серодиагностики бруцеллёза крупного рогатого скота // *Вестник Казахского агротехнического университета им. С. Сейфуллина*. – 2020. – № 2. – С. 45-52.
7. Wingfield P.T. Protein purification and characterization. In: *Current Protocols in Protein Science*. Hoboken: Wiley; 2024.
8. Wingfield P. T. Protein purification and refolding // *Current Protocols in Protein Science*. – Hoboken: Wiley, 2024.
9. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature*. – 1970. – Vol. 227. – P. 680-685.
10. Kurien B.T., Scofield R.H. SDS-PAGE. In: *Protein Electrophoresis: Methods and Protocols*. Methods in Molecular Biology. New York: Humana Press; 2023. P. 45-58.
11. Neuhoﬀ V., Arold N., Taube D., Ehrhardt W. Improved staining of proteins in polyacrylamide gels including isoelectric focusing gels with clear background at nanogram sensitivity using Coomassie Brilliant Blue G-250 and R-250 // *Electrophoresis*. – 1988. – Vol. 9, No. 6. – P. 255-262.
12. Rahban M., Ahmad F., Piatyszek M.A., Haertlé T., Saso L., Saboury A.A. Stabilization challenges and aggregation in protein-based therapeutics in the pharmaceutical industry // *RSC Advances*. – 2023. – Vol. 13. – P. 35947-35963. DOI:10.1039/D3RA06476J.
13. Lee J.M., Hammarén H.M., Savitski M.M., Baek S.H. Control of protein stability by post-translational modifications // *Nature Communications*. – 2023. – Vol. 14. – Art. 201. DOI:10.1038/s41467-023-35795-8.

14. Tibor A., Decelle B., Letesson J.J. Outer membrane proteins Omp10, Omp16, and Omp19 of *Brucella* spp. are lipoproteins // *Infection and Immunity*. 1999. Vol. 67, No. 9. P. 4960-4962. DOI:10.1128/IAI.67.9.4960-4962.1999.
15. Golchin M., Etemadi J., Moazeni Julia G. et al. Serodiagnosis of human brucellosis by an indirect ELISA test using recombinant outer membrane protein 19 kDa (rOMP19) as an antigen // *BMC Biotechnology*. 2023. Vol. 23. Art. 46. DOI: 10.1186/s12896-023-00817-2.
16. Zhang Y., Wang X., Li Y. et al. Optimizing ovine brucellosis serodiagnosis: evaluation of recombinant *Brucella* antigens and multi-antigen combinations for iELISA // *Frontiers in Veterinary Science*. 2026. Vol. 13. Art. 1775573.
17. Ren S. Effects of arginine in therapeutic protein formulations: a decade review and perspectives // *Antibody Therapeutics*. 2023. Vol. 6, No. 4. P. 265–276. DOI: 10.1093/abt/tbad022.
18. Gupta M.N., Uversky V.N. Biological importance of arginine: a comprehensive review of the roles in structure, disorder, and functionality of peptides and proteins // *International Journal of Biological Macromolecules*. 2024. Vol. 257. Art. 128646. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2023.128646.

References

1. Pappas G., Papadimitriou P., Akritidis N., Christou L., Tsianos E. V. The new global map of human brucellosis // *Lancet Infectious Diseases*. – 2006. – Vol. 6, No. 2. – P. 91-99.
2. Tibor A., Weynants V., Denoel P., Schmitt D., van Broeck J., Letesson J. J. Outer membrane proteins Omp10, Omp16 and Omp19 of *Brucella* spp. are lipoproteins // *Infection and Immunity*. – 1999. – Vol. 67, No. 9. – P. 4960-4962.
3. Baneyx F., Mujacic M. Recombinant protein folding and misfolding in *Escherichia coli* // *Nature Biotechnology*. – 2004. – Vol. 22, No. 11. – P. 1399-1408.
4. Arakawa T., Tsumoto K. The effects of arginine on protein folding and aggregation // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. – 2003. – Vol. 304, No. 1. – P. 148-152.
5. Bulashev A.K., Akibekov O.S., Syzdykova A.A. et al. Use of recombinant *Brucella* outer membrane proteins for serological diagnosis of brucellosis // *Veterinary World*. – 2020. – Vol. 13, No. 7. – P. 1439-1447.
6. Bulashev AK, Akibekov OS, Syzdykova AA, et al. Use of recombinant *Brucella* proteins for the serodiagnosis of bovine brucellosis. *Bulletin of S. Seifullin Kazakh Agrotechnical University*. 2020;(2):45–52. [In Russian].
7. Wingfield P.T. Protein purification and characterization. In: *Current Protocols in Protein Science*. Hoboken: Wiley; 2024.
8. Wingfield P. T. Protein purification and refolding // *Current Protocols in Protein Science*. – Hoboken: Wiley, 2024.
9. Laemmli U. K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // *Nature*. – 1970. – Vol. 227. – P. 680-685.
10. Kurien B.T., Scofield R.H. SDS-PAGE. In: *Protein Electrophoresis: Methods and Protocols*. *Methods in Molecular Biology*. New York: Humana Press; 2023. P. 45-58.
11. Neuhoff V., Arold N., Taube D., Ehrhardt W. Improved staining of proteins in polyacrylamide gels including isoelectric focusing gels with clear background at nanogram sensitivity using Coomassie Brilliant Blue G-250 and R-250 // *Electrophoresis*. – 1988. – Vol. 9, No. 6. – P. 255-262.
12. Rahban M., Ahmad F., Piatyszek M.A., Haertlé T., Saso L., Saboury A.A. Stabilization challenges and aggregation in protein-based therapeutics in the pharmaceutical industry // *RSC Advances*. – 2023. – Vol. 13. – P. 35947-35963. DOI:10.1039/D3RA06476J.
13. Lee J.M., Hammarén H.M., Savitski M.M., Baek S.H. Control of protein stability by post-translational modifications // *Nature Communications*. – 2023. – Vol. 14. – Art. 201. DOI:10.1038/s41467-023-35795-8.
14. Tibor A., Decelle B., Letesson J.J. Outer membrane proteins Omp10, Omp16, and Omp19 of *Brucella* spp. are lipoproteins // *Infection and Immunity*. 1999. Vol. 67, No. 9. P. 4960-4962. DOI:10.1128/IAI.67.9.4960-4962.1999.

15. Golchin M., Etemadi J., Moazeni Jula G. et al. Serodiagnosis of human brucellosis by an indirect ELISA test using recombinant outer membrane protein 19 kDa (rOMP19) as an antigen // BMC Biotechnology. 2023. Vol. 23. Art. 46. DOI: 10.1186/s12896-023-00817-2.

16. Zhang Y., Wang X., Li Y. et al. Optimizing ovine brucellosis serodiagnosis: evaluation of recombinant Brucella antigens and multi-antigen combinations for iELISA // Frontiers in Veterinary Science. 2026. Vol. 13. Art. 1775573.

17. Ren S. Effects of arginine in therapeutic protein formulations: a decade review and perspectives // Antibody Therapeutics. 2023. Vol. 6, No. 4. P. 265–276. DOI: 10.1093/abt/tbad022.

18. Gupta M.N., Uversky V.N. Biological importance of arginine: a comprehensive review of the roles in structure, disorder, and functionality of peptides and proteins // International Journal of Biological Macromolecules. 2024. Vol. 257. Art. 128646. DOI:10.1016/j.ijbiomac.2023.128646.

BRUCELLA SPP. OMP19 РЕКОМБИНАНТТЫ АҚУЫЗЫНЫҢ РЕФОЛДИНГІ ЖАҒДАЙЛАРЫН ОҢТАЙЛАНДЫРУ

Адилова Г.С., Червякова О.В. , Исабек А.У. , Бопи А.К. , Шыныбекова Г.О. ,
Шораева К.А. 

«Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС, «QazBioPharm»
ұлттық холдингі, Гвардейский, Қазақстан Республикасы

Аннотация. *Brucella spp.* Omp19 рекомбинантты ақуызы диагностикалық тест-жүйелер мен иммунобиологиялық препараттарды әзірлеуге арналған перспективалы антиген ретінде қарастырылады. Алайда оның ерігіш түрін алу өзекті мәселелердің бірі болып қала береді. Осы зерттеудің мақсаты ион алмастырғыш хроматография әдісімен тазартылғаннан кейінгі Omp19 рекомбинантты ақуызының диализ жағдайларын оңтайландыру болды.

Диализ тұздар мен тұрақтандырғыш компоненттердің құрамы әртүрлі бірнеше буферлік жүйелерде кезең-кезеңімен жүргізілді. Диализдің тиімділігі мен ақуыздың ерігіштігі әртүрлі сақтау температураларында үстіңгі сұйықтық пен тұнба фракцияларын талдау арқылы SDS-PAGE (натрий додецилсульфаты-полиакриламидті гель электрофорезі) әдісімен бағаланды. Зерттеу нәтижелері көрсеткендей, 1–4 буферлер қолданылған кезде рекомбинантты ақуыз негізінен ерімейтін күйге ауысып, тұнба фракциясында анықталды. Ақуыздың ерігіштігін арттыру мақсатында диализдік буфер құрамындағы L-аргининнің концентрациясы оңтайландырылды. Құрамында 880 mM L-аргинин бар буферді пайдалану ақуыздың ерігіш фракцияда сақталуын қамтамасыз етіп, көзге көрінетін тұнбаның түзілуіне жол бермейтіні анықталды.

Алынған нәтижелер тазарту және сақтау кезеңдерінде Omp19 рекомбинантты ақуызын тұрақтандыру үшін 880 mM L-аргининді қолдануды ұсынуға мүмкіндік береді. Бұл тәсіл аталған ақуызды диагностикалық және биотехнологиялық зерттеулерде одан әрі қолдану үшін практикалық маңызға ие.

Түйінді сөздер: *Brucella spp.*, Omp19, рекомбинантты ақуыз, диализ, SDS-PAGE.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ РЕФОЛДИНГА РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА OMP19 BRUCELLA SPP.

Адилова Г.С., Червякова О.В. , Исабек А.У. , Бопи А.К. , Шыныбекова Г.О. ,
Шораева К.А. 

ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности»,
Национальный холдинг «QazBioPharm», Гвардейский, Республика Казахстан

* g.adilova@biosafety.kz

Аннотация. Рекомбинантный белок Omp19 *Brucella spp.* рассматривается как перспективный антиген для разработки диагностических тест-систем и иммунобиологических препаратов, однако получение его растворимой формы остаётся актуальной задачей. Целью настоящего исследования

являлась оптимизация условий диализа рекомбинантного белка Omp19 после очистки методом ионно-обменной хроматографии.

Диализ проводили последовательно в нескольких буферных системах с различным составом солей и стабилизирующих компонентов. Эффективность диализа и растворимость белка оценивали методом ДСН-ПААГ (додецил сульфат натрия – полиакриламидный гель) с анализом надосадочных и осадочных фракций при различных температурных режимах хранения. Результаты показали, что при использовании буферов 1-4 рекомбинантный белок преимущественно переходил в нерастворимую форму и обнаруживался в осадке. Для повышения растворимости белка была проведена оптимизация концентрации L-аргинина в составе диализного буфера. Установлено, что применение буфера, содержащего 880 мМ L-аргинина, обеспечивало сохранение белка в растворимой фракции и предотвращало образование видимого осадка.

Полученные результаты позволяют рекомендовать использование 880 мМ L-аргинина для стабилизации рекомбинантного белка Omp19 на этапах очистки и хранения, что имеет практическое значение для дальнейшего применения белка в диагностических и биотехнологических исследованиях.

Ключевые слова: *Brucella spp.*, Omp19, рекомбинантный белок, диализ, ДСН-ПААГ.

ВЛИЯНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ДОБАВОК НА РОСТОВЫЕ СВОЙСТВА СУСЛО-АГАРА ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ ПРОИЗВОДСТВЕННЫХ ШТАММОВ ДЕРМАТОФИТОВ

Ю.А. Костыркин *, О.В. Лысинская, Ю.В. Никитин, В.В. Шаповал

ООО Фирма «БиоХимФарм», г. Владимир, Россия

* ignatosyanag@gmail.com

Аннотация. Дерматофиты рода *Trichophyton*, в первую очередь *Trichophyton verrucosum*, являются основными возбудителями трихофитии крупного рогатого скота. Культивирование этих микроорганизмов на твердых питательных средах сопряжено с рядом трудностей: большинство штаммов *T. verrucosum* обладают строгими ростовыми потребностями в витаминах, их рост часто контаминируется сопутствующей бактериальной микрофлорой, а продуктивность по биомассе и спорам на стандартных средах остается недостаточной для промышленного производства вакцин. В связи с этим актуальной задачей является оптимизация состава базовой среды сусло-агара путем введения специфических добавок, улучшающих ростовые свойства.

Цель работы – оценить влияние глицерина, инозитола, L-гистидина и хлорамфеникола на ростовые свойства сусло-агара при культивировании производственных штаммов *Trichophyton verrucosum* и *Trichophyton mentagrophytes*.

Материалы и методы. Базовой средой служил стандартный сусло-агар. В опытные образцы вводили глицерин (0,5-2,5%), инозитол (0,005-0,1%), L-гистидин (0,005-0,2 г/л) и хлорамфеникол (0,01-0,05 г/л). Ростовые свойства оценивали по линейной скорости роста, интенсивности спорообразования и продуктивности мицелия.

Результаты. Глицерин в концентрации 1,5-2,0% увеличивал линейную скорость роста *T. verrucosum* №123 на 28,3%, а продуктивность мицелия – на 25,6% по сравнению с контролем. Инозитол в концентрации 0,02-0,03% повышал число микроконидий с 45,2 до 73,0 млн/см³. L-гистидин в концентрации 0,02-0,04 г/л оказывал умеренное стимулирующее действие на рост *T. mentagrophytes*. Хлорамфеникол в концентрации 0,025 г/л полностью подавлял видимый рост бактериальной контаминирующей микрофлоры без угнетения дерматофитов. Комплексное использование добавок повышало суммарный выход микроконидий на 53,4% по сравнению со стандартным сусло-агаром.

Заключение. Введение в состав сусло-агара глицерина (1,5-2,0% для *T. Verrucosum* и 2,0-2,5% для *T. mentagrophytes*), инозитола (0,02-0,03%), L-гистидина (0,02-0,04 г/л) и хлорамфеникола (0,025 г/л) позволяет существенно улучшить ростовые свойства питательной среды, повышая продуктивность производственных культур дерматофитов и обеспечивая надежную защиту от бактериальной контаминации.

Ключевые слова: *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton mentagrophytes*, глицерин, инозитол, L-гистидин, хлорамфеникол, культивирование.

Введение. Дерматофитозы (трихофития, стригущий лишай) представляют собой одну из наиболее распространенных групп инфекционных заболеваний крупного рогатого скота, наносящих значительный экономический ущерб животноводству. Основным возбудителем трихофитии у крупного рогатого скота является грибок *Trichophyton verrucosum*, который также может поражать лошадей, овец, коз, свиней, собак, кошек, грызунов и человека. В ветеринарной практике наряду с *T. verrucosum* значительную роль играет *Trichophyton mentagrophytes*, также вызывающий дерматофитозы у различных видов животных.

Эффективная профилактика и терапия трихофитии осуществляется с использованием специфических вакцинных препаратов. В Российской Федерации и других странах широкое применение находит вакцина ТВМ (производство ООО Фирма «БиоХимФарм», регистрационное удостоверение № 899 QF от 13.12.2019, Монголия) [12], предназначенная для профилактики и терапии трихофитии парнокопытных (крупного и мелкого рогатого скота, буйволов, зебу и оленей). Данный препарат представляет собой суспензию, изготовленную из производственных аттенуированных штаммов *Trichophyton verrucosum* № 123 и *Trichophyton mentagrophytes* № 244, поддерживаемых на предприятии-изготовителе. Технологический процесс производства вакцины включает этапы культивирования указанных штаммов на твердой питательной среде (сусло-агаре) с последующей инактивацией и расфасовкой.

