

2020 №3-4

2020 жылдан шыға бастаған Издаётся с 2020 года Published since 2020

ISSN 2707-7241

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

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

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

Ғылыми журнал
**БИОҚАУІПСІЗДІК ЖӘНЕ
БИОТЕХНОЛОГИЯ**

Научный журнал
**БИОБЕЗОПАСНОСТЬ И
БИОТЕХНОЛОГИЯ**

The scientific journal
**BIOSAFETY AND
BIOTECHNOLOGY**

Бас редакторы

б. ғ. д., қауымдастырылған профессор, ҚР ЖҒА академигі
К.Д. ЗАКАРЬЯ

Редакция алқасы:

АБДУРАИМОВ Е.О. в. ғ. д. (Қазақстан), бас ред. орынбасары
АБЕУОВ Х.Б. в. ғ. к. қауымдастырылған проф. (Қазақстан)
АЙКИМБАЕВ А.М. м. ғ. д., проф. (Қазақстан)
БАРАКБАЕВ К.Б. в. ғ. к. (Қазақстан)
БУЛАТОВ Е.А. б. ғ. к. (Қазақстан)
ГЕРИЛОВИЧ А.П. в. ғ. д., проф. (Украина)
RISATTI G. PhD, проф. (Америка құрама штаттары)
ЕСПЕМБЕТОВ Б.А. в. ғ. к. (Қазақстан)
КАСЕНОВ М.М. в. ғ. к. (Қазақстан)
КОСК R. PhD, проф. (Ұлыбритания)
КОШЕМЕТОВ Ж.К. б. ғ. д. (Қазақстан)
КУТУМБЕТОВ Л.Б. в. ғ. д., қауымдастырылған проф. (Қазақстан)
КЫДЫРБАЕВ Ж.К. в. ғ. к., проф. (Қазақстан)
МАМБЕТАЛИЕВ М. в. ғ. к., қауымдастырылған проф. (Қазақстан)
МЫРЗАХМЕТОВА Б.Ш. б. ғ. к. (Қазақстан)
НАХАНОВ А.К. б. ғ. к. (Қазақстан)
НУРГАЗИЕВ Р.З. в. ғ. д., проф. (Қырғызстан)
НУРПЕЙСОВА А.С. в. ғ. магистрі (Қазақстан)
ОРЫНБАЕВ М.Б. в. ғ. к., проф. (Қазақстан)
РСАЛИЕВ А.С. а-ш. ғ. к. (Қазақстан)
САТТОРИ И. в. ғ. д., проф. (Тәжікістан)
СУЛТАНКУЛОВА К.Т. б. ғ. к., проф. (Қазақстан)
СТУКОВА М.А. м. ғ. к. (Ресей)
ЧЕРВЯКОВА О.В. б. ғ. к. (Қазақстан)

Корректоры: **Г.А. АБИЛЬДАЕВА**

Ғылыми журнал
«БИОҚАУІПСІЗДІК ЖӘНЕ БИОТЕХНОЛОГИЯ»
ISSN 2707-7241

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

Қазақстан Республикасының Ақпарат және қоғамдық даму министрлігінің
Ақпарат комитетінде 20.11.2019 ж. №**KZ33V00017380** куәлікпен тіркелген

Мерзімділігі: жылына 4 рет
Таралымы: 200 дана

Редакцияның мекен-жайы 080409, Жамбыл облысы, Қордай ауданы, Гвардейский ктк.,
Б. Момышұлы к-сі, 15. тел. (726-36) 7-22-28, ішкі 112.
www: biosafety.kz, E-mail: ribsp@biosafety.kz

© Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты, 2020

Главный редактор

д-р биол. наук, ассоциированный профессор, академик АЕН РК
К.Д. ЗАКАРЬЯ

Редакционная коллегия

АБДУРАИМОВ Е.О. д-р вет. наук (Казахстан), зам. главного редактора
АБЕУОВ Х.Б. канд. вет. наук, ассоц. проф. (Казахстан)
АЙКИМБАЕВ А.М. д-р мед. наук, проф. (Казахстан)
БАРАКБАЕВ К.Б. канд. вет. наук (Казахстан)
БУЛАТОВ Е.А. канд. биол. наук (Казахстан)
ГЕРИЛОВИЧ А.П. д-р вет. наук, проф. (Украина)
RISATTI G. PhD, проф. (США)
ЕСПЕМБЕТОВ Б.А. канд. вет. наук (Казахстан)
КАСЕНОВ М.М. канд. вет. наук (Казахстан)
КОСК R. PhD, проф. (Великобритания)
КОШЕМЕТОВ Ж.К. д-р биол. наук (Казахстан)
КУТУМБЕТОВ Л.Б. д-р вет. наук, ассоц. проф. (Казахстан)
КЫДЫРБАЕВ Ж.К. канд. вет. наук, проф. (Казахстан)
МАМБЕТАЛИЕВ М. канд. вет. наук, ассоц. проф. (Казахстан)
МЫРЗАХМЕТОВА Б.Ш. канд. биол. наук (Казахстан)
НАХАНОВ А.К. канд. биол. наук (Казахстан)
НУРГАЗИЕВ Р.З. д-р вет. наук, проф. (Кыргызстан)
НУРПЕЙСОВА А.С. магистр вет. наук (Казахстан)
ОРЫНБАЕВ М.Б. канд. вет. наук, проф. (Казахстан)
РСАЛИЕВ А.С. канд. с.-х. наук (Казахстан)
САТТОРИ И. д-р вет. наук, проф. (Таджикистан)
СУЛТАНКУЛОВА К.Т. канд. биол. наук, проф. (Казахстан)
СТУКОВА М.А. канд. мед. наук (Россия)
ЧЕРВЯКОВА О.В. канд. биол. наук (Казахстан)

Корректор: **Г.А. АБИЛЬДАЕВА**

Научный журнал
«БИОБЕЗОПАСНОСТЬ И БИОТЕХНОЛОГИЯ»
ISSN 2707-7241

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

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

Периодичность: 4 раза в год
Тираж: 200 экземпляров

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

© Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, 2020

Editor in chief

Doctor of Biology Sciences, the associated professor, academician of the ANS RK
K.D. ZAKARYA

Editorial board:

ABDURAIMOV E.O. Doc. Vet. (Kazakhstan), deputy editor-in-chief
ABEUOV KH.B. Cand. Vet., assoc. prof. (Kazakhstan)
AIKIMBAYEV A.M. Doc. Med., prof. (Kazakhstan)
BARAKBAYEV K.B. Cand. Vet. (Kazakhstan)
BULATOV E.A. Cand. Biol. (Kazakhstan)
GERILOVICH A.P. Doc. Vet., prof. (Ukraine)
RISATTI G. PhD. prof. (USA)
ESPEMBETOV B.A. Cand. Vet. (Kazakhstan)
KASSEN OV M.M. Cand. Vet. (Kazakhstan)
KOCK R. PhD. prof. (United Kingdom)
KOSHEMETOV ZH.K. Doc. Biol. (Kazakhstan)
KUTUMBETOV L.B. Doc. Vet., assoc. prof. (Kazakhstan)
KYDYRBAYEV ZH.K. Cand. Vet., prof. (Kazakhstan)
MAMBETALIYEV M. Cand. Vet., assoc. prof. (Kazakhstan)
MYRZAKHMETOVA B.SH. Cand. Biol. (Kazakhstan)
NAKHANOV A.K. Cand. Biol. (Kazakhstan)
NURGAZIYEV R.Z. Doc. Vet., prof. (Kyrgyzstan)
NURPEISOVA A.S. Magister Vet. (Kazakhstan)
ORYNBAYEV M.B. Cand. Vet., prof. (Kazakhstan)
RSALIYEV A.S. Cand. Agri. (Kazakhstan)
SATTORI I. Doc. Vet., prof. (Tajikistan)
SULTANKULOVA K.T. Cand. Biol., prof. (Kazakhstan)
STUKOVA M.A. Cand. Med. (Russia)
CHERVYAKOVA O.V. Cand. Biol. (Kazakhstan)

Editor: **G.A. ABILDAYEVA**

The scientific journal
«BIOSAFETY AND BIOTECHNOLOGY»
ISSN 2707-7241

Founder: RGE on the basis of ECR «Research Institute for Biological Safety Problems»
of the CS MES RK

The certificate of registration of a periodic printed publication I the Committee of Information
of the Ministry of Information and Social Development of the Republic of Kazakhstan
KZ33V00017380, issued 20.11.2019.

Periodicity: 4 times a year
Circulation: 200 copies

Editorial address: 15, B. Momyshuly street, u.t.s. of Gvardeyskiy, Korday district,
Zhambyl region, 080409, tel. (726-36) 7-22-28, int. 112,
www: biosafety.kz, E-mail: ribsp@biosafety.kz

© Research Institute for Biological Safety Problems, 2020

ӘОЖ 619:616.98:578.831.1

Х.Б. Абеуов¹, Ж.К. Кошеметов¹, К.Д. Закарья¹, М.С. Сейсенбаева¹,
Н.К. Оразымбетова¹, Е.М. Қожамқұлов¹, К.Ғ. Маткеримова²

¹ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ШЖҚ РМК,
Жамбыл облысы Қордай ауданы, Гвардейский ктп., Қазақстан

²ҚР АШМ «Ұлттық аграрлық ғылыми-білім беру орталығы» АҚ «Қазақ ұлттық аграрлық университеті»
КЕАҚ, Алматы қ., Қазақстан
E-mail: unots@biosafety.kz, arshyn_91-91@mail.ru

ЖАНУАРЛАР ХЛАМИДИОЗЫН БАЛАУ ҮШІН ИММУНДЫ ФЕРМЕНТТІК ТАЛДАУ ӘДІСІН ОҢТАЙЛАНДЫРУ

Аннотация. Мақалада биоматериалдан жануарлардың хламидиозы қоздырғышының антигенін табу үшін иммунды ферменттік талдауды (ИФТ) қоюдың оңтайлы шарттарын анықтау, құрастырылған тест-жүйені комиссиялық сынақтан өткізу және оның нормативтік-техникалық құжаттамасын рәсімдеу мен бекіту туралы жүргізілген жұмыстардың нәтижелері көрсетілген.

Жан-жақты жүргізілген зерттеулердің толыққанды нәтижесі ретінде жануарлардың хламидиозын ИФТ әдісімен балауға арналған тест-жүйенің тәжірибелік маңызы бар. Өйткені, бұрындары қолданылып келген серологиялық әдістермен (комплементті байланыстыру реакциясы (КБР), комплементті ұзағынан байланыстыру реакциясы (КҰБР), агглютинация реакциясы (АР), диффузды преципитация реакциясы (ДПР) және т.б.) салыстырғанда зертханалық жағдайда ауру малдың патологиялық материал сынамаларынан жануарлардың хламидиозының қоздырғышын нақты анықтауда ИФТ әдісінің аз уақыт ішінде диагноз қоюда балаулық тиімділігі жоғары болып есептеледі.

Түйін сөздер: хламидиоз, ИФТ, телімді иммунды глобулин, сенсбилизация, конъюгат.