Ключевым этапом, определяющим качество и эффективность конечного продукта, является культивирование производственных штаммов дерматофитов. Стандартная питательная среда – сусло-агар – не всегда обеспечивает оптимальные условия для роста и спорообразования этих микроорганизмов [2, 3]. В связи с этим возникает необходимость в оптимизации состава базовой среды путем введения специфических добавок, способных стимулировать ростовые процессы, повышать продуктивность культур по выходу биомассы и спор, а также предотвращать контаминацию посторонней микрофлорой.

Известно, что *T. verrucosum* является ауксотрофным микроорганизмом с выраженными потребностями в витаминах. Все штаммы *T. verrucosum* нуждаются в тиамине для своего роста, причем примерно 80% штаммов требуют одновременно тиамина и инозитола [4-7]. Данная особенность делает изучение влияния инозитола на ростовые свойства питательной среды особенно актуальным. Кроме того, в микологических питательных средах в качестве дополнительного источника углерода, способствующего повышению продуктивности мицелиальных грибов, широко используется глицерин. Некоторые исследования показывают, что аминокислоты, включая L-гистидин, также могут оказывать влияние на рост дерматофитов. Кроме этого, проблема бактериальной контаминации при длительном культивировании дерматофитов решается путем введения в состав среды антибиотиков, среди которых наиболее эффективным является хлорамфеникол [8-10].

Цель настоящей работы – оценить влияние глицерина, инозитола, L-гистидина и хлорамфеникола на ростовые свойства сусло-агара при культивировании производственных штаммов *Trichophyton verrucosum* и *Trichophyton mentagrophytes* для оптимизации технологического процесса получения вакцинного сырья.

Обзор литературы. 1. Биологические особенности *Trichophyton verrucosum* и *Trichophyton mentagrophytes*. Дерматофиты представляют собой группу патогенных грибов, объединяемых под общим названием дерматофиты, которые поражают кератинизированные ткани животных и человека. *Trichophyton verrucosum* является типичным представителем зоофильных дерматофитов, основным резервуаром которого служит крупный рогатый скот. Этот гриб характеризуется медленным ростом по сравнению с другими дерматофитами. Культуральные особенности включают образование плоских, белых или кремовых колоний с возможным пуговчатым возвышением в центре, с выраженной зональностью роста.

Trichophyton mentagrophytes отличается более быстрым ростом и способностью поражать более широкий круг хозяев. Культуральные свойства включают образование плоских, мучнистых, кремовых колоний с радиальной исчерченностью. Оба вида обладают способностью продуцировать ферменты, участвующие в деградации кератина, что обеспечивает их патогенность.

2. Питательные потребности дерматофитов. *Trichophyton verrucosum* является ауксотрофом с выраженными потребностями в витаминах. Исследования показали отсутствие роста на бескаротиновой среде без добавок, минимальный субмерный рост при добавлении инозитола и хороший рост только при совместном добавлении инозитола и тиамина [4-7]. Это подтверждает, что *T. verrucosum* является ауксотрофным по отношению к инозиту и тиамину.

Витаминные потребности видов рода *Trichophyton* различны. *T. mentagrophytes*, напротив, является менее требовательным и способен расти на синтетических средах с минеральными источниками азота и углеводов [6-7].

3. Роль глицерина как источника углерода

Глицерин представляет собой многоатомный спирт, который может служить альтернативным источником углерода для многих микроорганизмов. В биосинтезе грибов глицерин участвует в процессах центрального углеродного метаболизма и катаболизма глицерина, связанных с метаболизмом активных форм кислорода и построением клеточной стенки.

Исследования показывают, что дерматофиты способны использовать глицерин в качестве источника углерода, хотя их липолитическая активность часто ограничена. Глицерин входит в состав многих стандартных питательных сред для дерматофитов, таких как мясопептонно-глицериновый агар (МПА) [2, 3, 11, 12].

4. Биологическая роль инозитола

Инозитол (мио-инозитол) представляет собой циклический шестиатомный спирт, который является важным ростовым фактором для многих микроорганизмов. Инозитол играет ключевую роль в клеточном морфогенезе и цитогенезе, липидном синтезе, структуре клеточных мембран и клеточном росте. Для ауксотрофных штаммов *T. verrucosum* наличие инозитола в среде является критическим фактором для нормального спорогенеза [4,7]. Некоторые исследования показывают, что инозитол может влиять на процессы спорогенеза у дрожжей, причем выявлены две фазы потребности в инозите, совпадающие с фазами синтеза липидов.

5. Влияние аминокислот на рост дерматофитов. Влияние аминокислот на рост дерматофитов варьирует в зависимости от вида и концентрации. Некоторые аминокислоты могут стимулировать рост, тогда как другие могут ингибировать его в определенных концентрациях. Исследования показали, что L-гистидин может снижать рост *T. mentagrophytes* в определенных концентрациях, однако в низких концентрациях некоторые аминокислоты стимулируют рост.

Для многих дерматофитов характерна аминокислотная или белковая зависимость роста – добавление аминокислот значительно ускоряет рост по сравнению с базовыми средами. Некоторые исследования выявили, что гистидин может служить фактором роста для трихофитонов группы *rosaceum* [6, 7, 11, 12].

6. Антибиотики в микологических средах. Хлорамфеникол – антибиотик широкого спектра действия с бактериостатическим механизмом действия (связывание с 50S субъединицей бактериальной рибосомы, подавление синтеза белка). Добавление хлорамфеникола в агар Сабуро широко используется для ингибирования бактериальной контаминации при выделении дерматофитов [8-10].

Однако некоторые исследования указывают, что хлорамфеникол может частично ингибировать рост некоторых патогенных грибов. Поэтому важен подбор оптимальной концентрации для максимального ингибирования бактерий с минимальным влиянием на рост дерматофитов. Обычно используются концентрации 0,05 г/л, но существуют данные об эффективности более низких концентраций [9].

7. Оптимизация питательных сред для дерматофитов. Разработка оптимизированных питательных сред для культивирования дерматофитов является актуальной задачей ветеринарной биотехнологии. Исследования показали, что добавление стимуляторов роста (0,03% стимулонга) может повысить мицелиообразование на 19,6–22,4% и спорогенез на 19,6–24,7% [2, 3, 11, 12]. Комплексное использование различных добавок может дать синергический эффект, повышающий суммарный выход биомассы и спор.

Материалы и методы. Объекты исследования. Объектами исследования служили производственные штаммы дерматофитов:

Trichophyton verrucosum № 123 – производственный штамм, используемый при изготовлении вакцины против трихофитии крупного рогатого скота (RCAM04479);

Trichophyton mentagrophytes № 244 – производственный штамм из коллекции ООО Фирма «БиоХимФарм» (RCAM04477).

Оба штамма относятся к III-IV группам патогенности микроорганизмов и поддерживаются в коллекции предприятия-изготовителя.

Базовые питательные среды. В качестве базовой питательной среды использовали стандартный сусло-агар, приготовленный согласно действующей нормативной документации. Солодовое неохмеленное сусло разбавляли в два раза дистиллированной водой до 7° содержания сахаров по Баллингу, устанавливали pH до 8,0-8,2 добавлением 10% NaOH и вносили 2% агара. Выбор pH 8,0-8,2 обусловлен необходимостью подавления роста сопутствующей бактериальной микрофлоры; для дерматофитов допустим диапазон pH 6,5-8,5 [3, 12]. Среду стерилизовали автоклавированием при 121 °C (0,1 МПа) в течение 20 минут.

Исследуемые добавки. В опытные образцы сусло-агара вводили следующие добавки:

-глицерин (ГОСТ 6824-96, х.ч.) в концентрациях 0,5%; 1,0%; 1,5%; 2,0%; 2,5% от объема среды (до 100 мл/л);

-инозитол (мио-инозитол, Sigma-Aldrich, ≥99%) в концентрациях 0,005%; 0,01%; 0,02%; 0,03%; 0,05%; 0,1% от массы среды (до 0,5 г/л);

-L-гистидин (Sigma-Aldrich, ≥98%) в концентрациях 0,005; 0,01; 0,02; 0,04; 0,08; 0,1; 0,15; 0,2 г/л;

-хлорамфеникол (левомицетин, активность 975-1020 мкг/мг, ФС.2.1.0207.18) в концентрациях 0,01 г/л; 0,025 г/л; 0,05 г/л (до 0,05 г/л).

Комплексное влияние добавок изучали при их совместном внесении в оптимально подобранных концентрациях. В качестве контрольного образца использовали сусло-агар без добавок.

Условия культивирования. Посев штаммов производили путем укола в центр чашки Петри с последующей инкубацией при температуре 28±1°C в течение 14-21 суток. Для оценки витальных потребностей штаммов и влияния добавок дополнительно использовали агар Сабуро и картофельный агар.

Оценка ростовых свойств. Оценку ростовых свойств питательных сред проводили по следующим показателям.

1. Линейная скорость роста ($V_{\text{лин}}$, мм/сут): ежедневное измерение диаметра колоний с третьих по четырнадцатые сутки культивирования, расчет среднего суточного прироста;

2. Интенсивность спорообразования ($N_{\text{спор}}$, млн/см³): подсчет числа микроконидий в камере Горяева в трехкратной повторности;

3. Продуктивность мицелия ($M_{\text{сух}}$, г/л): гравиметрическое определение массы сухого вещества мицелия после высушивания до постоянной массы;

4. Индекс спорообразования (ИС): отношение числа микроконидий в опытном варианте к контролю, выраженное в процентах.

Бактериологический контроль чистоты культуры проводили путем посева на мясопептонный агар (МПА) и в мясопептонный бульон (МПБ) с последующей инкубацией при 37°C в течение 48 часов.

Статистическая обработка. Экспериментальные данные обрабатывали с использованием методов вариационной статистики. Нормальность распределения проверяли по критерию Шапиро-Уилка. При множественных сравнениях опытных групп с одним контролем применяли однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с поправкой Даннетта. Для каждого показателя рассчитывали среднее арифметическое (M) и стандартное отклонение (σ). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Каждый эксперимент проводили в трехкратной повторности ($n = 3$).

Результаты. 1. Влияние глицерина на рост и продуктивность дерматофитов.

Проведенные исследования показали, что добавление глицерина в состав сусло-агара оказывает дозозависимое влияние на ростовые свойства питательной среды. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Влияние различных концентраций глицерина на ростовые показатели *T. verrucosum* № 123

Концентрация глицерина, %	Линейная скорость роста, мм/сут	Продуктивность мицелия, г/л	Индекс спорообразования, %
0 (контроль)	2,18 ± 0,09	5,12 ± 0,21	100,0
0,5	2,24 ± 0,11	5,28 ± 0,19	104,6
1,0	2,46 ± 0,08*	5,74 ± 0,18*	115,2
1,5	2,78 ± 0,10*	6,43 ± 0,22*	128,7
2,0	2,80 ± 0,12*	6,51 ± 0,20*	130,4
2,5	2,71 ± 0,09*	6,28 ± 0,23*	122,8

*Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Как следует из представленных данных (таблицы 1 и 2; рисунки 1-3), глицерин в концентрации 1,5-2,0% оказывает максимальное стимулирующее действие на *T. verrucosum*. Линейная скорость роста увеличилась на 27,5-28,4%, продуктивность мицелия – на 25,6-27,1%, индекс спорообразования – на 28,7-30,4%. Дальнейшее повышение концентрации глицерина до 2,5% приводило к незначительному снижению ростовых показателей.

Для *T. mentagrophytes* №244 оптимальная концентрация глицерина оказалась несколько выше – 2,0-2,5% (таблица 2).

Таблица 2 – Влияние различных концентраций глицерина на ростовые показатели *T. mentagrophytes* № 244

Концентрация глицерина, %	Линейная скорость роста, мм/сут	Продуктивность мицелия, г/л	Индекс спорообразования, %
0,0 (контроль)	2,95 ± 0,12	4,86 ± 0,19	100,0
1,0	3,18 ± 0,10	5,23 ± 0,17	108,9
1,5	3,46 ± 0,11*	5,68 ± 0,20*	119,5
2,0	3,72 ± 0,13*	6,21 ± 0,22*	132,6
2,5	3,78 ± 0,14*	6,34 ± 0,24*	135,2
3,0	3,58 ± 0,12*	6,02 ± 0,21*	124,8

*Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

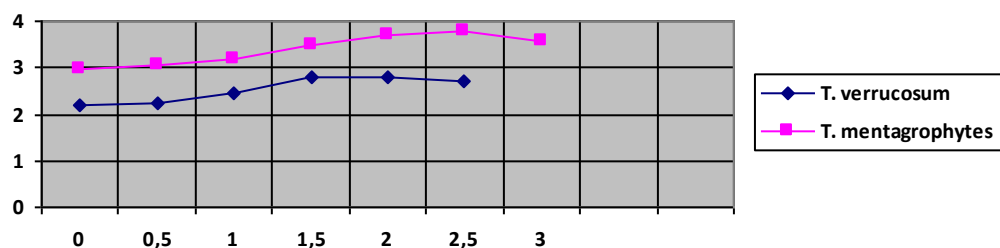


Рисунок.1 – Зависимость линейной скорости роста (мм/сут) *T. verrucosum* от концентрации глицерина

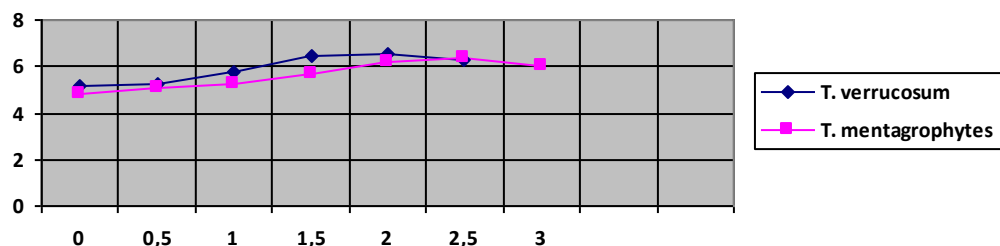


Рисунок 2 – Зависимость продуктивности мицелия (г/л) *T. verrucosum* и *T. mentagrophytes* от концентрации глицерина

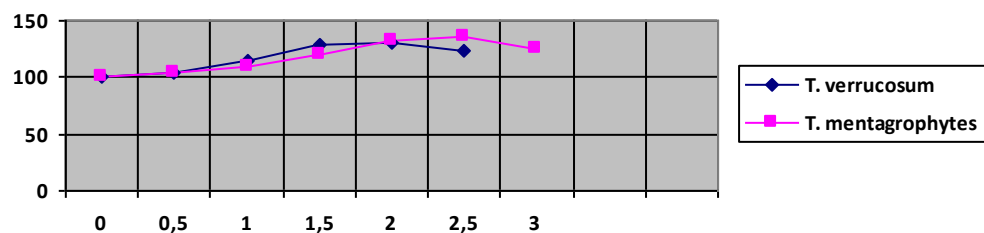


Рисунок 3 – Зависимость индекса спорообразования (%) *T. verrucosum* и *T. mentagrophytes* от концентрации глицерина

Выявленные межвидовые различия, по-видимому, связаны с особенностями углеводного метаболизма каждого из видов дерматофитов [2, 3, 11].

2. Влияние инозитола на ростовые свойства питательной среды. Инозитол является критическим ростовым фактором для многих штаммов *T. verrucosum* [4,7]. Результаты исследования представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Влияние различных концентраций инозитола на ростовые показатели *T. verrucosum* № 123

Концентрация инозитола, %	Линейная скорость роста, мм/сут	Число микроконидий, млн/см ³	Индекс спорообразования, %
0,0 (контроль)	2,18 ± 0,09	45,2 ± 2,8	100,0
0,005	2,21 ± 0,10	47,5 ± 3,1	105,1
0,01	2,32 ± 0,08	55,8 ± 2,9*	123,5
0,02	2,45 ± 0,09*	68,4 ± 3,2*	151,3
0,03	2,48 ± 0,10*	73,0 ± 3,4*	161,5
0,05	2,46 ± 0,11*	70,2 ± 3,3*	155,3
0,10	2,38 ± 0,09	62,5 ± 3,0*	138,3

*Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

Анализ полученных данных показывает, что инозитол оказывает более выраженное влияние на спорообразование, чем на вегетативный рост. Максимальные значения зафиксированы при 0,03%: число микроконидий увеличилось на 61,5% (с 45,2 до 73,0 млн/см³).

Для *T. mentagrophytes* № 244 влияние инозитола было мало выраженным, что согласуется с литературными данными [4,5,6].

3. Влияние L-гистидина на рост дерматофитов. Влияние L-гистидина на ростовые свойства изучали в широком диапазоне концентраций (0,005-0,2 г/л). Результаты представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Влияние различных концентраций L-гистидина на ростовые показатели дерматофитов

Концентрация L-гистидина, г/л	<i>T. verrucosum</i> № 123	<i>T. mentagrophytes</i> № 244
Линейная скорость роста, мм/сут:		
0,00 (контроль)	2,18 ± 0,09	2,95 ± 0,12
0,005	2,20 ± 0,08	2,98 ± 0,11
0,01	2,24 ± 0,10	3,05 ± 0,13
0,02	2,30 ± 0,09	3,18 ± 0,12*
0,04	2,33 ± 0,11	3,22 ± 0,14*
0,08	2,28 ± 0,10	3,15 ± 0,11*
0,10	2,21 ± 0,09	3,08 ± 0,13
0,15	2,14 ± 0,10	2,96 ± 0,12
0,20	2,09 ± 0,08*	2,88 ± 0,11
Число микроконидий, млн/см ³ :		
0,00 (контроль)	45,2 ± 2,8	38,6 ± 2,5
0,005	46,1 ± 2,9	39,2 ± 2,6
0,01	48,4 ± 3,1	41,5 ± 2,8
0,02	52,6 ± 3,3*	46,8 ± 3,0*
0,04	53,8 ± 3,4*	48,2 ± 3,1*
0,08	51,2 ± 3,2*	46,1 ± 2,9*
0,10	48,5 ± 3,0	43,4 ± 2,8
0,15	45,8 ± 2,9	40,2 ± 2,6
0,20	43,1 ± 2,7	37,5 ± 2,4

*Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

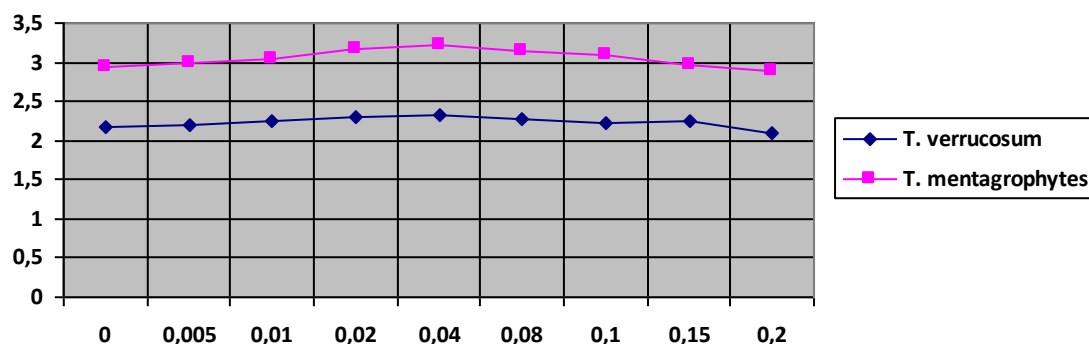


Рисунок. 4 – Зависимость линейной скорости роста (мм/сут) *T. verrucosum* и *T. mentagrophytes* от концентрации L-гистидина

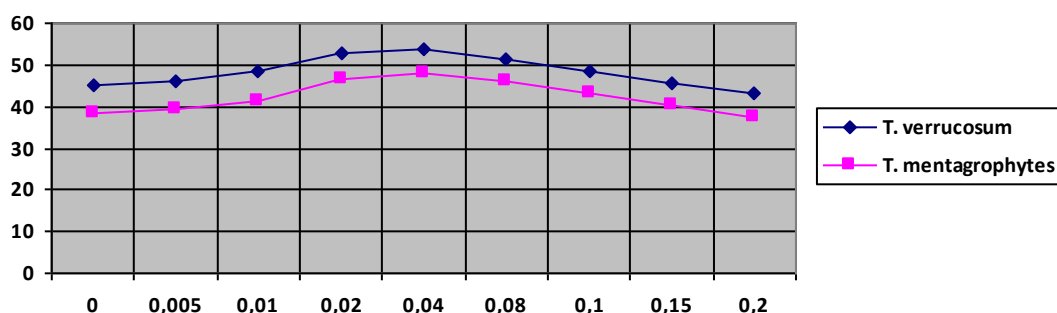


Рисунок 5 – Зависимость числа микроконидий (млн/см³) *T. verrucosum* и *T. mentagrophytes* от концентрации L-гистидина

Установлено, что L-гистидин оказывает умеренное стимулирующее действие на рост *T. mentagrophytes* при концентрациях 0,02-0,04 г/л, тогда как для *T. verrucosum* эффект менее выражен. При концентрациях выше 0,15 г/л наблюдается незначительное угнетение роста. Оптимальной концентрацией L-гистидина для включения в состав питательной среды является 0,02-0,04 г/л [17,18].

4. Влияние хлорамфеникола на чистоту культуры и рост дерматофитов. Результаты изучения эффективности различных концентраций хлорамфеникола представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Оценка эффективности различных концентраций хлорамфеникола при культивировании дерматофитов

Концентрация хлорамфеникола, г/л	Подавление видимого роста бактериальной флоры, %	Влияние на рост дерматофитов
0,000 (контроль)	0,0	рост нормальный
0,010	72,3	рост нормальный
0,025	100,0	рост нормальный
0,050	100,0	незначительное угнетение

Установлено, что концентрация 0,025 г/л полностью ингибирует рост бактерий без отрицательного влияния на дерматофиты. Повышение до 0,05 г/л вызывает незначительное угнетение ростовых процессов. Полученные данные согласуются с рекомендациями по применению хлорамфеникола в составе микробиологических сред [8-10].

5. Комплексное влияние изученных добавок. Следующим этапом явилось изучение комплексного влияния добавок при их совместном внесении в оптимально подобранных концентрациях (таблица 6; рисунки 6, 7).

Таблица 6 – Комплексное влияние добавок на ростовые показатели дерматофитов

Вариант опыта	<i>T. verrucosum</i> № 123	<i>T. mentagrophytes</i> № 244
Линейная скорость роста, мм/сут:		
Контроль (без добавок)	2,18 ± 0,09	2,95 ± 0,12
Глицерин (опт.)	2,80 ± 0,12*	3,78 ± 0,14*
Инозитол (опт.)	2,48 ± 0,10*	3,15 ± 0,11
L-гистидин (0,03 г/л)	2,31 ± 0,11	3,20 ± 0,12*
Хлорамфеникол (0,025 г/л)	2,21 ± 0,10	3,02 ± 0,13
Комплекс добавок	2,94 ± 0,12*	3,89 ± 0,15*
Число микроконидий, млн/см ³ :		
Контроль (без добавок)	45,2 ± 2,8	38,6 ± 2,5
Глицерин (опт.)	58,9 ± 3,1*	52,2 ± 2,9*

Инозитол (опт.)	73,0 ± 3,4*	45,8 ± 2,7
L-гистидин (0,03 г/л)	52,1 ± 3,0	47,5 ± 2,8*
Хлорамфеникол (0,025 г/л)	46,1 ± 2,9	39,4 ± 2,6
Комплекс добавок	80,2 ± 3,8*	58,6 ± 3,2*

*Примечание: * – $p < 0,05$ по сравнению с контролем.

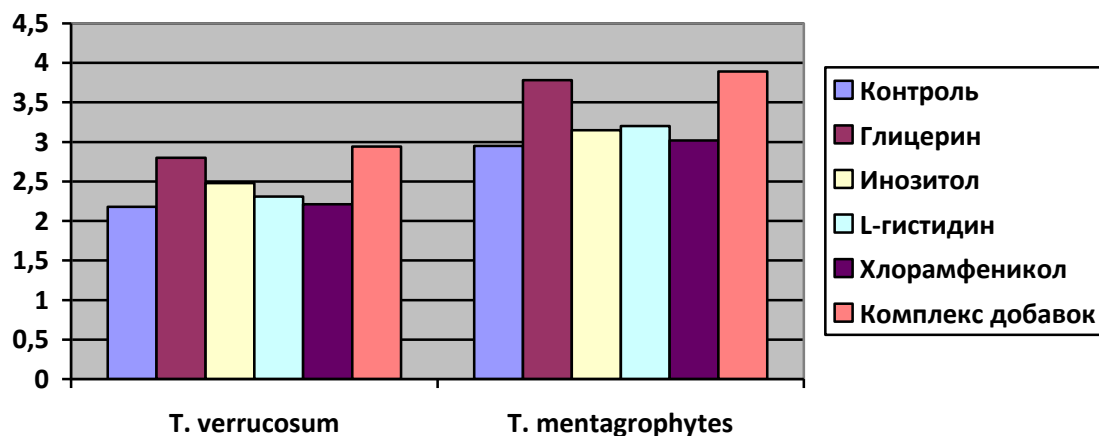


Рисунок 5 – Влияние отдельных добавок и их комплекса на линейную скорость роста (мм/сут) *T. verrucosum* и *T. mentagrophytes*

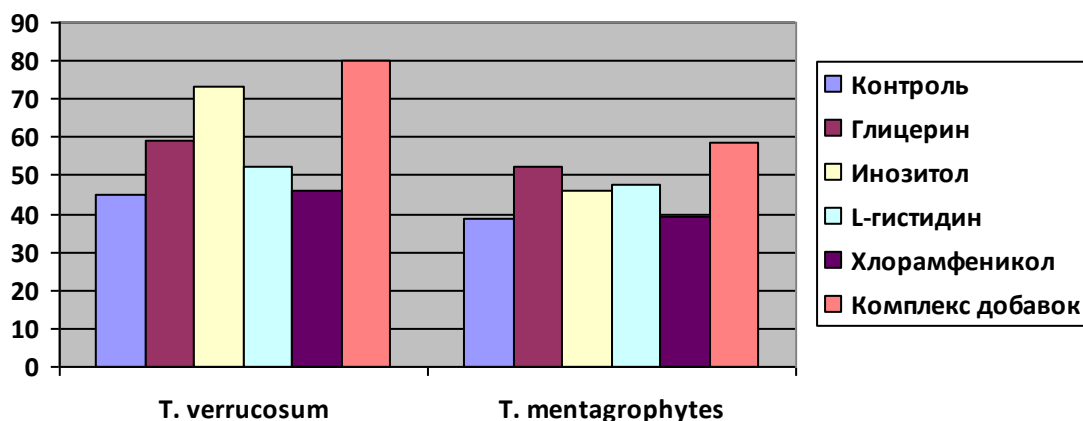


Рисунок 6 – Влияние отдельных добавок и их комплекса на число микроконидий (млн/см³) *T. verrucosum* и *T. mentagrophytes*

Комплексное использование всех добавок обеспечило максимальные значения ростовых показателей. Для *T. verrucosum* № 123 линейная скорость роста увеличилась на 34,9% (с 2,18 до 2,94 мм/сут), число микроконидий – на 77,4% (с 45,2 до 80,2 млн/см³). Для *T. mentagrophytes* №244 соответствующие показатели повысились на 31,9% и 51,8% соответственно. Суммарный выход микроконидий (усредненный показатель по двум штаммам) увеличился на 53,4%.

6. Практическое значение результатов. На основании проведенных исследований предлагаются следующие модификации базовой питательной среды.

1. Для культивирования *T. verrucosum* № 123: глицерин 1,5-2,0%, инозитол 0,02-0,03%, L-гистидин 0,02-0,04 г/л, хлорамфеникол 0,025 г/л.

2. Для культивирования *T. mentagrophytes* № 244: глицерин 2,0-2,5%, инозитол 0,02-0,03%, L-гистидин 0,02-0,04 г/л, хлорамфеникол 0,025 г/л.

3. Для совместного культивирования рекомендуется универсальный состав: глицерин 2,0%, инозитол 0,025%, L-гистидин 0,03 г/л, хлорамфеникол 0,025 г/л.

Обсуждение. Проведенные исследования позволяют сделать ряд важных выводов о механизмах действия изученных добавок и их влиянии на ростовые свойства питательной среды.

Роль глицерина. Глицерин, выступая в качестве дополнительного источника углерода, создает энергетический резерв для активного биосинтеза. Обнаруженные межвидовые различия в чувствительности к глицерину объясняются особенностями углеводного метаболизма каждого из видов дерматофитов. Полученные результаты согласуются с литературными данными о том, что глицерин является одним из наиболее часто используемых многоатомных спиртов в питательных средах для культивирования микромицетов [2, 3, 11].

Роль инозитола. Инозитол является критическим ростовым фактором для *T. verrucosum*, особенно в отношении спорообразования. Установлено, что инозитол, являясь структурным компонентом мембранных фосфолипидов, оптимизирует процессы спорогенеза. Полученные результаты хорошо коррелируют с классическими экспериментами, в которых было показано, что рост *T. verrucosum* наблюдается только при добавлении тиамин, тогда как совместное внесение инозитола и тиамин приводит к еще более выраженной стимуляции роста [4, 6, 7].

Роль L-гистидина. Влияние L-гистидина на рост дерматофитов оказалось умеренным. Установлено, что оптимальные концентрации лежат в диапазоне 0,02-0,04 г/л. При превышении этих концентраций наблюдается незначительное угнетение роста, что согласуется с литературными данными о том, что аминокислоты в низких концентрациях стимулируют рост, а в высоких могут ингибировать его. Для *T. Mentagrophytes* эффект оказался более выраженным, чем для *T. verrucosum*, что может быть связано с различными метаболическими потребностями этих видов [6, 11, 12].

Роль хлорамфеникола. Хлорамфеникол в концентрации 0,025 г/л полностью подавляет видимый рост бактериальной контаминирующей микрофлоры без отрицательного влияния на дерматофиты. Механизм действия связан со способностью хлорамфеникола связываться с 50S субъединицей рибосом бактерий, подавляя синтез бактериального белка. Важно отметить, что хлорамфеникол не оказывает фунгицидного действия, что делает его предпочтительным выбором для селективного культивирования грибной биомассы [8-10].

Синергизм добавок. При комплексном использовании изученных добавок наблюдается синергический эффект. По-видимому, глицерин создает энергетический резерв, инозитол участвует в биосинтезе мембранных фосфолипидов и оптимизирует процессы спорогенеза, L-гистидин обеспечивает дополнительный источник аминного азота, а хлорамфеникол защищает от бактериальной контаминации. Подобный синергизм также ранее отмечался рядом авторов при использовании комплексных добавок в средах для культивирования дерматофитов [2, 3, 11, 12].

Заключение. 1. Глицерин в концентрациях 1,5-2,0% оказывает выраженное стимулирующее действие на рост и продуктивность *T. verrucosum* №123, увеличивая линейную скорость роста на 27,5-28,4%, продуктивность мицелия - на 25,6-27,1% и индекс спорообразования – на 28,7-30,4%. Для *T. Mentagrophytes* №244 оптимальная концентрация глицерина составляет 2,0-2,5%, при которой индекс спорообразования повышается на 32,6-35,2%.