Х.Б. Абеуов¹, Ж.К. Кошеметов¹, К.Д. Закарья¹, М.С. Сейсенбаева¹, Н.К. Оразымбетова¹,
Е.М. Қожамқұлов¹, К.Ғ. Маткеримова²

¹РГП на ПХВ «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН
РК, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, Казахстан

²НАО «Казахский национальный аграрный университет» АО «Национальный аграрный научно-образовательный центр» МСХ РК, г. Алматы, Казахстан

ОПТИМИЗАЦИЯ ИММУНОФЕРМЕНТНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ХЛАМИДИОЗА ЖИВОТНЫХ

Аннотация. В статье представлены результаты проведенных исследований по определению оптимальных условий постановки иммуноферментного анализа (ИФА) для обнаружения антигена возбудителя хламидиоза животных из биоматериала, комиссионных испытаний, оформлению и утверждению нормативно-технической документации разработанной тест-системы.

Как полноценный результат всестороннего исследования, разработанная тест-система ИФА метода диагностики хламидиоза животных имеет практическое значение, так как, в сравнении с ранее применяемыми серологическими методами (реакция связывания комплемента (РСК), реакция длительного связывания комплемента (РДСК), реакция агглютинации (РА), реакции диффузной преципитации (РДП) и др.), указанная тест-система в условиях лабораторий дает возможность в течение короткого времени точного установления возбудителя хламидиоза животных из проб биологического материала больного животного и поэтому диагностическая эффективность считается высокой.

Ключевые слова: хламидиоз, ИФА, специфический иммуноглобулин, конъюгат.

**Kh.B. Abeuov¹, Zh.K. Koshemetov¹, K.D. Zakarya¹, M.S. Seisenbayeva¹,
N.K. Orazymbetova¹, Ye.M. Kozhamkulov¹, K.G. Matkerimova²**

¹RSE «Research Institute for Biological Safety Problems» SC MES RK, Zhambyl region,
Korday district, Gvardeyskiy uez, Kazakhstan

²NCJSC «Kazakh National Agrarian University» of JSC «National Agrarian Scientific and Educational
Center» MA RK, Almaty, Kazakhstan

DEVELOPMENT OF ELISA FOR DIAGNOSIS OF CHLAMYDIOSIS ANIMALS

Abstract. The article presents the results of research to determine the optimal conditions for setting up an enzyme immunoassay (ELISA) for detecting the antigen of the causative agent of animal chlamydia from biomaterial, commission tests, registration and approval of regulatory and technical documentation of the developed test system.

As a full-fledged result of a comprehensive study, the developed ELISA test system for the method of diagnosing chlamydia in animals is of practical importance, since, in comparison with previously used serological methods (complement fixation reaction (CFR), long-term complement fixation reaction (LTCFR), agglutination reaction (RA), reaction of diffuse precipitation (RDP), etc.), the specified test system under laboratory conditions makes it possible, within a short time, to accurately identify the pathogen of chlamydia in animals from samples of pathological material from a sick animal, and therefore the diagnostic efficiency is considered high.

Key words: chlamydia, ELISA, specific immunoglobulin, conjugate.

Кіріспе. Жануарлардың хламидиозы әлемнің көптеген мемлекеттерінде кездеседі және еліміз Қазақстанда да өз аумағында ауыл шаруашылығы жануарлары арасында көрсетілген іш тастау инфекциясын тіркеу жоққа шығарылмайды.

Хламидиялық инфекциялар сүтқоректілердің, жануарлардың және құстардың барлық түрлерінде кең тараған. Жануарлардың хламидиозы энзоотиялық түсік деп те аталады, *Chlamydomphila abortus* қоздырушысынан туындайды [1-4].

Осы уақытқа дейін Қазақстанда республикалық ветеринариялық зертханаларда диагностикалық зерттеулер жүргізу үшін КБР (КҰБР) әдісімен ауылшаруашылық жануарларының хламидиозын серологиялық диагностикалау үшін жинақ пайдаланылып келді (технология авторлары – Абеуов Х.Б., Кутумбетов Л.Б., Шманов К.С.) [5, 6, 7].

Жануарларда хламидиозды диагностикалаудың қолданыстағы әдістері бірқатар маңызды кемшіліктерге ие. Олар негізінен төмен сезімталдық пен ерекшелігімен, сонымен қатар реакция нәтижелерін күту ұзақтығымен байланысты.

Соңғы жылдары осы мақсатта республиканың ветеринариялық диагностикалық зертханалары көрсетілген жиынтықтың орнына жақын және алыс шетелдерде өндірілетін ИФТ диагностикалау сынақ жүйесін қолданып келеді.

Қазақстанда ауылшаруашылық жануарларының хламидиозын иммундыферменттік талдау (ИФТ) әдісімен диагностикалау үшін сынақ жүйесін жасау технологиясы әзірленбеген. Сондықтан, бұл зерттеулердің мақсаты – хламидиоздың жергілікті штамынан жаңа отандық ИФТ диагностикалық сынақ жүйесін шығару технологиясын дамыту болып табылады.

Бұдан бұрындары Қазақстандық зерттеушілер хламидияның жергілікті штамдарынан тазаланған антигенді және хламидияға қарсы қан сарысуынан иммунды глобулиндер бөліп алғаны туралы өз ғылыми еңбектерінде хабарлаған болатын [6-8].

Зерттеудің мақсаты хламидияның жергілікті штаммын қолданып ауыл шаруашылық жануарлары хламидиозының қоздырушысын балау үшін ИФТ әдісін әзірлеу болып табылады.

Материалдар. Ғылыми-зерттеу жұмыстарын жүргізу барысында келесі негізгі материалдар қолданылды:

- хламидияның жергілікті «ММ» штамынан әзірленген телімді антиген;
- қалыпты антиген;
- телімді штаммен иммунделінген қой, ешкіден алынған хламидияға қарсы позитивті қан сарысуы;
- негативті қан сарысуы;
- спирттік Кон әдісімен бөлініп алынған телімді иммунды глобулин;
- телімді иммунды глобулин негізінде дайындалған конъюгат;
- полистиролды планшет, Costar фирмасы;
- 2,2-азинобисэтилбензтиазолин сульфонды қышқылды (АБСҚ);
- 0,15 М хлорлы натрий (NaCl);

- 1 М натрийдің бикарбонатты (NaHCO_3) ерітіндісі;
- 1 М фосфатты-буфер ерітіндісі (ФБЕ);
- 0,1 М карбонатты бикарбонатты буфер (КББ), рН 9,6;
- ИФТ арналған ерітінді: 0,01М ФБТ ерітіндісіне 1 см³ твин-80 қосылады;

ИФТ-да қолданылатын толтырғыш ерітінділер: ИФТ-ге арналған ерітіндіге соңғы қоюлығы 1 % дейінгі бұқаның қан сарысуының альбуминін (БҚА) қосылады;

- 1 % сутек қос тотығы (H_2O_2);
- рН 4,3-4,4 0,01 М сірке қышқылды натрий ерітіндісі;
- субстрат ерітіндісі: 10 см³ 0,01 М $\text{CH}_3\text{COON a} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ерітіндісінде 2,2 мг 2,2-азинобисэтилбензтиазолин сульфонды қышқылды (АБТС) ерітеді және 0,1 см³ 1% H_2O_2 қосады.

Зерттеу нәтижелері және оларды талдау. Зерттеулер барысында жануарлар хламидиозының қоздырушысын балау үшін планшеттің ұяшықтарын телімді иммунды глобулиндермен сенсбилизациялау тәжірибелерінде келесі ерітінділер сыналды:

- 0,01 М ККБ с рН 9,5;
- 0,01 М ФТБ с рН 7,4.

Иммунды ферментті диагностикалық препараттарды жұмыстық ерітінділерін дайындау және планшеттің ұяшықтарын жуу үшін келесі буферлік ерітінділерді сыналды:

- әр түрлі концентрациядағы (0,5 %; 1 %; 1,5 %) твин-80 бар физиологиялық ерітінді;
- құрамында әр түрлі концентрациядағы (0,5 %; 1 %; 1,5 %) твин-80 бар рН-ы 7,4 болатын 0,01 М ФТБ.

Планшет ұяшықтарының бос орталықтарын толтыру үшін оларды иммунды глобулиндермен сенсбилизациядан кейін 0,01 М ФТБ ерітіндісінде әзірленген бұқаның қан сарысуының 0,5; 1,0 және 1,5 % концентрациялы альбумині сыналды.

Зерттеу барысында планшеттің ұяшықтарын сенсбилизациялау үшін телімді иммунды глобулиндерді сұйылтуға арналған оңтайлы буферлік ерітінді 0,01 М карбонатты қос карбонатты буфер және оның рН-ы 9,5 болу керектігі анықталды. Сондай-ақ, ИФТ қою кезінде және планшеттің ұяшықтарын жуу үшін қолданылатын диагностикалық препараттарды сұйылтуға арналған оңтайлы ерітінді ретінде құрамында 1 %-дық концентрациялы твин-80 бар рН-ы 7,4 болатын 0,01 М ФТБ анықталды.

Планшеттің ұяшықтарының бос орталықтарын толтыру үшін иммунды глобулинмен сенсбилизациядан кейін телімді емес фондық деңгейді алу мақсатында ұяшықтарды 0,01 М ФТБ-ға дайындалған бұқа қан сарысуы альбуминінің 1,0 % ерітіндісімен өңдеу қажеттігі дәлелденді.

Жануарлардың хламидиозының диагностикасы үшін ИФТ-ды қою кезінде температуралық-уақыттық режимін оңтайландыру бойынша жүргізілген тәжірибелер барысында төмендегі нәтижелер алынды.

Планшет ұяшықтарын иммунды глобулиндермен сенсбилизациялау үшін температуралық-уақыттық режимнің келесі параметрлері таңдалғанын тәжірибелік жолмен анықталды. Жануарлардың хламидиозын балау үшін ИФТ жүргізу кезеңінде планшет ұяшықтарын термостатта (4 ± 2) °С-та 18 сағат немесе (37 ± 1) °С-та 3 сағат бойы иммунды глобулиндермен сенсбилизациялау қажет екені анықталды.

Бұл ретте телімді антигендердің, содан кейін конъюгаттың әркеттесуі 37 °С-та 2,0; 3,0; 4,0 сағатта және 4 °С-та 15; 18 және 24 сағат кезінде жүретінін белгілі болды.

Жануарлардың хламидиозының диагностикасы кезінде антигендердің иммунды глобулиндермен жанасуының оңтайлы шарттары біздің тәжірибемізде термостатта (37 ± 1) °С кезінде 3 сағат немесе (4 ± 2) °С-та 18 сағат, ал телімді конъюгаттың антигенмен байланысы (37 ± 1) °С-та 1 сағат бойы кезінде дәлелденді.

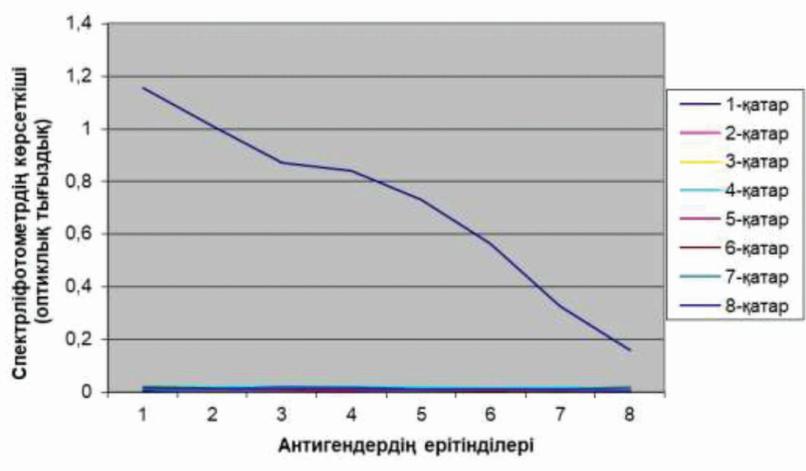
Сондай-ақ, әлсіз оң сынамалар үшін конъюгат пен пероксидаза субстратын (АБТС) инкубациялаудың оңтайлы режимі 30 минут екендігі анықталды.