2. Инозитол является критическим ростовым фактором для *T. verrucosum*, особенно в отношении спорообразования. Оптимальная концентрация инозитола составляет 0,02-0,03%, при которой число микроконидий увеличивается на 51,3-61,5% по сравнению с контролем [4, 7].

3. L-гистидин в концентрациях 0,02-0,04 г/л оказывает умеренное стимулирующее действие на рост дерматофитов, особенно на *T. mentagrophytes*. При превышении оптимальных концентраций наблюдается незначительное угнетение роста.

4. Хлорамфеникол в концентрации 0,025 г/л полностью подавляет рост бактериальной контаминирующей микрофлоры без отрицательного влияния на рост дерматофитов. Данная концентрация является оптимальной для обеспечения стерильности культуры [9].

5. Комплексное использование глицерина (1,5-2,0% для *T. verrucosum* и 2,0-2,5% для *T. mentagrophytes*), инозитола (0,02-0,03%), L-гистидина (0,02-0,04 г/л) и хлорамфеникола (0,025 г/л) обеспечивает максимальный стимулирующий эффект, позволяя повысить суммарный выход микроконидий на 53,4 (для *T. verrucosum* – на 77,4%, для *T. Mentagrophytes* – на 51,8%) по сравнению со стандартным сусло-агаром.

Предложенная оптимизация состава сусло-агара позволяет существенно повысить эффективность культивирования производственных штаммов дерматофитов и может быть рекомендована для дальнейшей технологической апробации и валидации в производственных условиях при изготовлении вакцины ТВМ и других антидерматофитозных биопрепаратов [1].

Финансирование. Финансирование исследований осуществлялось производителем вакцины ТВМ ООО Фирма «БиоХимФарм», г. Владимир.

Благодарности. Авторы выражают благодарность сотрудникам ООО Фирма «БиоХимФарм» за предоставленные производственные штаммы дерматофитов и техническую поддержку при проведении исследований.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов. Формулировки выводов носят нейтральный характер и не являются рекламой конкретного препарата.

Литература.

1. СТО 9384-168-89767728-2015. Стандарт организации. Вакцина ТВМ. – ООО Фирма «БиоХимФарм», г. Радужный, 2018. – 24 с.
2. Зайцева В.В., Красочно И.А. Влияние состава плотной питательной среды на продуктивность дерматофитов // Экология и животный мир. – 2015. – № 1. – С. 53–59.
3. Зайцева В.В., Красочно И.А. Оптимизация выращивания дерматофитов на питательных средах разного состава // Ученые записки Витебской государственной академии ветеринарной медицины. – 2017. – Т. 53, № 2. – С. 78–82.
4. Robbins W.J., Mackinnon J.E., Ma R. Vitamin requirements of dermatophytes // Bulletin of the Torrey Botanical Club. – 1945. – Vol. 72. – P. 509–523. – DOI: 10.2307/2481615.
5. Balabanoff V.A., Strashilova M. Comparative physiological studies on saprophytic and pathogenic dermatophytes. II. Growth factors // Mykosen. – 1970. – Vol. 13, No. 10. – P. 499–504. – DOI: 10.1111/j.1439-0507.1970.tb00654.x.
6. Philpot C.M. The use of nutritional tests for the differentiation of dermatophytes // Sabouraudia. – 1977. – Vol. 15, No. 2. – P. 141–150. – DOI: 10.1080/00362177785190221.
7. Robbins W.J., Ma R. A growth factor for *Trichophyton verrucosum* // American Journal of Botany. – 1945. – Vol. 32. – P. 509.
8. Arendrup M.C., Guinea J., Meletiadis J., Jorgensen K.M. EUCAST susceptibility testing of *Trichophyton rubrum*: chloramphenicol and cycloheximide supplemented growth medium improve assay performance // Meeting Abstract. – 2018.
9. Патент РФ № 2275631. Способ диагностики дерматомикозов и питательная среда для дерматофитов. – 2006.
10. Алешкевич В.Н., Медведев А.П., Кулешов Д.Б. Стимуляция роста и размножения дерматофитов // Ветеринарный журнал Беларуси. – 2018. – № 1. – С. 41–45.
11. Зайцева В.В., Красочно И.А. Влияние компонентов микроорганизмов на продуктивность дерматофитов на сусло-агаре // Вестник Витебского государственного университета. – 2014. – № 8. – С. 45–51.
12. Aly R. Culture media for growing dermatophytes // Journal of the American Academy of Dermatology. – 1994. – Vol. 31, No. 3. – P. S107–S108. – DOI: 10.1016/S0190-9622(94)70277-0.

References

1. STO 9384-168-89767728-2015. Standart organizatsii. Vaksina TVM [Organization Standard. Vaccine TVM]. ООО Фирма «БиоХимФарм», г. Радужный, 2018. (In Russ.)
2. Zaitseva V.V., Krasochko I.A. (2015) Vliyanie sostava plotnoi pitatel'noi sredy na produktivnost' dermatofitov [Effect of solid nutrient medium composition on dermatophyte productivity]. *Ekologiya i zhivotnyi mir*, no. 1, pp. 53–59. (In Russ.)
3. Zaitseva V.V., Krasochko I.A. (2017) Optimizatsiya vyrashchivaniya dermatofitov na pitatel'nykh sredakh raznogo sostava [Optimization of dermatophyte cultivation on nutrient media of different composition]. *Uchenye zapiski Vitebskoi gosudarstvennoi akademii veterinarnoi meditsiny*, vol. 53, no. 2, pp. 78–82. (In Russ.)
4. Robbins W.J., Mackinnon J.E., Ma R. (1945) Vitamin requirements of dermatophytes. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, vol. 72, pp. 509–523. DOI: 10.2307/2481615.
5. Balabanoff V.A., Strashilova M. (1970) Comparative physiological studies on saprophytic and pathogenic dermatophytes. II. Growth factors. *Mykosen*, vol. 13, no. 10, pp. 499–504. DOI: 10.1111/j.1439-0507.1970.tb00654.x.
6. Philpot C.M. (1977) The use of nutritional tests for the differentiation of dermatophytes. *Sabouraudia*, vol. 15, no. 2, pp. 141–150. DOI: 10.1080/00362177785190221.
7. Robbins W.J., Ma R. (1945) A growth factor for *Trichophyton verrucosum*. *American Journal of Botany*, vol. 32, p. 509.
8. Arendrup M.C., Guinea J., Meletiadis J., Jorgensen K.M. (2018) EUCAST susceptibility testing of *Trichophyton rubrum*: chloramphenicol and cycloheximide supplemented growth medium improve assay performance. Meeting Abstract.
9. Patent RF № 2275631. Sposob diagnostiki dermatomikozov i pitatel'naya sreda dlya dermatofitov [Method for diagnosing dermatomycoses and culture medium for dermatophytes]. 2006. (In Russ.)
10. Aleshkevich V.N., Medvedev A.P., Kuleshov D.B. (2018) Stimulyatsiya rosta i razmnozheniya dermatofitov [Stimulation of growth and reproduction of dermatophytes]. *Veterinarnyi zhurnal Belarusi*, no. 1, pp. 41–45. (In Russ.)
11. Zaitseva V.V., Krasochko I.A. (2014) Vliyanie komponentov mikroorganizmov na produktivnost' dermatofitov na suslo-agare [Influence of microorganism components on dermatophyte productivity on wort agar]. *Vestnik Vitebskogo gosudarstvennogo universiteta*, no. 8, pp. 45–51. (In Russ.)
12. Aly R. (1994) Culture media for growing dermatophytes. *Journal of the American Academy of Dermatology*, vol. 31, no. 3, pp. S107–S108. DOI: 10.1016/S0190-9622(94)70277-0.

АРНАЙЫ ҚОСПАЛАРДЫҢ ДЕРМАТОФИТТЕРДІҢ ӨНДІРІСТІК ШТАМДАРЫН ӨСІРУ КЕЗІНДЕГІ СУСЛО-АГАРДЫҢ ӨСУ ҚАСИЕТТЕРІНЕ ӘСЕРІ

Ю.А. Костыркин *, О.В. Лысинская, Ю.В. Никитин, В.В. Шаповал

«БиоХимФарм» ЖШС Фирмасы, Владимир қ., Ресей

* ignatosyanag@gmail.com

Аннотация. *Trichophyton* туысына жататын дерматофиттер, ең алдымен *Trichophyton verrucosum*, ірі қара мал трихофитиясының негізгі қоздырғыштары болып табылады. Бұл микроорганизмдерді қатты қоректік орталарда өсіру бірқатар қиындықтармен байланысты: *T. verrucosum* штамдарының көпшілігі өсуі үшін витаминдерге қатаң қажеттілік танытады, олардың өсінділері қатар жүретін бактериялық микрофлорамен жиі контаминацияланады, ал стандартты қоректік орталарда биомасса мен споралар түзілуінің өнімділігі вакциналарды өнеркәсіптік өндіру үшін жеткіліксіз болып қалады.

Зерттеу мақсаты – өндірістік *Trichophyton verrucosum* және *Trichophyton mentagrophytes* штамдарын өсіру кезінде глицериннің, инозитолдың, L-гистидиннің және хлорамфениколдың сусло-агардың өсу қасиеттеріне әсерін бағалау.

Материалдар мен әдістер. Негізгі қоректік орта ретінде стандартты сусло-агар пайдаланылды. Тәжірибелік үлгілерге глицерин (0,5-2,5%), инозитол (0,005-0,1%), L-гистидин (0,005-0,2 г/л) және хлорамфеникол (0,01-0,05 г/л) қосылды. Өсу қасиеттері сызықтық өсу жылдамдығы, спора түзілу қарқындылығы және мицелий өнімділігі бойынша бағаланды.

Нәтижелер. 1,5-2,0% концентрациядағы глицерин *T. verrucosum* № 123 штаммының сызықтық өсу жылдамдығын бақылаумен салыстырғанда 28,3%-ға, ал мицелий өнімділігін 25,6%-ға арттырды. 0,02–0,03% концентрациядағы инозитол микроконидиялар санын 45,2-ден 73,0 млн/см³-ге дейін арттырды. 0,02-0,04 г/л концентрациядағы L-гистидин *T. mentagrophytes* өсуіне орташа ынталандырушы әсер көрсетті. 0,025 г/л концентрациядағы хлорамфеникол дерматофиттердің өсуін тежемей, контаминациялаушы бактериялық микрофлораның көзге көрінетін өсуін толық басып тастады. Қоспаларды кешенді қолдану стандартты сусло-агармен салыстырғанда микроконидиялардың жалпы шығымын 53,4%-ға арттырды.

Қорытынды. Сусло-агар құрамына глицеринді (*T. verrucosum* үшін 1,5-2,0% және *T. mentagrophytes* үшін 2,0-2,5%), инозитолды (0,02-0,03%), L-гистидинді (0,02-0,04 г/л) және хлорамфениколды (0,025 г/л) енгізу қоректік ортаның өсу қасиеттерін айтарлықтай жақсартуға, дерматофиттердің өндірістік дақылдарының өнімділігін арттыруға және бактериялық контаминациядан сенімді қорғауды қамтамасыз етуге мүмкіндік береді.

Түйінді сөздер: *Trichophyton verrucosum*; *Trichophyton mentagrophytes*; дерматофиттер; ірі қара мал трихофитиясы; қоректік орта; сусло-агар; глицерин; инозитол; L-гистидин; хлорамфеникол.

EFFECT OF SPECIFIC SUPPLEMENTS ON THE GROWTH PROPERTIES OF WORT AGAR DURING CULTIVATION OF PRODUCTION STRAINS OF DERMATOPHYTES

Yu.A. Kostyrkin *, O.V. Lysinskaya, Yu.V. Nikitin, V.V. Shapoval

BioKhimFarm LLC, Vladimir, Russia

* ignatosyanag@gmail.com

Abstract. Dermatophytes of the genus *Trichophyton*, particularly *Trichophyton verrucosum*, are the main causative agents of trichophytosis in cattle. Cultivation of these microorganisms on solid nutrient media is associated with several difficulties: most *T. verrucosum* strains have stringent vitamin requirements for growth, their cultures are frequently contaminated by bacterial microflora, and biomass and spore productivity on standard media remain insufficient for industrial vaccine production. Therefore, optimization of the basal wort agar medium through the addition of specific supplements that improve its growth-promoting properties is an important objective.

Objective. To evaluate the effects of glycerol, inositol, L-histidine, and chloramphenicol on the growth-promoting properties of wort agar during cultivation of production strains of *Trichophyton verrucosum* and *Trichophyton mentagrophytes*.

Materials and Methods. Standard wort agar was used as the basal medium. Experimental media were supplemented with glycerol (0.5-2.5%), inositol (0.005-0.1%), L-histidine (0.005-0.2 g/L), and chloramphenicol (0.01-0.05 g/L). Growth properties were assessed based on linear growth rate, sporulation intensity, and mycelial productivity.

Results. Glycerol at a concentration of 1.5-2.0% increased the linear growth rate of *T. verrucosum* strain No. 123 by 28.3% and mycelial productivity by 25.6% compared with the control. Inositol at a concentration of 0.02-0.03% increased the number of microconidia from 45.2 to 73.0 million/cm³. L-histidine at a concentration of 0.02-0.04 g/L exerted a moderate stimulatory

effect on the growth of *T. mentagrophytes*. Chloramphenicol at a concentration of 0.025 g/L completely inhibited visible growth of contaminating bacterial microflora without suppressing dermatophyte growth. The combined use of these additives increased the total yield of microconidia by 53.4% compared with standard wort agar.

Conclusion. Supplementation of wort agar with glycerol (1.5-2.0% for *T. verrucosum* and 2.0-2.5% for *T. mentagrophytes*), inositol (0.02-0.03%), L-histidine (0.02-0.04 g/L), and chloramphenicol (0.025 g/L) significantly improves the growth-promoting properties of the medium, increases the productivity of production dermatophyte cultures, and provides effective control of bacterial contamination.

Keywords: *Trichophyton verrucosum*; *Trichophyton mentagrophytes*; dermatophytes; cattle trichophytosis; culture medium; wort agar; glycerol; inositol; L-histidine; chloramphenicol.

ВЫБОР ОПТИМАЛЬНОЙ АДЬЮВАНТНОЙ СИСТЕМЫ ДЛЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АССОЦИИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ИНФЕКЦИОННОГО РИНОТРАХЕИТА И ВИРУСНОЙ ДИАРЕИ КРС: СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ НА МОДЕЛИ КРОЛИКОВ

А. Курмашева¹*, Ж. Саметова², Ж. Аманова², А. Үсембай³,
Р. Абитаев², Ш. Тұрыскелді², Д. Тоқтырова², Ж. Кондибаева²

¹НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», Алматы, Казахстан

²ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности»
Национальный холдинг «QazBioPharm», Гвардейский, Казахстан

³КГУ «Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И. Скрябина», Бишкек, Кыргызская Республика

[*kurmashevaalina3@gmail.com](mailto:kurmashevaalina3@gmail.com)

Аннотация. Инфекционный ринотрахеит (ИРТ) и вирусная диарея (ВД) крупного рогатого скота (КРС) относятся к числу наиболее распространенных вирусных инфекций, наносящих значительный экономический ущерб животноводству. Эффективность инаktivированных вакцин против данных заболеваний в значительной степени определяется выбором адьювантной системы, обеспечивающей формирование выраженного и продолжительного иммунного ответа. Целью настоящего исследования являлась сравнительная оценка физической стабильности, безопасности и иммуногенности экспериментальной ассоциированной инаktivированной вакцины против ИРТ и ВД КРС с различными коммерческими адьювантами Montanide® для обоснования выбора оптимальной адьювантной системы. Экспериментальные вакцины готовили на основе инаktivированных вирусосодержащих суспензий штамма «Р-93» вируса ИРТ и штамма «OregonC₂₄V» вируса ВД с использованием адьювантов Montanide ISA 70 VG, Montanide ISA 61 VG и Montanide GEL 01 PR. Физическую стабильность препаратов оценивали методом ускоренного термостатирования, а безопасность и иммуногенность – на модели кроликов после однократной внутримышечной иммунизации с определением титров вируснейтрализующих антител (ВНА) в реакции нейтрализации. Все исследованные вакцины сохраняли физическую стабильность в течение 10 суток термостатирования, не вызывали клинически значимых местных нежелательных реакций и характеризовались хорошей переносимостью. Наиболее высокие титры ВНА к обоим вирусам были зарегистрированы при использовании Montanide ISA 70 VG и Montanide GEL 01 PR, тогда как антигены без адьюванта индуцировали менее выраженный гуморальный иммунный ответ. Комплексная оценка позволила обосновать выбор Montanide ISA 70 VG в качестве наиболее перспективного адьюванта для дальнейшей разработки отечественной ассоциированной инаktivированной вакцины против ИРТ и ВД КРС.