Келесі жүргізген тәжірибеміздің барысында жануарлардың хламидиозы қоздырғышының антигенін анықтау үшін ИФТ қоюға арналған планшеттерді таңдау мақсат етілді.

Жануарлардың хламидиозының диагностикасы кезінде ИФТ қою үшін оңтайлы планшеттерді таңдау нәтижелері 1-кестеде және 1-суретте келтірілген.

1 кесте – Әр түрлі жазық түпті планшеттерді пайдалана отырып ИФТ қою кезіндегі жануарлардың хламидиозының телімді және қалыпты антигендерінің оптикалық тығыздығының көрсеткіштері

Планшет өндіруші мемлекет	Антигендер	Антигендердің ерітінділері және оптикалық тығыздық көрсеткіштері							
		1:10	1:20	1:40	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280
Финляндия	Телімді	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01
	Қалыпты	0,00	0,01	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00
Италия	Телімді	0,02	0,02	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,01
	Қалыпты	0,02	0,02	0,02	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01
АҚШ («Costar»)	Телімді	2,94	2,93	2,96	2,89	2,90	2,92	2,90	2,91
	Қалыпты	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,00	0,01	0,00



1 сурет – ИФТ қою кезіндегі жануарлардың хламидиозы қоздырғышының телімді және қалыпты антигендерінің оптикалық тығыздығының көрсеткіштері

1-кесте мен 1-суреттегі мәліметтерден, жануарлардың хламидиозына диагноз қою мақсатында антигендерді анықтау кезінде ИФТ жүргізуде АҚШ-тың полистиролды жазық түпті планшеттері сезімтал болып табылатындығын көруге болады, өйткені осы планшеттерді қолдана отырып, нақты нәтижелер алынды. Осы ауруды диагностикалау үшін ИФТ қою кезінде Финляндия мен Италияның планшеттерінің тиімділігі аз болды.

Келесі кезеңдегі жүргізілген зертеулердің барысында Жануарлардың хламидиозын балау кезінде телімді иммунды глобулиннің оңтайлы концентрациясы анықталды. Жануарлардың хламидиозының диагностикасы кезінде ИФТ қою үшін иммунды глобулиндердің оңтайлы концентрациясын (планшеттерді сенсбилизациялау үшін) таңдау бойынша зерттеу нәтижелері 2-кестеде келтірілген.

2 кесте – Иммунды глобулиннің оңтайлы концентрациясын таңдау

Иммунды глобулин	ЖХІТ телімді антигенінің ерітінділері							Қалыпты антигеннің ерітінділері	
	10	20	40	80	160	320	640	10	100
Сыналған концентрациялар, мкг/мл									
10	+	+	+	+	+	+	+	-	-
25	+	+	+	+	+	+	+	-	-
50	+	+	+	+	+	+	+	-	-
100	+	+	+	+	+	+	+	-	-
200	+	+	+	+	+	+	+	+	-
300	+	+	+	+	+	+	+	+	+
400	+	+	+	+	+	+	+	+	+
500	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Ескертпе
 1 Антигендердің ерітінділері кері шамада берілген
 2 «+» – ИФТ-ғы оң нәтиже
 3 «-» – теріс нәтиже

Осылайша, 2-кестеде келтірілген нәтижелерден жануарлардың хламидиозы иммунды глобулиннің ДПР-да 1:32-де белсенділігі бар барлық сыналған концентрациялары ИФТ-да 200 мкг/мл концентрациясына дейін қалыпты антигенмен теріс реакция және телімді антигенмен оң реакция беретіні көрінеді.

Иммунды глобулиннің шекті концентрациясы, оның 100 мкг/мл құрайтын шекті сұйылтуында телімді антигенді анықтауға мүмкіндік береді.

Келесі тәжірибеміздің барысында жануарлардың хламидиозының телімді конъюгатының жұмыстық ерітіндісін анықтадық.

Жануарлардың хламидиозының диагностикасы кезінде телімді конъюгаттың жұмыстық ерітіндісін анықтау бойынша жүргізілген зерттеулердің орташа мәліметтері 3-кестеде келтірілген.

3 кесте – Телімді конъюгаттың жұмыстық ерітіндісін анықтау

Конъюгат-тың ерітіндісі	Телімді антигеннің ерітіндісі							Қалыпты антигеннің ерітіндісі	
	10	20	40	80	160	320	640	10	100
50	+	+	+	+	+	+	-	-	-
100	+	+	+	+	+	+	-	-	-
200	+	+	+	+	+	-	-	-	-
400	+	+	+	+	-	-	-	-	-
800	+	+	-	-	-	-	-	-	-
1600	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3200	-	-	-	-	-	-	-	-	-
6400	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ескертпе
 1 Конъюгаттар мен антигендердің ерітінділері кері шамада берілген
 2 «+» – ИФТ-ғы оң нәтиже
 3 «-» – теріс нәтиже

3-кестенің мәліметтерінен ИФТ-да ЖХИТ-на диагноз қою кезінде конъюгаттың шекті титрлері 1:800 құрағанын көруге болады. Демек, конъюгаттың сегіз есе төмен алынған жұмыстық ерітіндісі – 1:100-ді құрайды.

ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемалары ғылыми-зерттеу институты» РМК бас директорының 29.11.2019 жылғы №291-п бұйрығы негізінде 2019 жылғы 03-10 желтоқсан аралығында ауыл шаруашылығы жануарларының хламидиоздық іш тастауының қоздырғышын диагностикалау үшін ИФТ әдісінің телімділігін, сезімталдығын және тиімділігін тексеру бойынша комиссиялық тәжірибе сәтті өткізілді.

Өткізілген комиссиялық тәжірибенің нәтижелері бойынша ИФТ әдісімен ауыл шаруашылығы жануарларының хламидиоздық түсігін диагностикалау үшін тест-жүйесіне (жиынтығына) нормативтік-техникалық құжаттама (НТҚ) рәсімделді және институт басшылығымен бекітілді, СТ 405-1919-04 ГП-123-2019.

Қорытынды. Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде жануарларының хламидиоздық іш тастауы қоздырғышының телімді антигенін анықтау мақсатында ИФТ қоюдың оңтайлы жағдайлары таңдалынып алынды.

Құрастырылған тест-жүйе комиссиялық сынақтан сәтті өтті және ИФТ әдісімен жануарлардың хламидиозын зертханалық балау үшін әзірленген тест-жүйенің нормативтік-техникалық құжаттамасы рәсімделінді.

Жан-жақты жүргізілген зерттеулердің толыққанды нәтижесі ретінде әзірленген ИФТ әдісімен балауға арналған тест-жүйенің жануарлардың хламидиозын диагностикалау үшін тәжірибелік маңызы бар.

ӘДЕБИЕТ

1 Обухов И.Л., Яковенко М.В. Разработка праймеров для детекции хламидий // Ветеринария. – 2000. – N 5. – С. 22-23.

2 Митрофанов П.М. Новая классификация хламидий и ее значение для практической ветеринарии // Труды Чувашской госсельхозакадемии. - Чебоксары, 2001. - N 15. - С. 106- 108.

3 Четвертных В.А. Экспериментальный хламидиоз и интегральная оценка морфофункциональных реакций органов иммунной системы: автореф. ... док. мед. наук. –Пермь, 2001. – 50 с.

4 Ставничий Е. В. Внутривидовые и межвидовые гибридные популяции клеток и их биологические свойства: автореф. ... канд. биол. наук: 03.00.23. - Покров, 2003. – 25 с.

5 Абеуов Х.Б., Кошеметов Ж.К., Оразымбетова Н.К., Сейсенбаева М.С., Маткеримова К.Г. Приготовление очищенного антигена из местных штаммов хламидий // Изденістер – нәтижелер. (Исследования, результаты). – 2019. – N 4.

6 Абеуов Х.Б., Кошеметов Ж.К., Оразымбетова Н.К., Сейсенбаева М.С., Маткеримова К.Г. Выделение иммуноглобулинов из антихламидийных сывороток // Polish journal of Science. – 2019. - Vol. 22 (2). – P. 32-36.

7 Маткеримова К.Г., Абеуов Х.Б., Кошеметов Ж.К. Сравнительная эффективность серологических методов диагностики хламидиозного аборта овец: Шестая Междунар. конф. молодых ученых: биофизиков, биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов. Научоград Кольцово-2019. – Кольцово, 2019. - С.364-367.

УДК 571.27: 615.37

**К.К. Акылбаева, А.С. Нурпейсова, К.К. Джекебеков, Р.Т. Абитаев, Э.Ж. Қалимолда,
К.А. Шораева, М.М. Касенов, Н.Н. Асанжанова, Ж. К. Кыдырбаев, К. Закарья**

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

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ОПЫТНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СЕРИИ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ЭМУЛЬГИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ГРИППА ПТИЦ СУБТИПОВ H5 И H9

Аннотация. В данной статье представлены результаты комиссионных испытаний опытно-производственной серии инактивированных эмульгированных вакцин против гриппа птиц субтипов H5 и H9.

Угроза заноса гриппа птиц субтипов H5 и H9 на территорию Казахстана из неблагоприятных сопредельных стран все еще остается актуальным. На основе проведенных работ было установлено, что опытно-производственной серии инактивированных эмульгированных вакцин против гриппа птиц субтипов H5 и H9, разработанные в РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» Комитета науки Министерства образования и науки Республики Казахстан, соответствуют инструкции по изготовлению и контролю стандарта организации СТ 405-1919-04 ГП-096-2017.

Ключевые слова: контроль качества вакцины, грипп птиц, субтипы H5 и H9.

**К.К. Акылбаева, А.С. Нурпейсова, К.К. Джекебеков, Р.Т. Абитаев, Э.Ж. Қалимолда,
К.А. Шораева, М.М. Касенов, Н.Н. Асанжанова, Ж. К. Кыдырбаев, К. Закарья**

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

H5 ЖӘНЕ H9 СУБТИПТЕРІНДЕГІ ҚҰС ТҰМАУЫНА ҚАРСЫ ИНАКТИВТЕНДІРІЛГЕН ЭМУЛЬГИРЛЕНГЕН ВАКЦИНАНЫҢ ТӘЖІРИБЕЛІК-ӨНДІРІСТІК СЕРИЯСЫНЫҢ САПАСЫН БАҚЫЛАУ

Аннотация. Бұл мақалада H5 және H9 субтиптерінің құс тұмауына қарсы инактивтендірілген эмульгирленген вакциналардың тәжірибелік-өндірістік сериясының комиссиялық сынақтарының нәтижелері ұсынылған.

Қазақстан аумағына қолайсыз шектес елдерден H5 және H9 субтиптерінің құс тұмауын әкелу қаупі әлі де өзекті болып отыр. Жүргізілген жұмыстардың негізінде Қазақстан Республикасы Білім және ғылым министрлігі Ғылым комитетінің “Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты” РМК-да әзірленген H5 және H9 субтиптерінің құс тұмауына қарсы инактивтендірілген эмульсияланған вакциналардың тәжірибелік-өндірістік сериясы ұйым стандартын әзірлеу және бақылау жөніндегі нұсқаулыққа 405-1919-04 БП-096-2017 сәйкес келетіні анықталды.