Ключевые слова: инфекционный ринотрахеит крупного рогатого скота; вирусная диарея крупного рогатого скота; ассоциированная инаktivированная вакцины; адьюванты; Montanide; иммуногенность; вируснейтрализующие антитела; модель кроликов

Введение

Инфекционный ринотрахеит (ИРТ) и вирусная диарея (ВД) крупного рогатого скота (КРС) относятся к числу наиболее экономически значимых вирусных заболеваний,

оказывающих существенное влияние на мировое молочное и мясное скотоводство. Возбудитель ИРТ – бычий герпесвирус 1 типа (*Bovine alphaherpesvirus 1*, BoHV-1) – вызывает заболевания респираторной и репродуктивной систем [1]. Вирус ВД (*Bovine viral diarrhea virus*, BVDV) относящийся к роду *Pestivirus* семейства *Flaviviridae*, способен вызывать иммуносупрессию, репродуктивные нарушения, заболевания желудочно-кишечного тракта [2]. Экономический ущерб, обусловленный циркуляцией обоих вирусов, складывается из снижения продуктивности животных, затрат на лечение, ухудшения воспроизводительных показателей и ограничений международной торговли [3]. Особую проблему представляет сочетанная циркуляция BoHV-1 и BVDV в стадах КРС. Иммуносупрессивное действие BVDV значительно повышает восприимчивость животных к другим инфекционным агентам, включая BoHV-1, что приводит к более тяжелому клиническому течению заболевания и увеличению экономических потерь. Коинфекция сопровождается более выраженным поражением органов дыхания и репродуктивной системы, увеличением продолжительности вирусывыделения и усилением вторичных бактериальных осложнений [4]. Кроме того, установлена статистически значимая связь между инфицированием BVDV и повышенной серопозитивностью животных по BoHV-1, что подтверждает тесную эпизоотологическую взаимосвязь данных инфекций [5].

Для Республики Казахстан проблема ИРТ и ВД также остается актуальной. Согласно результатам сероэпизоотологического мониторинга, проведенного в различных регионах страны, антитела к BoHV-1 выявлены более чем у 45% исследованных животных [6], что свидетельствует о широком распространении инфекции среди поголовья КРС. Аналогично, исследования последних лет демонстрируют высокую серопозитивность животных к BVDV, достигающую более 90% в отдельных хозяйствах [7], что указывает на активную циркуляцию вируса и необходимость совершенствования мер специфической профилактики.

Наиболее эффективным методом контроля обеих инфекций остается вакцинация. В настоящее время в ветеринарной практике применяются живые аттенуированные и инаktivированные вакцины. Несмотря на способность живых вакцин индуцировать напряженный иммунный ответ, их применение ограничено возможностью остаточной вирулентности, риском использования у стельных животных и потенциальной рекомбинацией вакцинных штаммов. В связи с этим, инаktivированные вакцины рассматриваются как более безопасная альтернатива для программ массовой иммунизации, особенно в племенных и репродуктивных хозяйствах [8]. Одним из ключевых факторов, определяющих эффективность инаktivированных вакцин, является выбор адъюванта. Помимо усиления иммунного ответа, адъюванты оказывают влияние на стабильность препарата и выраженность местных поствакцинальных реакций. В ветеринарной вакцинологии широкое распространение получили адъюванты серии Montanide®, однако сравнительные данные об эффективности различных адъювантных систем при создании ассоциированных инаktivированных вакцин против ИРТ и ВД КРС, особенно применительно к отечественным разработкам, остаются ограниченными. В настоящее время производство отечественных вакцин против ИРТ и ВД КРС отсутствует. Их разработка позволит расширить ассортимент средств специфической профилактики, снизить стоимость вакцинации и снизить зависимость ветеринарной службы от импортных иммунобиологических препаратов. Целью настоящего исследования являлась сравнительная оценка физической стабильности, безопасности и иммуногенности экспериментальной вакцины против ИРТ и ВД КРС с различными коммерческими адъювантами Montanide® для обоснования выбора оптимальной адъювантной системы при разработке отечественного иммунопрепарата.

Материалы и методы

Вирусы, культуры клеток. В экспериментальных исследованиях использовали штамм «Р-93» вируса ИРТ и штамм «Oregon C₂₄V» вируса ВД, полученные из лаборатории «Коллекция микроорганизмов» ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» (НИИПББ), Республика Казахстан.

В качестве системы культивирования вирусов использовали перевиваемую культуру клеток MDBK (CCL-22™) и первично-трипсинизированную культуру клеток тестикул ягнят (ТЯ), полученные из лаборатории «Клеточная биотехнология» НИИПББ. Культивирование вирусов, получение вирусосодержащих суспензий (ВСС) и их химическую инактивацию проводили по ранее опубликованной методике без модификаций [9]. Биологическая активность ВСС до инактивации составляла $6,83 \pm 0,14 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$ для ВоНВ-1 и $5,33 \pm 0,14 \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{мл}$ для ВВДВ.

Приготовление экспериментальных вакцин. Инактивированные ВСС ВоНВ-1 и ВВДВ объединяли в объемном соотношении 1:1. Полученную антигенную смесь использовали для приготовления трех вариантов ассоциированной вакцины с различными адъювантами. Для приготовления экспериментальных вакцин использовали коммерческие адъюванты Montanide ISA 70 VG, Montanide ISA 61 VG и Montanide GEL 01 PR (SEPPIC, La Garenne-Colombes, France). ВСС соединяли с адъювантами в соотношениях, рекомендованных производителем (ISA 70 VG – 30:70, ISA 61 VG – 40:60; GEL 01 PR – 90: 10). При приготовлении вакцины с Montanide GEL 01 PR соединяли ВСС с адъювантом и перемешивали вручную до получения однородной консистенции. ВСС с адъювантами Montanide ISA 70 VG и Montanide ISA 61 VG эмульгировали с использованием роторно-статорного диспергатора с насадкой S 18 N – 19 G (IKA, Staufen, Germany) при скорости вращения 6000 об/мин в течение 60 мин до получения однородной эмульсии. Готовые вакцинные препараты асептически фасовали во флаконы объемом 100 мл, герметично укупоривали резиновыми пробками и хранили при температуре 2–8°C до использования.

Оценка физической стабильности вакцин. Физическую стабильность экспериментальных вакцин оценивали методом ускоренного термостатирования. Для исследования использовали по три флакона каждого варианта вакцины ($n = 3$). После выдерживания при комнатной температуре содержимое флаконов тщательно перемешивали. Из каждого флакона одной серии отбирали по 10 мл вакцины, объединяли в стерильном сосуде и пипетировали. Полученную смесь распределяли по трем стерильным сосудам, герметично укупоривали резиновыми пробками и помещали в термостат при температуре $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ на 10 суток. По окончании термостатирования оценивали физическую стабильность вакцинных эмульсий по наличию или отсутствию расслоения, изменению консистенции и сохранению однородности препарата.

Лабораторные животные и дизайн исследования. Исследование выполнено весной 2024 года на 15 клинически здоровых кроликах породы советская шиншилла в возрасте 4–6 месяцев массой 1,5–2,0 кг. До начала исследования все животные были серонегативными к ВоНВ-1 и ВВДВ, что подтверждали реакцией нейтрализации вируса (РН). Перед началом эксперимента животных выдерживали на карантине в течение 14 суток с ежедневным клиническим осмотром и термометрией. Кроликов содержали в условиях вивария при температуре воздуха 18–22°C, относительной влажности $55 \pm 10 \%$ и 12 часовом световом дне. Животные получали стандартный гранулированный полнорационный комбикорм и имели свободный доступ к воде (*ad libitum*).

Животных идентифицировали индивидуальными ушными бирками с номерами от 1 до 15. Распределение по экспериментальным группам осуществляли методом простой рандомизации с использованием онлайн-инструмента <http://castlots.org>. Кроликов случайным образом распределили на пять групп по три животных в каждой. Планирование эксперимента, формирование групп и представление результатов выполнены в соответствии с руководящими принципами ARRIVE 2.0 (Animal Research: Reporting of In Vivo Experiments).

Иммунизация животных. Перед применением экспериментальные вакцины тщательно встряхивали до получения однородной суспензии.

Животных однократно иммунизировали внутримышечно в заднюю конечность в дозе 1,0 мл. Кроликам первой группы вводили вакцину с адъювантом Montanide GEL 01 PR, второй группы – с Montanide ISA 70 VG, третьей группы – с Montanide ISA 61 VG.

Животным четвертой группы вводили инактивированную ВСС, содержащую объединенные антигены BoHV-1 и BVDV без добавления адъюванта, а пятой группе – физиологический раствор (таблица 1).

Таблица 1 – Экспериментальный дизайн исследования

Группа	Препарат	Адъювант	n	Доза	Путь введения
1	Ассоциированная вакцина	Montanide GEL 01 PR	3	1,0 мл	внутримышечно
2		Montanide ISA 70 VG			
3		Montanide ISA 61 VG			
4	Антигены без адъюванта	-			
5	Плацебо	-			

Клиническое наблюдение за животными проводили качественно (без стандартизированной шкалы оценки местных реакций) ежедневно в течение 21 суток после иммунизации. Для минимизации систематической ошибки исследователи, проводившие ежедневное клиническое наблюдение и оценку местных поствакцинальных реакций, не были осведомлены о принадлежности животных к экспериментальным группам (*single-blind design*).

Определение титров вируснейтрализующих антител (ВНА). Образцы крови отбирали у всех животных на 7-е, 14-е и 21-е сутки после иммунизации из краевой ушной вены в вакуумные пробирки с активатором свертывания и гелем. Затем, получали сыворотки крови, а титры ВНА к BoHV-1 и BVDV определяли в РН в культуре клеток MDBK и ТЯ в трех независимых повторности согласно [9]. Иммуногенность вакцин оценивали по уровню ВНА, титры выражали в $\log_2$, соответствующий максимальному двукратному разведению сыворотки, обеспечивающего полную нейтрализацию вируса. Защитными считали титры $\geq 3 \log_2$ [10].

Биоэтические аспекты. Все процедуры с лабораторными животными выполняли в соответствии с национальными требованиями по содержанию и использованию экспериментальных животных, а также рекомендациями AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals (2020). Исследование было одобрено Локальной комиссией по биоэтике ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» (протокол № 1 от 14 июля 2023 года).

По завершении эксперимента животных подвергали гуманной эвтаназии. Общую анестезию проводили внутримышечным введением кетамина в дозе 35 мг/кг массы тела и ксилазина в дозе 5 мг/кг массы тела. После подтверждения глубокой анестезии (отсутствие реакции на тактильную стимуляцию) внутрисердечно вводили раствор хлорида калия в дозе 150 мг/кг.

Статистическая обработка данных. Статистическую обработку результатов проводили с использованием программы GraphPad Prism версии 8.0.1 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA, USA). Титры ВНА переводили в логарифмы по основанию 2 ($\log_2$) и представляли в виде среднего значения (M) $\pm$ стандартного отклонения (SD). Поскольку численность животных в каждой экспериментальной группе была небольшой ($n = 3$), для сравнения титров ВНА к BoHV-1 и BVDV между группами (1, 2, 3 и 4) на 21-е сутки после вакцинации использовали непараметрический критерий Краскела–Уоллиса с последующим множественным сравнением по критерию Данна с поправкой Бонферрони. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$. Группа плацебо использовалась в качестве отрицательного контроля и в статистическое сравнение эффективности вакцин не включалась.

Результаты

Физическая стабильность экспериментальных вакцин. После приготовления, вакцины

с адъювантами Montanide ISA 70 VG и Montanide ISA 61 VG представляли собой однородные эмульсии желтовато-белого цвета с осадком розового цвета без видимых механических включений. Вакцина, приготовленная с использованием Montanide GEL 01 PR, имела вид однородной суспензии оранжевого цвета (рисунок 1).

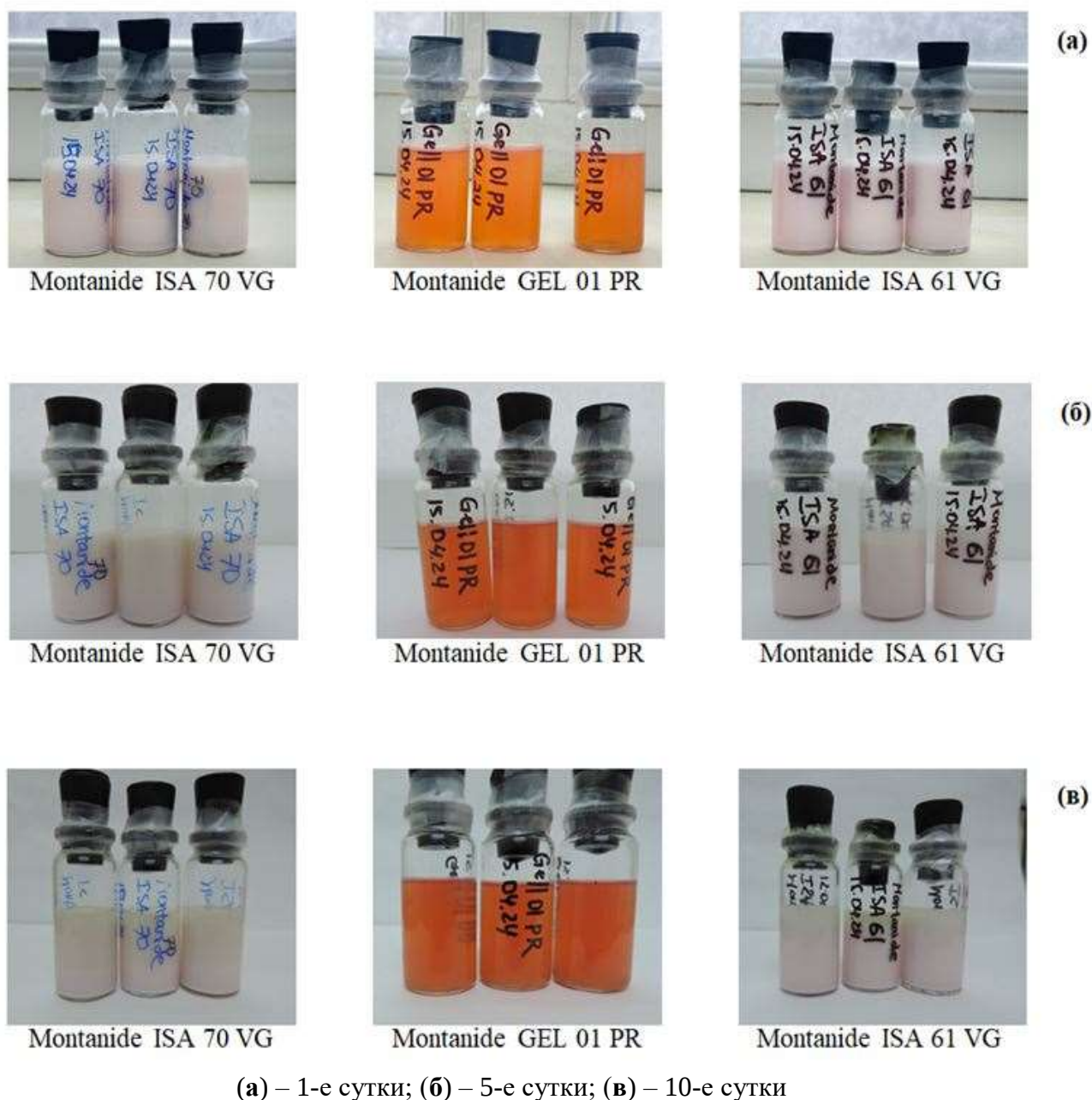


Рисунок 1 – Оценка физической стабильности экспериментальных вакцин с различными адъювантами методом ускоренного термостатирования.

В течение 10 суток ускоренного термостатирования при температуре $(37 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ ни в одном из исследуемых образцов не выявлено признаков нарушения физической стабильности. Во всех вакцинах сохранялись однородность эмульсии, исходная консистенция и цвет. Выпадения осадка, образования прозрачной водной фазы или расслоения эмульсии не наблюдали. Полученные результаты свидетельствуют о том, что все исследованные адъювантные системы обеспечивали получение физически стабильных вакцинных препаратов в течение всего периода испытания.

Клиническое состояние животных после вакцинации. В течение 21 суток после иммунизации все кролики сохраняли удовлетворительное общее состояние. Температура тела животных находилась в пределах физиологической нормы в диапазоне 35,6–39,3 °С и не сопровождалась клиническими признаками лихорадки или угнетения. На протяжении всего периода наблюдения у животных всех экспериментальных групп местных поствакцинальных реакций в области введения препарата (отек, гиперемия) не зарегистрировано. У одного кролика, иммунизированного вакциной с адъювантом Montanide ISA 70 VG, на четвертые сутки наблюдали незначительную слизь из глаз, которое самостоятельно исчезло без какого-либо лечения в течение последующих суток и не сопровождалось изменением общего состояния животного. Таким образом, применение всех исследованных вариантов вакцины характеризовалось хорошей переносимостью и отсутствием клинически значимых местных или системных нежелательных реакций.

Иммуногенность экспериментальных вакцин. До вакцинации, а также на 7-е и 14-е сутки после иммунизации ВНА к BoHV-1 и BVDV в сыворотках крови животных не выявлялись. Результаты 21 суток представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Титры ВНА на 21-е сутки после вакцинации

Группа	Адъювант	BoHV-1 ($\log_2$, $M \pm SD$)	BVDV ($\log_2$, $M \pm SD$)
1	Montanide GEL 01 PR	$3,67 \pm 0,58$	$4,00 \pm 0,00$
2	Montanide ISA 70 VG	$3,33 \pm 0,58$	$3,67 \pm 0,58$
3	Montanide ISA 61 VG	$2,67 \pm 0,58$	$3,00 \pm 0,00$
4	Без адъюванта	$2,00 \pm 0,00$	$1,67 \pm 0,58$
5	Плацебо	0	0

Для объективной оценки влияния различных адъювантных систем на уровень гуморального иммунного ответа выполнено статистическое сравнение титров ВНА между вакцинированными группами. Критерий Краскела–Уоллиса выявил статистически значимые различия между исследуемыми вариантами вакцин как при определении антител к BoHV-1 ($H = 8,17$; $df = 3$; $p = 0,043$), так и к BVDV ($H = 8,52$; $df = 3$; $p = 0,036$). Однако при последующих множественных попарных сравнениях по критерию Данна статистически значимых различий между группами после поправки на множественные сравнения не установлено ($p > 0,05$). Несмотря на отсутствие статистически значимых различий при попарном сравнении, наиболее высокие средние титры ВНА к обоим вирусам были зарегистрированы у животных, иммунизированных вакцинами с адъювантами Montanide GEL 01 PR и Montanide ISA 70 VG. Вакцина без адъюванта индуцировала наиболее низкий уровень гуморального иммунного ответа. Применение Montanide ISA 61 VG обеспечивало несколько менее выраженный гуморальный иммунный ответ, но согласно критериям оценки иммуногенности ($\geq 3 \log_2$), не соответствовало требованиям по минимальному защитному уровню. Данный порог был использован как ориентировочный критерий, экстраполированный из исследований КРС

Обсуждение. Разработка современных инактивированных вакцин против ИРТ и ВД КРС представляет собой многоэтапный процесс, включающий не только подбор антигенного состава, но и оптимизацию адъювантной системы о которой в значительной степени зависят стабильность препарата, его безопасность и выраженность индуцируемого иммунного ответа.

Одним из критериев, определяющих качество инактивированной вакцины, является ее физическая стабильность. Для эмульсионных препаратов нарушение структуры эмульсии сопровождается изменением дисперсной фазы, снижением воспроизводимости дозирования и, как следствие, уменьшением эффективности вакцинации. Поэтому испытания методом ускоренного термостатирования широко используются как один из обязательных этапов предварительной оценки вакцинных препаратов. В настоящем исследовании ни одна из

исследуемых экспериментальных вакцин не продемонстрировала признаков расслоения, выпадения осадка или образования свободной водной фазы в течение 10 суток термостатирования. Полученные результаты свидетельствуют о том, что как эмульсионные адъюванты Montanide ISA 70 VG и Montanide ISA 61 VG, так и полимерный адъювант Montanide GEL 01 PR обеспечивают получение физически стабильных вакцинных препаратов.

Не менее важным этапом является оценка безопасности экспериментальных вакцин. В настоящем исследовании все экспериментальные препараты характеризовались хорошей переносимостью. На протяжении всего периода наблюдения не зарегистрировано местных воспалительных реакций, снижения аппетита, угнетения или других признаков системного воздействия вакцин. Единственным отклонением стало кратковременная слезь из глаза у одного животного, иммунизированного вакциной с Montanide ISA 70 VG, которая самостоятельно исчезла без какого-либо лечения и не сопровождалась изменением общего состояния. Полученные результаты хорошо согласуются с литературными данными, согласно которым современные адъюванты Montanide характеризуются благоприятным профилем безопасности при использовании в составе ветеринарных вакцин против различных инфекционных заболеваний [11, 12].

Следует отметить, что после завершения оценки физической стабильности и переносимости существенных различий между исследуемыми вариантами вакцин выявлено не было. Все три адъювантные системы удовлетворяли требованиям, предъявляемым к экспериментальным препаратам на этапе лабораторной разработки. В связи с этим иммуногенность стала тем критерием, который определял дальнейший выбор оптимального адъюванта.

Использование кроликов в качестве модели для первичной оценки вакцинных препаратов представляется обоснованным и соответствует современным экспериментальным подходам. Кролики успешно применяются при изучении иммуногенности как инаktivированных, так и субъединичных, рекомбинантных и векторных вакцин против герпесвирусных инфекций КРС благодаря способности формировать выраженный гуморальный иммунный ответ [13, 14, 15]. Вместе с тем данная модель предназначена, прежде всего, для сравнительной оценки экспериментальных вакцинных образцов и не заменяет исследований у целевого вида животных. Следовательно уровень ВНА у кроликов не может напрямую рассматриваться как показатель продолжительности и степени защиты КРС.

В отличие от живых вирусных препаратов, инаktivированные антигены практически не способны самостоятельно индуцировать полноценный врожденный иммунный ответ, поэтому эффективность подобных вакцин во многом определяется способностью адъюванта усиливать презентацию антигена и последующую стимуляцию В-лимфоцитов [16]. Традиционно наиболее выраженный гуморальный иммунный ответ связывают с масляными эмульсиями типа «вода в масле». Их эффективность объясняется формированием длительного депо антигена в месте введения и постепенным его высвобождением, что обеспечивает продолжительную стимуляцию иммунной системы [17]. Так, например, в исследованиях Балашова и др. [18] вакцина против бешенства собак на основе ISA 70 VG индуцировала уровень ВНА более чем в 2 раза выше, чем вакцина на основе Montanide GEL 01. В настоящем исследовании результаты РН показали, что включение любого из исследованных адъювантов сопровождалось более интенсивным образованием ВНА по сравнению с препаратом, не содержащим адъюванта. Более высокие средние титры ВНА к обоим вирусам были зарегистрированы после применения вакцин с Montanide GEL 01 PR и Montanide ISA 70 VG. Несколько менее выраженный иммунный ответ наблюдался при использовании Montanide ISA 61 VG. Однако этот результат ISA 61 VG не следует интерпретировать как свидетельство более низкой иммунологической активности данного адъюванта. Напротив, многочисленные исследования демонстрируют его высокую эффективность при создании ветеринарных вакцин различного назначения [12, 19].

Возможно, в наших исследованиях эффективность адъюванта определяется не только его физической природой, но и другими особенностями. Вероятнее всего различия обусловлены особенностями состава исследуемой вакцины, включающей комбинацию двух вирусных антигенов, их концентрацией, а также особенностями иммунного ответа породы лабораторных кроликов.

Следует учитывать и ограничения настоящего исследования.

1. Работа выполнена на ограниченном количестве лабораторных животных ($n = 3$ на группу). Статистический анализ подтвердил наличие общего влияния типа адъювантной системы на уровень гуморального иммунного ответа, но статистически значимых различий при попарном сравнении не выявлено, что ограничивает статистическую мощность исследования.

2. Иммунный ответ оценивали только по уровню ВНА без определения показателей клеточного иммунитета и длительности поствакцинальной защиты.

Однако подобный дизайн полностью соответствовал поставленной задаче – выбору оптимального состава экспериментальной вакцины на этапе лабораторной разработки.

Несмотря на несколько более высокие средние титры антител, зарегистрированные при использовании Montanide GEL 01 PR, статистически значимых различий между группами Montanide GEL 01 PR и Montanide ISA 70 VG выявлено не было. Стоит отметить, что масляные эмульсионные адъюванты, в частности серии Montanide ISA, широко применяются при производстве коммерческих ветеринарных вакцин. Этот дополнительный критерий послужил основанием для выбора Montanide ISA 70 VG при дальнейшей разработке ассоциированной вакцины против ИРТ и ВД КРС, эффективность которой впоследствии была подтверждена при испытаниях на целевом виде животных при формировании длительного гуморального иммунитета [20] и обеспечении колюстральной защиты телят [9]. Таким образом, проведенное исследование показывает, что выбор адъювантной системы должен основываться не на одном показателе, а на комплексной оценке.

Заключение. В настоящем исследовании проведена сравнительная оценка экспериментальных вариантов ассоциированной инактивированной вакцины против ИРТ и ВД КРС, содержащих различные коммерческие адъюванты. Установлено, что все исследованные адъювантные системы обеспечивали получение физически стабильных образцов вакцин, сохранявших однородность и отсутствие признаков расслоения в условиях ускоренного термостатирования, а также характеризовались хорошей переносимостью при однократном внутримышечном введении кроликам. Включение адъювантов в состав вакцины сопровождалось более выраженной индукцией ВНА по сравнению с препаратом без адъюванта, что подтверждает их ключевую роль в формировании гуморального иммунного ответа при использовании инактивированных вакцин. Комплексная оценка позволила обосновать выбор Montanide ISA 70 VG в качестве наиболее перспективного адъюванта для дальнейшей разработки отечественной ассоциированной инактивированной вакцины против ИРТ и ВД КРС, что имеет практическое значение в ветеринарном секторе страны.

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке Комитета науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (BR218004/0223).

Благодарности: Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории «Технологии культивирования микроорганизмов», «Клеточной биотехнологии» и «Коллекции микроорганизмов», за оказанную помощь при выполнении НИР по теме статьи.

Конфликт интересов: Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Булатов Е.А., Курмашева А.К. Инфекционный ринотрахеит крупного рогатого скота: краткий обзор // Биобезопасность и Биотехнология. – 2024. – № 18. – С. 19-43. <https://doi.org/10.58318/2957-5702-2024-18-19-43>.

2. Cui H., Ren B., Wang L., Chen J., Li J., Hu W., Yang Y. Enhanced pathogenicity and synergistic effects of co-infection with bovine viral diarrhea virus 1 and HoBi-like virus in cattle and guinea pigs // *Front. Vet. Sci.* – 2024. – Vol. 11. – P. 1464745. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1464745>.
3. Newcomer B.W., Walz P.H., Givens M.D., Wilson A.E. Efficacy of bovine viral diarrhea virus vaccination to prevent reproductive disease: A meta-analysis // *Theriogenology*. – 2015. – Vol. 83 (3). – P. 360–365.e1. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.09.028>.
4. Hou Z., Wang J., Tan B., Zhang S. A systematic study of bovine viral diarrhoea virus co-infection with other pathogens // *Viruses*. – 2025. – Vol. 17 (5). – P. 700. <https://doi.org/10.3390/v17050700>.
5. Barrett D., Lane E.A., Lozano J.M., O'Keeffe K., Byrne A.W. Bovine herpes virus type 1 (BoHV-1) seroprevalence, risk factor and bovine viral diarrhoea (BVD) co-infection analysis from Ireland // *Sci. Rep.* – 2024. – Vol. 14 (1). – P. 867. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-50433-5>.
6. Омарова Г., Байкадамова Г., Аканова Ж., Асауова Ж. Серопревалентность инфекционного ринотрахеита крупного рогатого скота в Казахстане: динамика распространения в 2021-2022 годах // *3i: intellect, idea, innovation – интеллект, идея, инновация*. – 2024. – № 4. – С. 16–23. https://doi.org/10.52269/22266070_2024_4_16.
7. Башенова Э., Нисанова Р., Жармухаметова А., Акшалова П., Сериков М., Маманова С., Кирпиченко В. Отбор высокопозитивных образцов сыворотки крови от крупного рогатого скота, инфицированного вирусной диареей // *Евразийский журнал прикладной биотехнологии*. – 2024. – № 3. – С. 66–72. <https://doi.org/10.11134/btp.3.2024.7>.
8. Smith B.I., Rieger R.H., Dickens C.M., Schultz R.D., Aceto H. Anti-bovine herpesvirus and anti-bovine viral diarrhea virus antibody responses in pregnant Holstein dairy cattle following administration of a multivalent killed virus vaccine // *Am. J. Vet. Res.* – 2015. – Vol. 76 (10). – P. 913–920. <https://doi.org/10.2460/ajvr.76.10.913>.
9. Bulatov Y., Kurmasheva A., Amanova Z., Abitaev R., Sametova Z., Kyrgyzbayeva A., Kondybaeva Z., Turyskeldi S., Ussembay A., Toktyrova D., Mazbayeva D., Shayakhmetov Y., Kerimbayev A., Khussainov D., Wentao M., Rsaliyev A., Abduraimov Y. The Influence of the associated inactivated vaccine against infectious rhinotracheitis and bovine viral diarrhea on the formation and duration of colostral immunity in kazakh whiteheaded calves // *Vaccines*. – 2025. – Vol. 13(4) – P. 408. <https://doi.org/10.3390/vaccines13040408>.
10. Frey M.L. One year antibody responses of four inactivated infectious bovine rhinotracheitis-bovine viral diarrhea vaccines // *Bov. Pract.* – 1989. – Vol. 24. – P. 18–21. <https://doi.org/10.21423/bovine-vol0no24p18-21>.
11. Ahmed D.A.A., Sadiek Y., Eldin M.S., Ibrahim R.S., Amen O., Abodalal S.E.S.A. Evaluation of comparative effect between aluminum hydroxide gel and montanide (ISA 70) in potency and protection of locally prepared rabbit hemorrhagic disease virus 2 (RHDV2) vaccines in rabbits // *BMC Vet. Res.* – 2024. – Vol. 20 (1). – P. 407. <https://doi.org/10.1186/s12917-024-04239-w>.
12. Fegan J.E., Waeckerlin R.C., Tesfaw L., Islam E.A., Deresse G., Dufera D., Assefa E., Woldemedhin W., Legesse A., Akalu M., Bayissa B., Nguyen Q.H., Ng D., Ahn S.K., Schryvers A.B., Tefera T.A., Moraes T.F., Gray-Owen S.D. Developing a PmSLP3-based vaccine formulation that provides robust long-lasting protection against hemorrhagic septicemia-causing serogroup B and E strains of *Pasteurella multocida* in cattle // *Front. Immunol.* – 2024. – Vol. 15. – P. 1392681. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1392681>.
13. Zhang S., Zhang Y., Liu G., Wang C., Ji Y., Chen J., Hu C., Chen X., Guo A., Chen Y. The safety and protective efficacy evaluation of an attenuated *M. bovis*-BoHV-1 bivalent vaccine in rabbits // *Vaccines*. – 2023. – Vol. 11 (11). – P. 1698. <https://doi.org/10.3390/vaccines11111698>.
14. Ruiz-Sáenz J., Jaime J., Vera V. An inactivated vaccine from a field strain of bovine herpesvirus-1 (BoHV-1) has high antigenic mass and induces strong efficacy in a rabbit model // *Virol. Sin.* – 2013. – Vol. 28 (1). – P. 36–42. <https://doi.org/10.1007/s12250-013-3283-z>.
15. Donofrio G., Cavirani S., Vanderplasschen A., Gillet L., Flammini C.F. Recombinant

bovine herpesvirus 4 (BoHV-4) expressing glycoprotein D of BoHV-1 is immunogenic and elicits serum-neutralizing antibodies against BoHV-1 in a rabbit model // *Clin. Vaccine Immunol.* – 2006. – Vol. 13 (11). – P. 1246–1254. <https://doi.org/10.1128/CVI.00200-06>.