Түйін сөздер: вакцинаның сапасын бақылау, құс тұмауы, H5 және H9 субтипі.

**K.K. Akylbayeva, A.S. Nurpeisova, K.K. Zhekebekov, R.T. Abitayev, E.Zh. Kalimolda,
K.A. Shorayeva, M.M. Kassenov, N.N. Assanzhanova, Zh.K. Kydyrbaev, K. Zakarya**

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

QUALITY CONTROL OF THE EXPERIMENTAL PRODUCTION SERIES INACTIVATED EMULSIFIED VACCINE AGAINST AVIAN INFLUENZA SUBTYPES H5 AND H9

Abstract. This article presents the results of Commission tests of a pilot series of inactivated emulsified avian influenza vaccines of subtypes H5 and H9.

The threat of introduction of avian influenza subtypes H5 and H9 to the territory of Kazakhstan from

disadvantaged neighboring countries is still relevant. Based on the work carried out, it was found that the experimental production series of inactivated emulsified against avian influenza vaccines of subtypes H5 and H9 developed in the RSE “Research Institute of biological safety problems” of the Committee of Science of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan comply with the instructions for the production and control of organization standard No. 405-1919-04 ГП-096-2017.

Key words: vaccine quality control, avian influenza, H5 and H9 subtypes.

Введение. В последние годы в популяциях диких и домашних птиц практически во всех странах и в ряде стран Африки, Азии и Ближнего Востока обнаружены высокопатогенные варианты вируса гриппа А [1]. Наиболее часто выявляемыми подтипами птичьего гриппа, вызвавшими инфицирование человека, являются вирусы H5, H7 и H9 [2]. Тщательный надзор над вирусами гриппа у различных видов птиц, помимо домашней птицы, а также проведение своевременной профилактики имеет важное значение для понимания передачи гриппа и предотвращения распространения [3].

По последним данным (рисунок 1), было зарегистрировано (24 мая 2019 года) вспышка высокопатогенного птичьего гриппа серотипа H5 в приграничном к Казахстану регионе в поселке Ичегашань, Или-Казахском автономном округе, Китай. Также, на территории России, Усть-Донецке Ростовской области с 4 по 21 января 2019 г. были зарегистрированы вспышки высокопатогенного гриппа птиц, серотипа H5.



Рисунок 1 – Ситуация по высокопатогенному гриппу птиц на январь 2019 года по август 2020 год (данные OIE: https://www.oie.int/wahis_2)

Последние годы наблюдаются частые вспышки вируса гриппа птиц субтипа H9N2 (НГП) и его широкое распространение среди домашних птиц в странах Ближнего Востока и Азии [4, 5]. Болезнь, вызываемая вирусом вируса гриппа птиц субтипа H9N2 проявляется атаксией и иногда диареей, птица угнетена, оперение взъерошено, длительное сохранение его в окружающей среде приводит к снижению яйценоскости домашних птиц. Панкреатический некроз описан у индюков [6], а также были выявлены единичные случаи у людей [5].

Учитывая вышеперечисленных сведения угроза заноса высокопатогенного и низкопатогенного гриппа птиц субтипов H5 и H9 на территорию Казахстана из неблагополучных сопредельных стран все еще остается актуальным.

Исходя из этого, целью данного исследования является проведение контроля качества опытно-производственной серии инактивированных вакцин против гриппа птиц субтипов H5 и H9 согласно стандарту организации СТ 405-1919-04 ГП-096-2017.

Материалы и методы

Вакцина

В работе были использованы вакцины, инактивированные эмульгированные против гриппа птиц субтипа H5 из штамма рекомбинантного штамма A/gyrfalcon/Washington/41088-6/2014(H5N8) - PR8-IDCDC-RG43A и субтипа H9 из рекомбинантного штамма A/Hong Kong/308/2014-A/PR/8/34[R] (6+2) H9N2.

Опыты по контролю качества инактивированных эмульгированных вакцин против гриппа птиц субтипов H5 и H9 были проведены согласно стандарта организации СТ 405-1919-04 ГП-096-2017, который включает в себя параметры контроля: определение стерильности, бактериальной и грибковой контаминации испытуемых вакцин, физико-химических свойств и концентрации водородных ионов (pH), контроль стабильности вакцины методом центрифугирования и термостагирования, кинематической вязкости, оценка безвредности/реактогенности и определение иммуногенности.

Птицы

Иммуногенность и эффективность вакцин против гриппа птиц субтипов H5 и H9 исследовали по 90 цыплятах (для каждой вакцины), восприимчивых к вирусу гриппа, в возрасте старше 30 суток, с живой массой не ниже 100 г, из хозяйств благополучных по острым инфекционным заболеваниям и серо негативных к вирусу гриппа типа А.

Биоэтика

Все образцы были собраны в соответствии со стандартной процедурой и соблюдением всех этических норм руководства Европейского Союза [7]. Все лабораторные работы проводились с соблюдением биоэтических норм и правил в лабораториях Научно-исследовательского института проблем биологической

безопасности, Жамбылская область, Казахстан (Протокол № 8 от 28 апреля 2020 г.).

Результаты. Результаты определения физико-химических свойств и концентрации водородных ионов (рН) вакцин, инактивированных эмульгированных из рекомбинантных штаммов Gyrfalcon (H5N8) и Hong Kong (H9N2) представлены в таблице 1.

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

Параметры контроля	Технические (технологические) требования к ветеринарному препарату	Результаты контроля качества
Вакцина инактивированная эмульгированная против гриппа птиц субтипа Н5 из штамма Gyrfalcon (H5N8)		
Физико-химические свойства вакцины (внешний вид, лекарственная форма, форма фасовки, наличия посторонних примесей, плесени)	Лекарственная форма – эмульсия Внешний вид вакцины - однородная эмульсия белого цвета. Допускается частичное расслоение эмульсии, легко восстанавливаемое при встряхивании	Однородная эмульсия белого цвета. Имеется частичное расслоение эмульсии, легко восстанавливаемое при встряхивании. Флакон и фасовка соответствует СТ 405-1919-04 ГП-096-2017
Концентрация водородных ионов (рН)	Показатели водородных ионов – 6,8-7,4	7,32
Вакцина инактивированная эмульгированная против гриппа птиц субтипа Н9 из штамма Hong Kong (H9N2)		
Физико-химические свойства вакцины (внешний вид, лекарственная форма, форма фасовки, наличия посторонних примесей, плесени)	Лекарственная форма – эмульсия Внешний вид вакцины - однородная эмульсия белого цвета. Допускается частичное расслоение эмульсии, легко восстанавливаемое при встряхивании	Однородная эмульсия белого цвета. Имеется частичное расслоение эмульсии, легко восстанавливаемое при встряхивании
Концентрация водородных ионов (рН)	Показатели водородных ионов – 6,8-7,4	7,0

При изучении кинематической вязкости инактивированных эмульгированных вакцин вируса гриппа птиц субтипов Н5 и Н9 было определено, что при неопределенности опыта $\pm 0,00895$ и $\pm 0,00894$ показатели вязкости равны к 37,9 и 38,03 мм²/с, соответственно. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты контроля кинематической вязкости эмульсии вакцины против гриппа птиц субтипов Н5 и Н9

Наименование вакцины	Повторность испытаний	Время t, с	t, среднее с	Вязкость, V	Неопределённость опыта
Вакцина инактивированная эмульгированная против гриппа птиц субтипа Н9 из штамма Hong Kong (H9N2)	1	37,9	37,9	37,9	$\pm 0,00895$
	2	38,0			
	3	38,0			
Вакцина инактивированная эмульгированная против гриппа птиц субтипа Н5 из штамма Gyrfalcon (H5N8)	1	37,1	38,03	37,3	$\pm 0,00894$
	2	38,6			
	3	38,4			

Безвредность испытуемых вакцин против гриппа птиц субтипов Н5 и Н9 была проверена на цыплятах в возрасте 30 суток, массой не ниже 100 г, из хозяйств благополучных по острым инфекционным заболеваниям и серо негативных к вирусу гриппа птиц типа А. Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты определения безвредности/реактогенности вакцин против гриппа птиц субтипов Н5 и Н9 у цыплят

Наименование испытуемых вакцин	Количество птиц в опыте, гол	Результаты наблюдения за птицами (местная реакция)	Тканевая реакция на месте введения вакцины
Вакцина инактивированная эмульгированная против гриппа птиц субтипа Н9 из штамма Hong Kong (H9N2)	10	----	----
Вакцина инактивированная эмульгированная против гриппа птиц субтипа Н5 из штамма Gyrfalcon (H5N8)	10	----	----
Примечания			
1 «+» реакция незначительная (единичное дисткретное разрастание волокнистой соединительной ткани белого цвета, диаметром 2,0-2,5 мм			
2 «-» отсутствие реакции			

По полученным данным (таблица 3) контроля испытуемых вакцин против гриппа птиц субтипов H5 и H9 было выявлено, что исследуемые вакцинные препараты являются безвредными/реактогенными и авирулентными.

Для определения динамики накопления среднегеометрических антител птиц были отобраны сыворотки крови у вакцинированных птиц и исследованы в РТГА. Результаты исследований среднего геометрического титра (СГТ) приведены на рисунке 2.

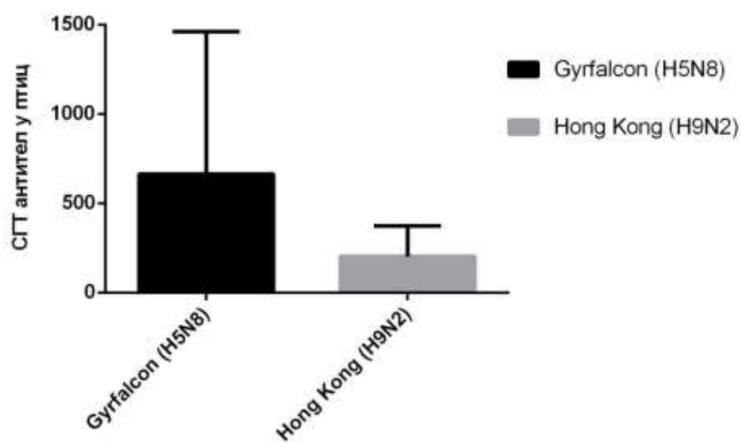


Рисунок 2 – СГТ антител у птиц на 28 сутки после однократной вакцинации, привитых вакцинами против гриппа птиц субтипа H5 из штамма Gyrfalcon (H5N8) и субтипа H9 из штамма Hong Kong (H9N2)

Данные рисунка 2 показывают, что разработанные вакцины против гриппа птиц субтипа H5 и H9 обладают выраженной антигенной активностью. Средний геометрический титр антител у птиц, привитых вакциной из рекомбинантного штамма Gyrfalcon (H5N8) составил 1:171,4 при этом 100 % привитых птиц были иммунными к вирусу гриппа птиц субтипа

H5, титры антител превышали 1:16, вакцина обладала 100 % иммуногенностью.

Вакцина инактивированная эмульгированная из штамма Hong Kong (H9N2) против гриппа птиц субтипа H9 также обладала высокой иммуногенностью, СГТ у привитых птиц составили 1:53,81. Вакцина из штамма Hong Kong (H9N2) обеспечила у 75 % привитых птиц формирование напряженного иммунитета, иммуногенность у птиц составила 85 %.

Заключение. Таким образом, в результате исследований вакцины против гриппа птиц субтипов H5 и H9 на соответствие стандарту организации СТ 405-1919-04 ГП-096-2017 установлено, что вакцина против гриппа птиц из рекомбинантных штаммов Gyrfalcon (H5N8) и Hong Kong (H9N2) по внешнему виду представляет собой стойкую однородную эмульсию белого цвета, без посторонних примесей, концентрация водородных ионов (рН) вакцин составляют 7,32 и 7,4, кинематическая вязкость вакцин достигали 37,9 и 37,3 мм²/с, соответственно. По стерильности вакцина соответствует требованиям ГОСТ 28085-2013. Вакцины авирулентны, безвредны и нетоксичны для птиц. Также, вакцины обуславливают создание 100 % и 75 % напряженного иммунитета против гриппа птиц субтипов H5 и H9 на 28 сутки после однократной вакцинации. Испытуемые вакцины по внешнему виду представляют собой стойких однородных эмульсии белого цвета без посторонних примесей. По стерильности вакцина соответствует требованиям ГОСТ 28085-2013.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках программно-целевого финансирования О.0878 «Ветеринарная безопасность территории Республики Казахстан: эпизоотологический мониторинг, испытание, внедрение и коммерциализация средств специфической профилактики и диагностики особо опасных инфекционных заболеваний» (ИРН BR06249226) при финансировании Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан договор № 28 от 10 сентября 2018 года.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Swayne D.E., Suarez D.L. Highly pathogenic avian influenza // *Rev Sci Tech.* – 2010. N 19 (2). – P. 463-82.
- 2 Центры по контролю и профилактике заболеваний, Национальный центр иммунизации и респираторных заболеваний (NCIRD) // <https://www.cdc.gov/flu/avianflu/influenza-a-virus-subtypes.htm>.
- 3 Brown I.H. Summary of avian influenza activity in Europe, Asia, and Africa, 2006-2009 // *Avian Dis.* – 2020. – Vol. 54. – P. 187-193.
- 4 Оганесян А.С., Варкентин А.В., Баскакова Н.Е., Караулов А.К. Качественная оценка риска распространения вируса гриппа птиц через инкубационное яйцо // *Ветеринария сегодня.* – 2018. – N 1 (24).
- 5 Butt K.M. et al.] Human infection with an avian H9N2 influenza A virus in Hong Kong in 2003 // *J. Clin. Microbiol.* – 2005. – Vol. 43, N 11 – P. 5760-5767.
- 6 Capua I., Terregino C. Clinical and pathology of avian influenza infections, guidelines for farm visit and differential diagnosis // *Avian Influenza and Newcastle Disease, a Field and Laboratory Manual.* – Milan, 2009. – P. 45-71.
- 7 European Union. Directive 2010/63/EU of the European parliament and the council of 22 september 2010 on the protection of animals used for scientific purposes // *Official J. Eur. Union.* - Vol. 276. – P. 33-79.

Г.Е. Алпысбаева, Б.Б. Барахов, А.А. Малдыбаева, Қ. Қалан, Н.А. Шамгунов

НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», г. Алматы, Казахстан,
E-mail: baxa.kz.uko@mail.ru

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДЕЗИНФЕКЦИОННЫХ МЕРОПРИЯТИЙ В МОЛОЧНЫХ ХОЗЯЙСТВАХ

Аннотация. В статье рассмотрены вопросы оценки микробной загрязненности молочных хозяйств и мероприятия по снижению микроорганизмов. Проведены исследования по изучению сравнительной эффективности двух способов дезинфекции: влажной и пенной. Дезинфекция позволяет разорвать эпизоотическую цепь при передаче возбудителя болезни от источника инфекции к восприимчивому организму. В исследуемых хозяйствах влажная дезинфекция проводится с помощью ДУК и ДУ750. После проведения влажной дезинфекции количество микроорганизмов в среднем снизилось до 79,2 %. После проведения пенной дезинфекции количество микроорганизмов во всех исследуемых хозяйствах заметно снизилось до 85,4 %.

Ключевые слова: дезинфекция, молочные хозяйства, животноводческие помещения, микробная загрязненность.

Г.Е. Алпысбаева, Б.Б. Барахов, А.А. Малдыбаева, Қ. Қалан, Н.А. Шамгунов

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

СҮТ ФЕРМАЛАРЫНДА ДЕЗИНФЕКЦИЯ ШАРАЛАРЫНЫҢ ТИІМДІЛІГІ

Аннотация. Мақалада сүт фермаларының микробтық ластануын бағалау және микроорганизмдерді азайту шаралары қарастырылған. Залалсыздандырудың екі әдісінің салыстырмалы тиімділігін зерттеу бойынша зерттеулер жүргізілді: ылғал және көбікті. Дезинфекция ауру қоздырушы инфекция көзінен сезімтал организмге өткен кезде эпизоотиялық тізбекті бұзуға мүмкіндік береді. Зерттелген шаруашылықтарда ылғалды дезинфекция ДУК және ДУ750 көмегімен жүргізіледі. Ылғал дезинфекциядан кейін микроорганизмдер саны орта есеппен 79,2 %-ға дейін төмендеді. Көбікті дезинфекциядан кейін барлық зерттелген шаруашылықтарда микроорганизмдер саны 85,4 %-ға дейін айтарлықтай төмендеді.

Түйін сөздер: дезинфекция, сүт фермалары, мал қора-жайлары, микробтардың ластануы.

G.E. Alpybayeva, B.B. Barakhov, A.A. Maldybayeva, K. Kalan, N.A. Shamgunov

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

EFFICIENCY OF DISINFECTION MEASURES IN DAIRY FARMS

Abstract. The article deals with the assessment of microbial contamination in dairy farms and measures to reduce microorganisms. Research has been carried out to study the comparative effectiveness of two methods of disinfection: wet and foam. Disinfection allows you to break the epizootic chain when the pathogen is transmitted from the source of infection to a susceptible organism. In the studied farms, wet disinfection is carried out using DUK and DU750. After wet disinfection, the number of microorganisms on average decreased to 79.2 %. After the foam disinfection, the number of microorganisms in all studied farms significantly decreased to 85.4 %.

Key words: disinfection, dairy farms, livestock buildings, microbial contamination.

Введение. Ветеринарное благополучие животноводческих предприятий, в основном, зависит от своевременного выполнения плановых профилактических ветеринарно-санитарных мероприятий и, в первую очередь, дезинфекционных. В настоящее время дезинфекция как эффективный метод борьбы с инфекционными болезнями ведется только при их вспышке. В остальных случаях на объектах животноводства (кроме птицеводства) дезинфекция практически не проводится. Вовремя принятые качественные меры дезинфекции позволяют создать стойкий антимикробный режим на объектах животноводства, птицеводства и перерабатывающих предприятиях, снизить риски заболеваний животных, повысить сохранность поголовья и получить безопасную продукцию [1, 2, 3].

В результате многолетнего и нерационального применения традиционных дезинфектантов, сформировалась устойчивая к ним микрофлора. Кроме того, большинство из применяемых этих дезинфектантов могут длительное время находиться во внешней среде без изменения или трансформироваться до канцерогенов и

экотоксикантов (диоксины, тригалометаны и т.д.). Проникая в организм животных, а затем и человека, эти соединения приводят к снижению иммунного статуса и способны вызывать изменения генетического кода. Влажный метод дезинфекции, основанный на непосредственном орошении, протирании или погружении загрязненных объектов в дезинфектант, несмотря на значительный расход дезинфектантов, не обеспечивает требуемую степень обработки воздуха, сложного оборудования и некоторых типов поверхностей [4, 5, 6].

Материал и методика исследований. Исследовательские работы проводились на базе молочных хозяйств СПК «ПЗ Алматы», ИП «Садыков», ТОО «Тастобе Агро Фуд», ИП «Каримов», ТОО «Какпатас-Кордай» в период с 2019-2020 годы.

Объектами исследований являлись животноводческие фермы для содержания дойного стада крупного рогатого скота.

Величину микробной обсемененности воздуха помещений устанавливали методом улавливания микроорганизмов с помощью жидкости, предложенной И.И. Гуславским Ж.Б. Мырзабековым, П.Ш. Ибрагимовым, О.О. Тагаевым согласно которой для улавливания микроорганизмов использовали склянку УМ-1 АЗВИ (улавливатель микроорганизмов) из химически чистого стекла объемом 50 мл. Дозирование подачи воздуха осуществляли насосом универсального газоанализатора типа УГ-2, применяемого для определения углекислого газа, аммиака, сероводорода и окиси углерода. Фильтрующей жидкости являлся физиологический раствор.

Результаты исследований и их обсуждение. Для оценки эффективности санитарно-гигиенических мероприятий нами было изучено состояние общего микробного фона животноводческих помещений в СПК «ПЗ Алматы», ИП «Садыков», ТОО «Тастобе Агро Фуд», ИП «Каримов», ТОО «Какпатас-Кордай».

Бактериальная загрязненность помещений зависит от многочисленных факторов, но основным фактором является состояние микроклимата, которое зависит от рациональной работы систем вентиляции, канализации и своевременные санитарно-гигиенические мероприятия.

После механической очистки брали смывы со стен, кормушек, поилок, пола, а также пробы воздуха в помещениях. Смывы с поверхностей и пробы воздуха были исследованы на общее КМАФАнМ и наличие БГКП (таблица 1).

Таблица 1 – Микробная контаминация животноводческих помещений

Микроорганизмы	Объекты отбора проб				
	Стены	Пол	Кормушки	Поилки	Воздух, КОЕ/м ³
СПК «ПЗ Алматы»					
БГКП, наличие	+	+	-	-	-
КМАФАнМ, КОЕ/см ²	21,4x10 ³	31,8x10 ³	13,4x10 ³	8,6x10 ³	37,8x10 ³
ИП «Садыков»					
БГКП, наличие	+	+	+	+	-
КМАФАнМ, КОЕ/см ²	32,6x10 ³	41,3x10 ³	20,5x10 ³	15,7x10 ³	51,1x10 ³
ТОО «Тастобе Агро Фуд»					
БГКП, наличие	+	+	-	-	-
КМАФАнМ, КОЕ/см ²	21,2x10 ³	30,6x10 ³	14,1x10 ³	8,4x10 ³	39,2x10 ³
ИП «Каримов»					
БГКП, наличие	+	+	+	-	-
КМАФАнМ, КОЕ/см ²	25,4x10 ³	34,8x10 ³	16,3x10 ³	10,2x10 ³	42,4x10 ³
ТОО «Какпатас-Кордай»					
БГКП, наличие	+	+	+	-	-
КМАФАнМ, КОЕ/см ²	29,1x10 ³	38,4x10 ³	19,2x10 ³	14,6x10 ³	48,3x10 ³

По результатам проведенных исследований микробная обсемененность в СПК «ПЗ Алматы» оказалась ниже, по сравнению с другими хозяйствами. Во всех хозяйствах большое скопление микроорганизмов на полу и стенах, относительно меньше на поилках. Воздушная микрофлора в пределах нормы, но достаточно концентрирована, особенно в хозяйстве ИП «Садыков» 51,1x10³ КОЕ/м³. Во всех хозяйствах обнаружены БГКП: в СПК «ПЗ Алматы» и ТОО «Тастобе Агро Фуд» в смывах со стен и пола; в ТОО «Какпатас-Кордай» и ИП «Каримов» в смывах со стен, пола и кормушек; в ИП «Садыков» БГКП найдены во всех смывах с поверхностей.