16. Yao Y., Zhang Z., Yang Z. The combination of vaccines and adjuvants to prevent the occurrence of high incidence of infectious diseases in bovine // *Front. Vet. Sci.* – 2023. – Vol. 10. – P. 1243835. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1243835>.

17. Jansen T., Hofmans M., Theelen M., Schijns V. Structure–activity relations of water-in-oil vaccine formulations and induced antigen-specific antibody responses // *Vaccine.* – 2005. – Vol. 23 (8). – P. 1053–1060. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2004.08.023>.

18. Балашов А.Н., Доронин М.И., Борисов А.В., Лозовой Д.А., Михалишин Д.В., Стариков В.А. Изучение гуморального иммунитета собак при использовании антирабических инактивированных вакцин, изготовленных с применением адъювантов Montanide ISA 70 VG и GEL 01 // *Ветеринария сегодня.* – 2020. – № 1 (32). – С. 25–30. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2020-1-32-25-30>.

19. Khorasani A., Madadgar O., Soleimanjahi H., Keyvanfar H., Mahravani H. Evaluation of the efficacy of a new oil-based adjuvant ISA 61 VG FMD vaccine as a potential vaccine for cattle // *Iran. J. Vet. Res.* – 2016. – Vol. 17 (1). – P. 8–12. <https://doi.org/10.22099/IJVR.2016.3596>.

20. Bulatov Y., Sametova Z., Abitayev R., Kyrgyzbayeva A., Ussembay A., Kondibaeva Z., Amanova Z., Turyskeldy S., Toktyrova D., Mazbayeva D., Shorayeva K., Jekebekov K., Zhugunissov K., Barakbayev K., Kerimbayev A., Rsaliyev A., Abduraimov Y., Kurmasheva A. Duration of immunity against infectious rhinotracheitis and bovine viral diarrhea after vaccination in calves in southern region of Kazakhstan // *Front. Vet. Sci.* – 2025. – Vol. 12. – P. 1681624. <https://doi.org/10.3389/fvets.2025.1681624>.

References

1. Bulatov E.A., Kurmasheva A.K. (2024) Infekcionnyj rinotraheit krupnogo rogatogo skota: kratkij obzor [Infectious bovine rhinotracheitis: a brief overview]. *Biosafety and Biotechnology*, no 18, pp. 19-43. <https://doi.org/10.58318/2957-5702-2024-18-19-43>.

2. Cui H., Ren B., Wang L., Chen J., Li J., Hu W., Yang Y. Enhanced pathogenicity and synergistic effects of co-infection with bovine viral diarrhea virus 1 and HoBi-like virus in cattle and guinea pigs // *Front. Vet. Sci.* – 2024. – Vol. 11. – P. 1464745. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1464745>.

3. Newcomer B.W., Walz P.H., Givens M.D., Wilson A.E. Efficacy of bovine viral diarrhea virus vaccination to prevent reproductive disease: A meta-analysis // *Theriogenology.* – 2015. – Vol. 83 (3). – P. 360–365.e1. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2014.09.028>.

4. Hou Z., Wang J., Tan B., Zhang S. A systematic study of bovine viral diarrhoea virus co-infection with other pathogens // *Viruses.* – 2025. – Vol. 17 (5). – P. 700. <https://doi.org/10.3390/v17050700>.

5. Barrett D., Lane E.A., Lozano J.M., O'Keeffe K., Byrne A.W. Bovine herpes virus type 1 (BoHV-1) seroprevalence, risk factor and bovine viral diarrhoea (BVD) co-infection analysis from Ireland // *Sci. Rep.* – 2024. – Vol. 14 (1). – P. 867. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-50433-5>.

6. Omarova G., Bajkadamova G., Akanova ZH., Asauova ZH. (2024) Seroprevalentnost' infekcionnogo rinotraheita krupnogo rogatogo skota v Kazahstane: dinamika rasprostraneniya v 2021-2022 godah [Seroprevalence of infectious bovine rhinotracheitis in Kazakhstan: propagation dynamics in 2021-2022]. *3i: intellect, idea, innovation*, no 4, pp. 16–23. https://doi.org/10.52269/22266070_2024_4_16.

7. Bashenova E., Nisanova R., Zharmuhametova A., Akshalova P., Serikov M., Mamanova S., Kirpichenko V. (2024) Otbor vysokopozitivnyh obrazcov syvorotki krovi ot krupnogo rogatogo skota, inficirovannogo virusnoj diareej [Selection of strong positive serum samples from cattle infected with bovine viral diarrhea]. *Eurasian Journal of Applied Biotechnology*, no 3, pp. 66–72. <https://doi.org/10.11134/btp.3.2024.7>.

8. Smith B.I., Rieger R.H., Dickens C.M., Schultz R.D., Aceto H. Anti-bovine herpesvirus and anti-bovine viral diarrhea virus antibody responses in pregnant Holstein dairy cattle following administration of a multivalent killed virus vaccine // *Am. J. Vet. Res.* – 2015. – Vol. 76 (10). – P. 913–920. <https://doi.org/10.2460/ajvr.76.10.913>.
9. Bulatov Y., Kurmasheva A., Amanova Z., Abitayev R., Sametova Z., Kyrgyzbayeva A., Kondybaeva Z., Turyskeldi S., Ussembay A., Toktyrova D., Mazbayeva D., Shayakhmetov Y., Kerimbayev A., Khussainov D., Wentao M., Rsaliyev A., Abduraimov Y. The Influence of the associated inactivated vaccine against infectious rhinotracheitis and bovine viral diarrhea on the formation and duration of colostral immunity in kazakh whiteheaded calves // *Vaccines*. – 2025. – Vol. 13(4) – P. 408. <https://doi.org/10.3390/vaccines13040408>.
10. Frey M.L. One year antibody responses of four inactivated infectious bovine rhinotracheitis-bovine viral diarrhea vaccines // *Bov. Pract.* – 1989. – Vol. 24. – P. 18–21. <https://doi.org/10.21423/bovine-vol0no24p18-21>.
11. Ahmed D.A.A., Sadiq Y., Eldin M.S., Ibrahim R.S., Amen O., Abodalal S.E.S.A. Evaluation of comparative effect between aluminum hydroxide gel and montanide (ISA 70) in potency and protection of locally prepared rabbit hemorrhagic disease virus 2 (RHDV2) vaccines in rabbits // *BMC Vet. Res.* – 2024. – Vol. 20 (1). – P. 407. <https://doi.org/10.1186/s12917-024-04239-w>.
12. Fegan J.E., Waeckerlin R.C., Tesfaw L., Islam E.A., Deresse G., Dufera D., Assefa E., Woldemedhin W., Legesse A., Akalu M., Bayissa B., Nguyen Q.H., Ng D., Ahn S.K., Schryvers A.B., Tefera T.A., Moraes T.F., Gray-Owen S.D. Developing a PmSLP3-based vaccine formulation that provides robust long-lasting protection against hemorrhagic septicemia-causing serogroup B and E strains of *Pasteurella multocida* in cattle // *Front. Immunol.* – 2024. – Vol. 15. – P. 1392681. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1392681>.
13. Zhang S., Zhang Y., Liu G., Wang C., Ji Y., Chen J., Hu C., Chen X., Guo A., Chen Y. The safety and protective efficacy evaluation of an attenuated *M. bovis*-BoHV-1 bivalent vaccine in rabbits // *Vaccines*. – 2023. – Vol. 11 (11). – P. 1698. <https://doi.org/10.3390/vaccines11111698>.
14. Ruiz-Sáenz J., Jaime J., Vera V. An inactivated vaccine from a field strain of bovine herpesvirus-1 (BoHV-1) has high antigenic mass and induces strong efficacy in a rabbit model // *Virol. Sin.* – 2013. – Vol. 28 (1). – P. 36–42. <https://doi.org/10.1007/s12250-013-3283-z>.
15. Donofrio G., Cavirani S., Vanderplasschen A., Gillet L., Flammini C.F. Recombinant bovine herpesvirus 4 (BoHV-4) expressing glycoprotein D of BoHV-1 is immunogenic and elicits serum-neutralizing antibodies against BoHV-1 in a rabbit model // *Clin. Vaccine Immunol.* – 2006. – Vol. 13 (11). – P. 1246–1254. <https://doi.org/10.1128/CLV.00200-06>.
16. Yao Y., Zhang Z., Yang Z. The combination of vaccines and adjuvants to prevent the occurrence of high incidence of infectious diseases in bovine // *Front. Vet. Sci.* – 2023. – Vol. 10. – P. 1243835. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1243835>.
17. Jansen T., Hofmans M., Theelen M., Schijns V. Structure–activity relations of water-in-oil vaccine formulations and induced antigen-specific antibody responses // *Vaccine*. – 2005. – Vol. 23 (8). – P. 1053–1060. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2004.08.023>.
18. Balashov A.N., Doronin M.I., Borisov A.V., Lozovoj D.A., Mihalishin D.V., Starikov V.A. (2020) Izuchenie gumoral'nogo immuniteta sobak pri ispol'zovanii antirabicheskikh inaktivirovannykh vakcin, izgotovlennykh s primeneniem ad'yuvantov Montanide ISA 70 VG i GEL 01 [Studies on humoral immunity in dogs after use of rabies inactivated vaccines formulated with Montanide ISA 70 VG and GEL 01 adjuvants]. *Veterinary Science Today*, no 1 (32), pp. 25–30. <https://doi.org/10.29326/2304-196X-2020-1-32-25-30>.
19. Khorasani A., Madadgar O., Soleimanjahi H., Keyvanfar H., Mahravani H. Evaluation of the efficacy of a new oil-based adjuvant ISA 61 VG FMD vaccine as a potential vaccine for cattle // *Iran. J. Vet. Res.* – 2016. – Vol. 17 (1). – P. 8–12. <https://doi.org/10.22099/IJVR.2016.3596>.
20. Bulatov Y., Sametova Z., Abitayev R., Kyrgyzbayeva A., Ussembay A., Kondybaeva Z., Amanova Z., Turyskeldy S., Toktyrova D., Mazbayeva D., Shorayeva K., Jekebekov K., Zhugunissov K., Barakbayev K., Kerimbayev A., Rsaliyev A., Abduraimov Y., Kurmasheva A.

ІРІ ҚАРА МАЛДЫҢ ЖҰҚПАЛЫ РИНОТРАХЕИТІ МЕН ВИРУСТЫҚ ДИАРЕЯСЫНА ҚАРСЫ ЭКСПЕРИМЕНТТІК ҚАУЫМДАСТЫРЫЛҒАН ВАКЦИНАНЫҢ ОҢТАЙЛЫ АДЬЮВАНТТЫҚ ЖҮЙЕСІН ТАҢДАУ: ҚОЯНДАР МОДЕЛІНДЕГІ САЛЫСТЫРМАЛЫ ЗЕРТТЕУ

А. Курмашева¹*, Ж. Саметова², Ж. Аманова², А. Үсембай³,
Р. Абитаев², Ш. Тұрыскелді², Д. Тоқтырова², Ж. Кондибаева²

¹«Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КЕАҚ, Алматы, Қазақстан

²«QazBioPharm» Ұлттық холдинг «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ЖШС, Гвардейский, Қазақстан

³«К.И. Скрябин атындағы Қырғыз ұлттық аграрлық университеті» КММ, Бишкек, Қырғыз Республикасы

* kurmashevaalina3@gmail.com

Аннотация. Ірі қара малдың (ІҚМ) жұқпалы ринотрахеиті (ЖРТ) мен вирустық диареясы (ВД) мал шаруашылығына елеулі экономикалық шығын келтіретін ең кең таралған вирустық инфекциялардың қатарына жатады. Аталған ауруларға қарсы инактивтелген вакциналардың тиімділігі айқын әрі ұзаққа созылатын иммундық жауаптың қалыптасуын қамтамасыз ететін адьюванттық жүйені дұрыс таңдауға едәуір дәрежеде байланысты. Осы зерттеудің мақсаты оңтайлы адьюванттық жүйені негіздеу үшін Montanide® коммерциялық адьюванттарының әртүрлі түрлері қолданылған ІҚМ-ның ЖРТ мен ВД-сына қарсы эксперименттік қауымдастырылған инактивтелген вакцинаның физикалық тұрақтылығын, қауіпсіздігін және иммуногендігін салыстырмалы түрде бағалау болды. Эксперименттік вакциналар ЖРТ вирусының «Р-93» штаммы мен ВД вирусының «OregonC₂₄V» штаммының инактивтелген вирусқұрамды суспензиялары негізінде Montanide ISA 70 VG, Montanide ISA 61 VG және Montanide GEL 01 PR адьюванттарын пайдалану арқылы дайындалды. Препараттардың физикалық тұрақтылығы жеделдетілген термостаттау әдісімен бағаланды, ал қауіпсіздігі мен иммуногендігі қояндар моделінде бір реттік бұлшықет ішіне иммундаудан кейін бейтараптандыру реакциясында вирусбейтараптандырушы антиденелердің (ВБА) титрлерін анықтау арқылы зерттелді. Зерттелген вакциналардың барлығы 10 тәулік бойы термостаттау кезінде физикалық тұрақтылығын сақтап, клиникалық тұрғыдан жергілікті жағымсыз реакциялар туғызбады және жақсы көтерімділік көрсетті. Екі вирусқа да қарсы ВБА-ның ең жоғары титрлері Montanide ISA 70 VG және Montanide GEL 01 PR адьюванттарын қолданған кезде тіркелді, ал адьювантсыз антигендер гуморальдық иммундық жауаптың төменірек деңгейін қалыптастырды. Кешенді бағалау нәтижелері ІҚМ-ның ЖРТ пен ВД-сына қарсы отандық қауымдастырылған инактивтелген вакцинаның оңтайлы адьюванты ретінде Montanide ISA 70 VG таңдалуын ғылыми тұрғыдан негіздеуге мүмкіндік берді.