Следующим этапом исследований был мониторинг дезинфекционных мероприятий, проводимых в исследуемых хозяйствах. В исследуемых хозяйствах проводится влажная дезинфекция с помощью ДУК и ДУ750. Проведенный ряд исследований показал, что при влажной дезинфекции не достигается высокий уровень обеззараживания. В связи с этим, нами была поставлена задача, провести пенную дезинфекцию и изучить сравнительную эффективность. Пенную дезинфекцию проводили с помощью ПМРП-50 (передвижной малогабаритный распылитель-пенообразователь), собранный исполнителями проекта. Дезпрепарат для пенной дезинфекции на основе глутарового альдегида и ПАВ, также разработан

исполнителями данного проекта. Концентрация рабочего раствора 0,5 %. Экспозиция дезинфекции 60 мин.

После проведения пенной дезинфекции количество микроорганизмов во всех исследуемых хозяйствах заметно снизилось. Об этом свидетельствуют полученные данные. Мы сопоставили все полученные результаты для сравнительной эффективности (таблица 2).

Таблица 2 – Сравнительная эффективность влажной и пенной дезинфекции

Снижение микроорганизмов, %	Объекты отбора проб				
	Стены	Пол	Кормушки	Поилки	Воздух
СПК «ПЗ Алматы»					
Влажная дезинфекция	82,2	75,4	84,3	91,8	82,3
Пенная дезинфекция	87,3	80,8	91,0	97,6	87,5
ИП «Садыков»					
Влажная дезинфекция	72,1	64,2	75,1	83,4	76,3
Пенная дезинфекция	80,1	72,1	81,4	89,2	82,1
ТОО «Гастобе Агро Фуд»					
Влажная дезинфекция	82,5	74,1	82,9	90,5	83,4
Пенная дезинфекция	86,7	81,3	89,3	95,2	85,9
ИП «Каримов»					
Влажная дезинфекция	78,3	70,9	80,3	86,2	80,4
Пенная дезинфекция	85,4	78,1	86,5	92,2	86,1
ТОО «Какпатас-Кордай»					
Влажная дезинфекция	75,2	66,4	78,1	85,6	77,6
Пенная дезинфекция	82,1	74,5	86,4	92,5	83,0

В СПК «ПЗ Алматы» после влажной дезинфекции количество микроорганизмов снизилось в среднем на 83,2 %, после пенной дезинфекции данный показатель составил 88,8 %. Эффективность дезинфекции повысилась на 5,6 %.

В ИП «Садыков» средняя эффективность влажной дезинфекции составила 74,2 %, пенной дезинфекции – 80,9 %, что свидетельствует об улучшении результата на 6,7 %.

В ТОО «Гастобе Агро Фуд» снижение микроорганизмов после влажной дезинфекции составило в среднем 82,7 %, после пенной дезинфекции – 87,7 %. Эффективность обеззараживания повышена на 5 %.

В ИП «Каримов» средняя эффективность влажной дезинфекции составила 79,2 %, пенной дезинфекции – 85,6 %. Эффективность дезинфекции повысилась на 6,4 %.

В ТОО «Какпатас-Кордай» после влажной дезинфекции количество микроорганизмов снизилось в среднем на 76,6 %, после пенной дезинфекции данный показатель составил 83,7 %. Эффективность дезинфекции повысилась на 7,1 %.

Заключение. Дезинфекция позволяет разорвать эпизоотическую цепь при передаче возбудителя болезни от источника инфекции к восприимчивому организму. В исследуемых хозяйствах влажная дезинфекция проводится с помощью ДУК и ДУ750. После проведения влажной дезинфекции количество микроорганизмов в среднем снизилось до 79,2 %. После проведения пенной дезинфекции количество микроорганизмов во всех исследуемых хозяйствах заметно снизилось до 85,4 %.

ЛИТЕРАТУРА

1 Худяков А.А. Эффективная дезинфекция и подбор дезинфектанта // Ветеринария. - 2010. – N 2. – С. 18-22.

2 Алпысбаева Г.Е., Алиханов К.Д., Барахов Б.Б., Келисбаева А.А. Изучение дезинфицирующей активности препаратов на основе поверхностно-активных веществ / «Ғылым және білім» Жәңгірхан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университетінің ғылыми-практикалық журналы. – 2018. – N 1 (50). – Б. 106-109.

3 Мырзабеков Ж.Б., Барахов Б.Б., Алпысбаева Г.Е., Алиханов К.Д. Динамика показателей микроклимата в разных зонах коровниках в зависимости от сезона года // Исследование, результаты. – 2019. – N 4 (85). – С. 56-64.

4 Алиханов К.Д., Барахов Б.Б., Танбаева Г.А., Тагаев О.О. Көбікті дезинфекцияда қолданылатын дезинфекциялық препараттардың бактерицидтік қасиетін салыстырмалы зерттеу // «Ғылым және білім» Жәңгірхан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университетінің ғылыми-практикалық журналы. – 2019. – N 2 (55). – Б. 224-228.

5 Попов Н.И. Применение пен в ветеринарии // Ветеринария. - N 6. – С. 11.

6 Isabekov S., Yespembetov B., Tagayev O., Ispulova D. Isolation of bacteriophages and their lytic activity in the development of a biological product of the polyphage as a disinfectant for bacterial infections // «Ғылым және білім» Жәңгірхан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университетінің ғылыми-практикалық журналы. – 2020. – N 2 (59). – Б. 187-193.

Ж. Байдуллаев, У.Ж. Омарбекова

Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Алматы қ., Қазақстан
E-mail: urzanoma-58@mail.ru

ТҮРКІСТАН ОБЛЫСЫ САЙРАМ АУДАНЫНЫҢ АУМАҒЫНДАҒЫ ТОПАЛАҢ ҚОРЫМДАРЫНА ИНДЕТТАНУЛЫҚ ТАЛДАУ

Аннотация. Мақалада жануарлардың топалаң көмінділерінің індеттанулық жағдайын Түркістан облысы Сайрам ауданы бойынша талдау нәтижелері келтірілген. Қазақстан Республикасының 1948-2002 жж. топалаң бойынша стационарлық қолайсыз пункттерінің кадастрына сәйкес, зерттеуге алынған Сайрам ауданының өзіндік нәтижелері және ветеринариялық есептіліктің статистикалық деректері зерттеліп, талданған.

Түйін сөздер: топалаң, қоздырушы, пункт, ошақ, ауру, қорымдар, қолайсыз, санат, жұқтыру, қауіптілік.

Ж. Байдуллаев, У.Ж. Омарбекова

Казахский национальный аграрный университет, г. Алматы, Казахстан

ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЗАХОРОНЕНИЙ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ НА ТЕРРИТОРИИ САЙРАМСКОГО РАЙОНА ТУРКЕСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ

Аннотация. В статье представлены результаты анализа эпизоотологической ситуации захоронений сибирской язвы животных по Сайрамскому району Туркестанской области. Проанализированы статистические данные, ветеринарной отчетности и исследованы пункты Сайрамского района в соответствии с кадастром 1948-2002 годы стационарно-неблагополучных пунктов по сибирской язве РК.

Ключевые слова: сибирская язва, возбудитель, пункт, очаг, болезнь, захоронения, неблагополучные, категория, заражение, опасность.

Zh. Baidullayev, U.Zh. Omarbekova

Kazakh national agrarian University, Almaty, Kazakhstan

EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS OF ANTHRAX BURIALS ON THE TERRITORY OF SAIRAM DISTRICT OF TURKESTAN REGION

Abstract. The article presents the results of the analysis of the epizootological situation of animal anthrax burials in the Sairam District of Turkestan region. Statistical data and veterinary reports were analyzed and points of the Sairam district were studied in accordance with the inventory of 1948-2002 stationary and unfavorable points for anthrax in the Republic of Kazakhstan.

Key words: anthrax, pathogen, point, focus, disease, burial, dysfunctional, category, infection, danger.

Кіріспе. Қазіргі кезде іс жүзінде бүкіл әлемде ветеринариялық және денсаулық сақтау саласының маңызды мәселесінің бірі «топалаң» ауруы болып саналады. ДСҰ мәліметтері бойынша күйдіргімен 158 мемлекетте адамдар мен жануарлар ауырған. Жыл сайын әлем елдерінде 20000 адамның күйдіргімен ауырғаны тіркелген атауға болады. Аурудың кең тараған жерлері: Азия, Африка, Оңтүстік және Орталық Америка, Орталық Шығыс және Кариб бассейні мемлекеттері [1]. Қазақстан аумақтарында топалаңның стационарлық қолайсыз пункттері (СКП) көптеп кездесетін болғандықтан, эпидемиологиялық және эпизоотологиялық шараларды ұйымдастыру маңызды болып табылады [2].

Ветеринариялық статистикалық деректер бойынша Қазақстанда соңғы он жыл көлемінде эпизоотологияға қарсы іс шараларды кешенді жүргізу нәтижесінде, топалаңның қаулауы айтарлықтай қысқарды [3]. Әйтседе қазіргі уақытта дейін Қазақстанда топалаңның қолайсыз санаттағы ошақтарын есепке алу мәселесі толығымен шешіле қойған жоқ. Ауру тіркелген аймақ топалаң ошағының нақты қалыптасқан жері болып қала береді. Бұндай ошақтардың болуы эпизоотологиялық және эпидемиологиялық қауіптің сақталуын қамтамасыз етеді.

Көптеген шетел және отандық зерттеушілер аурудың қаулау көзінің қайталануын зерттеген. Украинада топалаң тіркелген 156 пунктті жиырма жыл бақылағанда, топалаң ауруы 76 пунктте 1 рет (48,7 %), 42 пунктте – 2 рет (26,92 %), 17 пунктте – 3 рет (10,9 %), 9 пунктте – 4 рет (5,77 %), 4 пунктте – 5 рет (2,56 %), 5 пунктте – 6 рет (3,21 %), 2 пунктте – 7 рет (1,28 %) және 1 пунктте – 12 рет (0,64 %) қайталанған

[4]. Сонымен қатар әдеби деректерге сәйкес осы ауру 2019 жылы Ақмола облысында және 2020 жылы Түркістан облысының Сайрам ауданының Қарасу мекенінде тіркелген екен [5].

Жаздың орта кезеңіне қарай топалаң ауруының қоздырушысымен жұғымталдық жоғарылайды, себебі жердің үсті мен оның бетіндегі шөп-шалам құрғайды да, шаң тозаңның көбеюі, жануарлардың тыныс алуы арқылы ауру қоздырушысын жұқтырады, құрғақ шөп ауыздың кілегей қабықшасын зақымдайды, сол арқылы жануарлардың ағзасына ауру қоздырушысы енеді, күзде ауа-райына байланысты бацилалар топырақта тез өледі, сол себепті аурудың таралуы азаяды.

Зерттеушілердің тағы бір тобы топалаңның жайылымдық фактормен ғана емес, сонымен қатар жылдың жаз мезгілінде жануарларды қан сорғыш жәндіктердің шағуымен байланыстырады, әдебиеттерде эпизотикалық үдерістің кезеңдік өршуімен және бәсеңдеуімен, араға жыл салып қайталанып отыратыны туралы мәліметтер кездеседі, бұл деректер екпеге дейінгі кезеңде нақты айқындалады [6].

ҚР аймақтарында топалаңның тек қана топырақ ошақтарын тіркеу қанағаттанарлықсыз, сонымен қатар індеттанулық бақылау негізінде аталған індет қорымдарындағы микроб ценоздарын зерттеу бойынша деректердің жоқ екенін атауға болады. Сондықтан, қазіргі уақытта өлген жануарлар көмілген қорымдарын есепке алу және тіркеу, сол аймақтардың топырағын зерттеу, айналымдағы ауру қоздырушысын, атап айтқанда топалаңның ескі қорымдарын жануарлар мен адамға жұғудың әлеуетті көзі ретінде аса қауіпті екенін ескерген жөн. Көптеген есепке алынбаған, стационарлық қолайсыз пункттерде бар. Демек, аурудың табиғи ошақтарын зерттеу, олардың қауіптілігін, ауру қоздырушысы көздерінің түрлік құрамын және берілу жолдарын анықтау жалпы және арнайы эпизоотияға қарсы шараларды жоспарлауда үлкен маңызға ие. Осыған байланысты бұл бағыттағы зерттеулердің тәжірибелік құндылығы жоғары болып есептеледі.

Жұмыстың мақсаты. Топалаң эпизоотологиясының аймақтық ерекшеліктерін және Түркістан облысы Сайрам ауданының аумағында инфекция ошақтары қорымдарының орналасуын зерттеу.

Зерттеу әдістемесі. Қазақстан Республикасының 1948-2002 жж. топалаң бойынша СҚП-нің кадастрына сәйкес, зерттеуге алынған Түркістан облысы Сайрам ауданының өзіндік нәтижелерін және ветеринариялық есептіліктің статистикалық деректерін талдау жолымен зерттелді.

Сондай-ақ, жұмыста халықаралық эпизоотиялық бюро (ХЭБ) ұсынған жұқпалы аурулардың қауіпін бағалау әдістемесі қолданылды (СН. 1.3.1 «Жер үсті жануарларының санитарлық кодексі», ХЭБ, 2010 ж. редакциясында).

Сайрам ауданының ауылдық округтері бөлінісінде жануарлар арасында топалаңның пайда болу және таралу тәуекелі, салыстырмалы эпизоотиялық шамаларды (СҚП санын, олардың үлесін, індеттік жағдайдың эпизоотиялық және шиеленісу индексын) ескере отырып, зерттелетін аумақта жануарлардың топалаңның пайда болуы және таралу тәуекелдерін бағалау өлшем шарттары анықталды.

Зерттеу нәтижелері және оларды талқылау. Ғылыми-зерттеу жұмыстарын орындау нәтижесінде Сайрам ауданының аумағы соңғы 82 жыл ішінде топалаңнан таза деп саналатыны анықталды. Топалаңның төменгі көрсеткіштері жануарлардың ауруды жұқтыруының бірен-саран жағдайлары ғана байқалған аудандарда кездескен, ал осы әкімшілік аудандарда адамдардың күйдіргімен ауруы байқалмаған. Сайрам ауданында топалаңды тіркеу жөніндегі жиынтық деректер 1 кестеде келтірілген.

1-кесте – 1937-1987 жж. аралықтарындағы Түркістан облысы Сайрам ауданындағы топалаң бойынша СҚП туралы деректер

Елді мекендер атауы	Стационарлы қолайсыз санаттар	Топалаңмен ауырғандардың саны	
Ақсу а/о, с. Ақсукеңт к/з Победа	1	2	27
Ақбұлақ а/о, с. Ақбұлақ, к/з Ленинский путь	1	-	16
Манкент а/о, с. Манкент, к/з Манкент	1	-	26
Жібек-Жолы а/о, с. Жібек-Жолы, к/з Свердлов	1	1	14
Қайнарбұлақ а/о, с. Совет, с/з Қайнарбұлақ	1	-	6
Көлкент а/о, с. Көлкент, с/з Фрунзе	1	2	13
Сайрам а/о, с. Сайрам, к/з Ленин	1		58
Қарамұрт а/о, с. Қарамұрт	1		8
Қарабұлақ а/о, с. Қарабұлақ, с/з А.Навои	1	8	28
Бадам а/о, с. Бадам	1	1	17
с. Таскент	1	-	3
Барлығы:	11	14	216

Кадастрлық талдау деректеріне сәйкес, Сайрам ауданы аумағында 1937-1987 жылдар кезеңінде топалаң бойынша барлығы 11 қолайсыз пункт тіркелген. Бұл инфекцияның тіркелген соңғы жағдайы 1987 жылмен белгіленген. Топалаң тіркелген пункттерде жануарлардың өлім-жітім жағдайлары тіркелген, 14 адам ауырып жазылған.

Сайрам аудан аумағында топалаңның ұзақ жылдар бойы тіркелмеуінің себебінің бірі, микробтың тіршілік әрекеті үшін қолайсыз саздауыт топырақтың және түрлі жабайы шөптердің өсуімен, және топырақта патогеннің өмір сүруіне теріс әсер ететін әртүрлі жағдайлармен байланысты деп түсінуге болады.

Топалаңның індеттік үдерісінің көрінісі мен топырақ жағдайлары арасындағы байланыстарды анықтау,

топалаңның эпизоотологиясындағы топырақ пен географиялық аймақтардың маңыздылығын көрсетеді. Сондықтан да топалаңнан өлген жануарлардың қорымдарын және осы аурудың қоздырушысымен залалданған деп болжанған алаңдар қоршауға алынып, белгіленуі қажет.

Сайрам ауданының аумағындағы топалаң бойынша СҚП-н талдау көрсеткіштері 2 кестеде келтірілген.

2-кесте – Сайрам ауданының аумағындағы ауыл шаруашылығы жануарларының топалаңнан стационарлы таза емес пункттері туралы деректер

Аудан, а/о	Топалаң бойынша стационарлық қолайсыз пункттер саны	Топалаң ошақтарының саны	Топалаң ошақтарының ауданы, га	Жануарлардың ауруға шалдығуы							
				ҰММ		МІМ		жылқы		шошқа	
				ауырған	өлген	ауырған	өлген	ауырған	өлген	ауырған	өлген
Ақсу а/о, с. Ақсукеңт к/з Победа	1	3	1,0	11	11	15	15	-	-	1	1
Ақбұлақ а/о, с. Ақбұлақ, к/з Ленинский путь	1	1	41,2	6	6	7	7	3	3	-	-
Манкент а/о, с. Манкент, к/з Манкент	1	4	26,9	11	11	14	14	1	1	-	-
Жібек-Жолы а/о, с. Жібек-Жолы, к/з Свердлов	1	2	25,5	6	6	7	7	1	1	-	-
Қайнарбұлақ а/о, с. Совет, с/з Қайнарбұлақ	1	1	1,2	2	2	4	4	-	-	-	-
Көлкент а/о, с. Көлкент, с/з Фрунзе	1	2	303,6	8	8	5	5	-	-	-	-
Сайрам а/о, с. Сайрам, к/з Ленин	1	3	68,4	30	30	25	25	3	3	-	-
Қарамұрт а/о, с. Қарамұрт	1	2	7,4	4	4	3	3	1	1	-	-
Қарабұлақ а/о, с. Қарабұлақ, с/з А.Навои	1	3	311,4	12	12	15	15	1	1	-	-
Бадам а/о, с. Бадам	1	2	4,5	3	3	14	14	-	-	-	-
с. Таскент	1	1	1,2	-	-	2	2	-	-	1	1
Барлығы:	11	24	837,3	93	93	111	111	10	10	2	2

Қазақстан Республикасының 1948-2002 жылдардағы топалаң бойынша СҚП-нің кадастрына сәйкес Сайрам ауданының аумағында топалаңның стационарлық қолайсыз 11 пункт тіркеліп, ошақтар саны 24 болған.

Ақсу а/о елді мекенінде 3 ошақ тіркелген, онда 11 бас ұсақ-түйек мал (ҰТМ), 15 бас мүйізді ірі қара малы (МІҚМ), 1 бас шошқа ауруға шалдығып, өлім-жітімге ұшыраған. Сайрам а/о-де 3 ошақ тіркелген, онда 30 бас ҰТМ, 25 бас МІҚМ, 3 жылқы топалаңмен ауырып, өлгені белгілі болған. Қарабұлақ а/о-де 3 ошақ тіркеліп, онда 12 бас ҰТМ, 15 бас МІҚМ, 1 жылқы топалаңмен ауырып, өлімге шалдыққан. Аудан аумағында топалаң бойынша 11 СҚП және 24 ошақ тіркелген, онда 93 – ҰТМ, 111 – МІҚМ, 10 жылқы, 2 шошқа, барлығы өлген.

Топырақтың әртүрлі қасиеттері бар аймақта топалаң инфекциясының пайда болу заңдылықтарын нақтылап бағалау және анықтау үшін 1937-2019 жж. аралықтарындағы топалаң бойынша СҚП туралы мәліметтерге салыстырмалы тарихи талдау жүргізілді.

Қазіргі уақытта Түркістан облысы Сайрам ауданының аумағындағы топалаң бойынша тіркелген стационарлық қолайсыз санаттағы шалғай жайылымдарда тіркелген ошақтарға тек тану белгілері ғана қойылған.

Қорытынды. Қазіргі заманғы статистика бойынша жер жұмыстары, табиғи апаттар және т.б. жағдайлардың салдарынан бұрын қолайлы және стационарлық қолайсыз аудандарда аурудың жаңа өршуін тіркейді. Олар туралы ақпаратты тек топалаң кадастрларынан, есептерден ғана алуға болады. Демек, жануарлардың топалаңнан өлген орындары мен қорымдары қауіпті болып қала береді.

Осылайша, Сайрам ауданының аумағындағы топалаң бойынша індеттік жағдайды тұрақты деп сипаттауға болады. Алайда, жануарлардың топалаңды жұқтыру қауіпі сақталып отыр, өйткені есепке алынбаған мал қорымдары, олардың ұзақ уақыт сақталуына қарамастан жануарлар мен адамдарға жұқтырудың әлеуетті көзі ретінде белгілі бір қауіп төндіреді.

ӘДЕБИЕТ

1 Амиреев С.А., Лухнова Л.Ю., Айкимбаев А.М. и др. Эпидемиология, клиника, лабораторная диагностика, лечение и профилактика сибирской язвы / Учебно-методическое пособие. – Алматы, 2009.

2 Айкимбаев А. М., Сансызбаев Е. Б., Hugh-Jones M. E., Blackburn J., Curtis A., Лухнова Л.Ю. Использование геоинформационной системы в надзоре за особо опасными инфекциями в Казахстане (на примере сибирской язвы) // санитарная охрана территорий государств – участников содружества независимых государств: проблемы биологической безопасности и противодействия биотерроризму в современных условиях. – Волгоград, 2005. - С. 9-11.

3 Гуславский И.И., Апалькин В.А., Густокашин К.А. Краевая эпизоотология инфекционных болезней, основы прогнозирования, профилактики и борьбы с ними: Учебное пособие. – Барнаул: Изд-во АГАУ, 2004. – 148 с.

4 Утепбергенова Г.А., Дмитриевский А.М., Досанов А.Д. и др. Сибирская язва в Южном Казахстане за период 1996-2006 годы // Медицина. – 2007. – N 5. – С. 47-49.

5 http://www.gorodpavlodar.kz/News_83308_4.html.