Түйін сөздер: ірі қара малдың жұқпалы ринотрахеиті; ірі қара малдың вирустық диареясы; қауымдастырылған инактивтелген вакцина; адьюванттар; Montanide; иммуногендік; вирусбейтараптандырушы антиденелер; қояндар моделі

SELECTING AN OPTIMAL ADJUVANT SYSTEM FOR AN EXPERIMENTAL ASSOCIATED VACCINE AGAINST INFECTIOUS BOVINE RHINOTRACHEITIS AND VIRAL DIARRHEA: A COMPARATIVE STUDY IN A RABBIT MODEL

A. Kurmasheva¹*, Z. Sametova², Z. Amanova², A. Ussembay³, R. Abitayev²,
S. Turiskeldy², D. Toktyrova², Z. Kondibayeva²

¹“Kazakh National Agrarian Research University”, Almaty, Kazakhstan

²“Research Institute for Biological Safety Problems” National Holding “QazBioPharm”,
Gvardeyskiy, Kazakhstan

³“Kyrgyz National Agrarian University named after K.I. Skryabin”, Bishkek, Kyrgyz
Republic

* kurmashevaalina3@gmail.com

Abstract. Infectious bovine rhinotracheitis (IBR) and bovine viral diarrhea (BVD) are among the most common viral infections causing significant economic losses in livestock production. The efficacy of inactivated vaccines against these diseases is largely determined by the choice of an adjuvant system that ensures the formation of a pronounced and long-lasting immune response. The aim of this study was to comparatively evaluate the physical stability, safety, and immunogenicity of an experimental associated inactivated vaccine against IBR and BVD formulated with various commercial Montanide® adjuvants to substantiate the choice of the optimal adjuvant system. Experimental vaccines formulations were prepared based on inactivated virus-containing suspensions of the IBR virus strain “R-93” and the BVD virus strain “OregonC₂₄V” using Montanide ISA 70 VG, Montanide ISA 61 VG, and Montanide GEL 01 PR adjuvants. The physical stability of the vaccines was assessed using an accelerated thermostability test, while safety and immunogenicity were assessed in a rabbit model following a single intramuscular immunization, with determination of virus-neutralizing antibody (VNA) titers in a neutralization test. All studied vaccines maintained physical stability for 10 days of incubation, did not cause clinically significant local adverse reactions, and were well tolerated. The highest VNA titers to both viruses were observed in the groups immunized with vaccines formulated with Montanide ISA 70 VG and Montanide GEL 01 PR, while antigens without adjuvant induced a less pronounced humoral immune response. This comprehensive evaluation supported the selection of Montanide ISA 70 VG as the optimal adjuvant for the domestic associated inactivated vaccine against IBR and BVD.

Keywords: infectious bovine rhinotracheitis; bovine viral diarrhea; associated inactivated vaccines; adjuvants; Montanide; immunogenicity; virus-neutralizing antibodies; rabbit model

ДАННЫЕ ОБ АВТОРАХ

1 Алимов Айтбай Айткенович, кандидат ветеринарных наук, профессор кафедры ветеринарной санитарии, НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет» г. Алматы, Республика Казахстан, e-mail: aitbai.65@mail.ru, ORCID 0000-0003-1028-0408

Еділ Нұриля Әнуарқызы - магистрант 2-го курса факультета ветеринарии и зооинженерии, НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет» г. Алматы, Республика Казахстан, e-mail: Edilnurila0@gmail.com, ORCID 0009-0004-9351-3442

2 Наханов Азиз Куралбаевич, кандидат биологических наук, заведующий лабораторией, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологический безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, e-mail: a.nakhanov@biosafety.kz, ORCID 0000-0002-6593-0271

Коканов Сабит Кабдышевич, кандидат ветеринарных наук, старший научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологический безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, ORCID 0009-0005-2630-8489

Еспембетов Болат Аманбаевич, кандидат ветеринарных наук, профессор, заведующий лабораторией, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологический безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, e-mail: b.yespembetov@biosafety.kz, ORCID 0000-0003-3312-4045

Сырым Назым Сырымовна, кандидат ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологический безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, e-mail: n.syrym@biosafety.kz, ORCID 0000-0002-4361-5676

Теребай Айбол Айдосұлы, магистр, младший научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологический безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, e-mail: a.terebay@biosafety.kz, ORCID 0000-0003-2077-7063

Мараховская Любовь Геннадьевна, старший лаборант, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологический безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, e-mail: l.marahovskaya@biosafety.kz

3 Бурашев Ербол Досанович, PhD, заведующий лабораторией, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологический безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, e-mail: y.burashev@biosafety.kz, ORCID 0000-0002-4701-1992

Орынбаев Мухит Бармақұлы, кандидат ветеринарных наук, профессор, академик Национальной академии наук Республики Казахстан при Президенте Республики Казахстан, главный научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологический безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, e-mail: m.orgynbayev@biosafety.kz, ORCID: 0000-0002-8123-9210

Омарова Замира Даулетқызы, магистр естественных наук, научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологический безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, e-mail: z.omarova@biosafety.kz, ORCID: 0000-0003-4215-2638

Рыстаева Рашида Аусекановна, магистр химических наук, научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологический безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, e-mail: r.rystaeva@biosafety.kz, ORCID: 0000-0002-7257-4869

Тулендибаев Али Бахытжанович, магистр химических наук, научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологический безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, e-mail: a.tulendibayev@biosafety.kz, ORCID: 0000-0001-7741-0938

Аргимбаева Тахмина Уразбековна, магистр естественных наук, научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологический безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, e-mail: t.argimbayeva@biosafety.kz, ORCID: 0000-0002-5656-0678

Әубәкір Нұрдос Аманжанұлы, магистр естественных наук, младший научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, e-mail: n.aubakir@biosafety.kz, ORCID: 0000-0003-0878-9168

Ермекбай Таңат Талайбекұлы, магистр наук в области пищевой безопасности, младший научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, e-mail: t.yermekbai@biosafety.kz, ORCID: 0000-0002-1597-7784

Абеуов Хайрулла Бялович, кандидат ветеринарных наук, профессор, главный научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, e-mail: kh.abeuov@biosafety.kz, ORCID: 0000-0002-8123-9210

4 Әділова Гауһар Сәтқызы, младший научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, e-mail: g.adilova@biosafety.kz

Червякова Ольга Викторовна, кандидат биологических наук, профессор, главный научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, e-mail: o.chervyakova@biosafety.kz, ORCID: 0000-0002-7954-6246

Исабек Айша Ұранқызы, магистр естественных наук, старший научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, e-mail: a.issabek@biosafety.kz, ORCID: 0000-0002-5623-7571

Бопи Арайлым Құралбекқызы, магистр химических наук, научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, e-mail: a.bopi@biosafety.kz, ORCID: 0000-0001-9480-0241

Шыныбекова Гауһар Орынбековна, магистр естественных наук, старший научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, e-mail: sh.gaukhar@biosafety.kz, ORCID: 0000-0002-6976-1540

Шораева Камшат Абитхановна, PhD, заведующий лабораторией, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» пгт. Гвардейский, Казахстан, e-mail: k.shorayeva@biosafety.kz, ORCID: 0000-0001-8777-8453

5 Юрий Алексеевич Костыркин, кандидат ветеринарных наук, начальник отдела контроля качества, ООО Фирма «БиоХимФарм», г. Владимир, Россия, ORCID 0009-0005-1418-6357

Ольга Владимировна Лысинская, кандидат ветеринарных наук, главный технолог, ООО Фирма «БиоХимФарм», г. Владимир, Россия

Юрий Владимирович Никитин, кандидат биологических наук, заместитель директора по общим вопросам, ООО Фирма «БиоХимФарм», г. Владимир, Россия

Виктор Васильевич Шаповалов, кандидат ветеринарных наук, ООО Фирма «БиоХимФарм», г. Владимир, Россия

6 Курмашева Алина Каиржановна, магистр естественных наук, докторант, Казахский национальный аграрный исследовательский университет, ORCID 0009-0008-9484-0540, e-mail: kurmashevaalina3@gmail.com

Саметова Жанна Жумабековна, магистр технических наук, научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», ORCID 0000-0002-2332-2841, e-mail: zh.sametova@biosafety.kz

Аманова Жанат Темирбаевна, PhD, ведущий научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», ORCID 0000-0002-3987-6814, e-mail: zh.amanova@biosafety.kz

Үсембай Абдурахман Қайратұлы, докторант, Кыргызский национальный аграрный университет им. К.И. Скрябина, ORCID 0000-0003-3639-3793, e-mail: abdu_01_98@mail.ru

Абитаев Руслан Тореханович, магистр биологических наук, старший научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», ORCID 0000-0001-5609-2491, e-mail: r.abitaev@biosafety.kz

Тұрыскелді Шолпан Сманқызы, магистр естественных наук, научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», ORCID 0000-0002-9515-0655, e-mail: sh.smankizi@biosafety.kz

Токтырова Дария Сұлтанқызы, магистр естественных наук, младший научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», ORCID 0000-0003-3166-4515, e-mail: d.toktirova@biosafety.kz

Кондибаева Жанат Буркитбаевна, кандидат ветеринарных наук, ассоциированный профессор, ведущий научный сотрудник, ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», ORCID 0000-0002-8224-8047, e-mail: zh.kondybaeva@biosafety.kz

ТРЕБОВАНИЯ К НАУЧНЫМ СТАТЬЯМ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В ЖУРНАЛЕ

Правила для авторов

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

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

КАК ПОДГОТОВИТЬ СТАТЬЮ В ЖУРНАЛ

1. Требования к рукописям, направляемым в журнал

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

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

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

2. Язык статьи

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

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

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

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

3. Титульный лист (метаданные статьи).

Титульный лист должен включать следующую информацию:

- 1) код МРНТИ (Международный рубрикатор научно-технической информации; определяется по ссылке <http://grnti.ru/>)
- 2) название статьи (лаконично и информативно. Заголовки часто используются в информационно-поисковых системах. По возможности избегайте сокращений и формул)
- 3) инициалы и фамилии авторов (пожалуйста, четко фамилии (имена) каждого автора и проверьте правильность написания всех имен)
- 4) организация и ее местонахождение для каждого автора (все аффилиации нумеруются надстрочной арабскими цифрами сразу после имени автора и перед соответствующим адресом; укажите адрес каждой организации, включая название населенного пункта и страны), и, если

возможно, адрес электронной почты каждого автора. Если все авторы статьи работают в одном учреждении, указывать место работы каждого автора отдельно не нужно, достаточно указать учреждение один раз. Если у автора несколько мест работы, каждое обозначается отдельным цифровым индексом.

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

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

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

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

4. План построения оригинальных статей

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

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

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

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

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

В разделе **«Обсуждение»** авторы должны обсудить полученные результаты и то, как их можно интерпретировать с точки зрения предыдущих исследований и рабочих гипотез. В

обсуждении можно привести возможные объяснения сходства и противоречий с другими аналогичными исследованиями. В максимально широком контексте следует обсудить выводы и их значение. Также в данном разделе могут быть выделены будущие направления исследований.

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

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

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

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

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

Примеры оформления ссылок:

Статья в периодическом издании (журнале)

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

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

Книги

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

-84. ISBN 978-601-278-599-9

Материалы конференций

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

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

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

Интернет-источники

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

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

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

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

5. Оформление обзоров и кратких сообщений

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

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

6. Особенности оформления таблиц, рисунков

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

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

КАК ПОДАТЬ СТАТЬЮ НА РАССМОТРЕНИЕ

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

Загружаемый в систему файл со статьей должен быть представлен в формате Microsoft

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

Перед отправкой рукописи убедитесь, что:

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

7. К сведению авторов

К статье прилагаются:

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

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

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

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

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

Наш адрес:

080409, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, ул. Момышулы 15
ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» Учебный
научно-образовательный центр (УНОЦ), тел. (726-36) 7-22-28.

E-mail: unots@biosafety.kz

Публикация в журнале для авторов **бесплатна**.

МРНТИ (<https://grnti.ru/>)

DOI.....

НАЗВАНИЕ

Имя Фамилия¹ , Имя Фамилия² , Имя Фамилия² ,*

1

Место работы

2

Место работы

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

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

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

Как использовать данный шаблон

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

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

Введение

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

Материалы и методы

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

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

При необходимости этот раздел может быть разделен на подразделы.

Подраздел

Результаты

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

Подраздел

Таблицы и рисунки

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

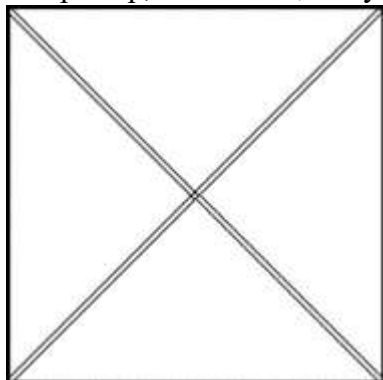
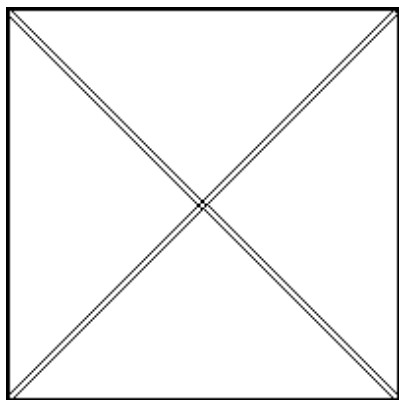


Рисунок 1 – Это рисунок. Схемы имеют такое же форматирование

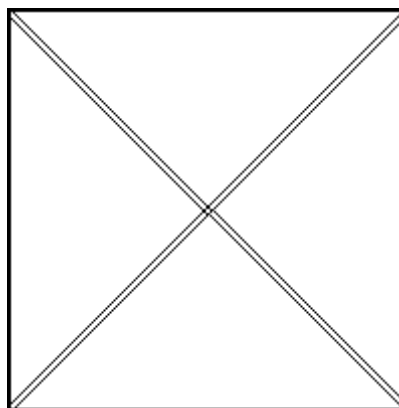
Таблица 1 – Это таблица. Таблицы следует размещать в основном тексте рядом с местом первого упоминания

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

Продолжить текст раздела (Рисунок 2).



(а)



(б)

Если имеется несколько панелей, они должны быть перечислены следующим образом:

(а) описание того, что содержится в первой панели; (б) Описание того, что содержится во второй панели

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

Обсуждение

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

Закключение

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

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

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

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

Литература

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

1. Aspden K., Passmore J.A., Tiedt F., Williamson A.L. Evaluation of lumpy skin disease virus, a capripoxvirus, as a replication-deficient vaccine vector // J. Gen. Virol. – 2003. – Vol. 84 (Pt8). – P. 1985-1996. doi: ... (при наличии)

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

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

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

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

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

References

Далее приводится транслитерированный список использованных источников в разделе REFERENCES. При этом англоязычные источники дублируются из раздела ЛИТЕРАТУРА, казахскоязычные и русскоязычные ссылки должны быть приведены к латинскому алфавиту (латинице) и английскому переводу. Ссылка должна дополнительно содержать DOI (идентификатор цифрового объекта), если таковой имеется. Транслитерация осуществляется с

использованием онлайн-платформы <http://translit-online.ru/>. Эта онлайн-платформа не транслитерирует отдельные буквы казахского алфавита. Авторы должны самостоятельно вносить исправления после транслитерации казахского текста.

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

Например:

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

Данные об авторах

Фамилия, имя и отчество (полностью), ученая степень, должность, место работы, ORCID, адрес для переписки (e-mail)

*для каждого автора.

МАҚАЛА ТАҚЫРЫБЫ

Аты Тегі¹, Аты Тегі², Аты Тегі²,*

1 Жұмыс орны

2 Жұмыс орны

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

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

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

TITLE

Firstname Lastname¹, Firstname Lastname², Firstname Lastname²,*

1 Affiliation

2 Affiliation

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

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

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