6 Бакулов И.А., Гаврилов В.А., Селиверстов В.В. Сибирская язва (антракс): новые страницы в изучении «старой» болезни. – Владимир: Посад, 2001. – 285 с.

УДК 619:614.31

Б.Б. Барахов, Г.Е. Алпысбаева, А.А. Малдыбаева, У.А. Шарапова, А. Асқар

НАО «Казахский национальный аграрный исследовательский университет», г. Алматы, Казахстан
E-mail: baxa.kz.uko@mail.ru

РЕЗУЛЬТАТЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВЕТЕРИНАРНОЙ ОБРАБОТКИ СОСКОВ ВЫМЕНИ У ДОЙНЫХ КОРОВ

Аннотация. В данной статье, осуществляется санитарная обработка сосков дойных коров после доения, разработан отечественный дезинфицирующий препарат, направленный на профилактику субклинического мастита и результаты исследований в производственных условиях для определения эффективности препарата.

Как известно, субклинический мастит является одним из факторов, влияющих на качество производимого молока. Было обнаружено, что отечественное лекарственное средство, нацеленное на предотвращение этого заболевания, намного превосходят иностранные лекарственные средства («Нависан МВ», «Дипал»). Было доказано, что препарат, который мы разработали, может значительно снизить степень бактериального загрязнения и микробного загрязнения сосков вымени, что приводит к значительной бактериологической защите.

Ключевые слова: санитарная обработка, субклинический мастит, бактериологическая защита, качество молока, сосков вымени.

Б.Б. Барахов, Г.Е. Алпысбаева, А.А. Малдыбаева, У.А. Шарапова, А. Асқар

«Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті» КеАҚ, Алматы қ., Қазақстан

САУЫН СИЫРЛАРДЫҢ ЖЕЛІН ҮРПІСІН ВЕТЕРИНАРИЯЛЫҚ ӨНДЕУ ТИІМДІЛІГІНІҢ НӘТИЖЕЛЕРІ

Аннотация. Бұл мақалада, сауын сиырлардың желін үрпісін сауыннан кейін санитариялық өңдеу жұмыстарын іске асыруда, субклиникалық желінсаудың алдын алуға бағытталған отандық дезинфекциялық препарат құрастырылып, оның тиімділігін анықтау үшін, өндірістік жағдайда жүргізілген зерттеу жұмыстарының нәтижесі келтірілді.

Өндірілетін сүттің сапасына әсер ететін факторлардың бірі – субклиникалық желінсау ауруын алдын алуға бағытталған бұл препарат, шетелдік препараттармен («Блакада», «Vet Clean MP») салыстыра отырып зерттегенде, олардан кем түспейтіндігі анықталып, аурудың жазылуына септігін тигізетіндігі анықталды. Біз құрастырылған препарат сауын сиырлардың желін үрпісінде бактериологиялық қорғаныс қабат түзіп (пенкалы қабықша), микроорганизмдермен ластану дәрежесін әлдеқайда төмендететіндігіне көз жеткізілді.

Түйін сөздер: санитариялық өңдеу, субклиникалық желінсау, бактериологиялық қорғаныс, сүттің сапасы, желін үрпісі.

B.B. Barakhov, G.E. Alpysbayeva, A.A. Maldybayeva, U.A. Sharapova, A. Askar

NCJSC «Kazakh national agrarian research university», Almaty, Kazakhstan

RESULTS OF EFFECTIVENESS OF VETERINARY TREATMENT OF UDDER TEATS IN DAIRY COWS

Abstract. In this article, the sanitary treatment of teats of dairy cows after milking is carried out, a domestic disinfectant is developed aimed at preventing subclinical mastitis and the results of research in production conditions to determine the effectiveness of the drug.

As you know, subclinical mastitis is one of the factors that affect the quality of milk produced. It was found that the domestic medicine aimed at preventing this disease is much superior to foreign medicines (“Navisan MV”, “Dipal”). It has been proven that the drug we have developed can significantly reduce the degree of bacterial contamination and microbial contamination of the udder teats, resulting in significant bacteriological protection.

Key words: sanitary treatment, subclinical mastitis, bacteriological protection, milk quality, udder teats.

Введение. При производстве молока необходимо строго соблюдать технологию доения и ветеринарно-санитарные правила, обеспечивающие безопасность и качество полученной продукции. Например, применение комбинации препаратов на растительной основе (пихтоиновое масло и травмогель) при лечении субклинической формы мастита у коров обеспечивает получение безопасного высококачественного продукта [1, 2].

В процессе получения молока высокого санитарного качества важную роль играет предотвращение микробного загрязнения путем санитарной обработки вымени коров до и после доения. Проводимые мероприятия, безусловно, позволят повысить чистоту вымени и, следовательно, снизить риск микробного загрязнения молока возбудителями мастита и других микрофлор. Для предотвращения попадания в молоко каких-либо остатков дезинфицирующих средств, медикаментов после санитарной обработки необходимо протирать вымени и сосков чистым полотенцем.

Кожа вымени – один из источников бактериального заражения молока, так как в нем остаются большое количество сапрофитных и патогенных гнилых бактерий, часто представляющих опасность для людей, группа жирнокислых кишечных палочек, стафилоки, частицы подстилки, загрязненные стрептококками, остатки навоза, кормов. Уровень ее загрязнения зависит от условий содержания животных. Количество бактерий на коже вымени колеблется от 5 тысяч до 1 миллиона на 1 мл смыва, в зависимости от уровня ухода за животными и от механического загрязнения сосков. Бактериальная загрязненность кожи вымени в период стойлового содержания выше, чем на пастбище.

Санитарная обработка вымени и сосков до и после доения дезинфицирующими средствами при машинном доении позволит значительно снизить заболеваемость молочной железы коров и повысить санитарное качество молока [3, 4].

Материалы и методы исследований. Исследовательские работы проводились на базе 5-х хозяйств расположенные в южном региона Республики Казахстана, которые были определены как модельные хозяйства для молочного направления (ИП «Каримов», ТОО «Тастобе Агро Фуд», СПК «ПЗ Алматы», ИП «Садыков» и ТОО «Какпатас-Кордай»).

При ветеринарно-санитарной обработки сосков вымени коров на 5-х модельных молочных фермах по принципу условных аналогов созданы две группы дойных коров в возрасте от 4 до 8 лет (в каждом хозяйстве): 1 исследовательская и 1 контрольная. В процессе ежедневного доения коров в исследовательской группе внедрено применение отечественного препарата «Промиксан», разработанного учеными кафедры [5], после доения с помощью пластикового стаканчика, предназначенного для обработки сосков, осуществлялся методом скатывания сосков в раствор, в котором каждые соски погружены на глубину в 2/3 объема. В контрольные группы использовались такие препараты, как «Нависан МВ» в хозяйстве ТОО «Тастобе Агро Фуд», в хозяйстве СПК «ПЗ Алматы» - препарат «Йод», в хозяйствах ИП «Каримов», ИП «Садыков» и ТОО «Какпатас-Кордай» - препарат «Дипал».

За всеми животными наблюдали ежедневно. Продолжительность эксперимента составила 15 дней. Кроме того, в ходе эксперимента для сравнительной оценки бактерицидных свойств препаратов, после доения коров, соски вымени обработали препаратами и был выявлен уровень загрязненности сосков бактериями до следующего доения. Для определения общей бактериальной загрязненности сосков через каждые два часа на стерильные пробирки, заполненные по 5 мл физиологического раствора, с помощью ватной палочки были взяты мазки с поверхности кожи (боковой поверхности и зоны сфинктера) сосков. Бактериальную загрязненность мазков изучали путем внесения 1 мл исследуемой жидкости в чашки Петри со специальной сухой питательной средой, которую затем выращивали в термостате в течение времени, указанного в инструкции по применению.

Результаты исследований и их обсуждение. Целью научно-исследовательской работы являлась ветеринарная обработка сосков вымени дойных коров для профилактики субклинического мастита. В ходе проведения ветеринарных обработок вымени, после доения проводится обработка бактерицидными оболочкообразующими препаратами (биологическая защита), при оценке их эффективности, проведена работа по определению влияния терапевтических свойств и динамики загрязнения вымени микроорганизмами с последующим доильным интервалом (по 8 часов между каждым доильным поголовьем, 3 раза в сутки).

На ранней стадии исследования после санитарной обработки вымени коров оболочкообразующими препаратами была выявлена динамика загрязнения микроорганизмами до следующего доения (через каждые 2 часа). Количественные цифры, приведенные в таблице 15, содержат только данные отечественного препарата «Промиксан». Данные препаратов, используемых в хозяйственных условиях, приводятся в таблице 1.

Анализ количественных данных, полученных из приведенных исследований, показал, что в результате ветеринарно-санитарной обработки сосков вымени дойных коров отечественным препаратом «Промиксан», мы наблюдаем, что социально-экономическое положение хозяйств зависит от особенностей содержания животных.

Таблица 1 – Динамика концентрации микроорганизмов в результате обработки сосков вымени после доения с препаратом «Промиксан»

Наименование хозяйств	Группа животных	Общее количество микроорганизмов на коже сосков, КОЕ/мл	Отбор бактериологической пробы после обработки сосков вымени, час			
			2	4	6	8
ТОО «Тастобе Агро Фуд»	Здоровые	$6,4 \pm 3,4 \times 10^5$	$3,1 \pm 2,1 \times 10^5$	$1,5 \pm 0,4 \times 10^4$	$3,0 \pm 1,1 \times 10^4$	$5,2 \pm 1,8 \times 10^4$
	Больные*	$8,2 \pm 3,4 \times 10^5$	$4,0 \pm 2,0 \times 10^5$	$3,9 \pm 1,3 \times 10^4$	$5,5 \pm 1,9 \times 10^4$	$6,4 \pm 2,2 \times 10^4$
СПК «ПЗ Алматы»	Здоровые	$6,5 \pm 3,3 \times 10^5$	$3,1 \pm 2,4 \times 10^5$	$2,0 \pm 0,8 \times 10^4$	$4,2 \pm 1,4 \times 10^4$	$7,0 \pm 1,8 \times 10^4$
	Больные*	$7,6 \pm 3,0 \times 10^5$	$3,8 \pm 2,2 \times 10^5$	$5,1 \pm 1,9 \times 10^4$	$7,4 \pm 2,0 \times 10^4$	$9,6 \pm 2,6 \times 10^4$
ИП «Каримов»	Здоровые	$7,0 \pm 3,7 \times 10^5$	$3,0 \pm 2,1 \times 10^5$	$2,3 \pm 0,7 \times 10^4$	$4,4 \pm 2,1 \times 10^4$	$6,0 \pm 2,0 \times 10^4$
	Больные*	$8,4 \pm 3,5 \times 10^5$	$4,8 \pm 2,6 \times 10^5$	$4,6 \pm 2,2 \times 10^4$	$7,1 \pm 3,2 \times 10^4$	$9,2 \pm 3,8 \times 10^4$
ИП «Садыков»	Здоровые	$7,0 \pm 3,2 \times 10^5$	$2,8 \pm 3,5 \times 10^5$	$3,4 \pm 2,2 \times 10^4$	$5,7 \pm 2,4 \times 10^4$	$9,5 \pm 1,8 \times 10^4$
	Больные*	$8,4 \pm 3,8 \times 10^5$	$4,4 \pm 2,8 \times 10^5$	$6,7 \pm 3,8 \times 10^4$	$8,0 \pm 3,7 \times 10^4$	$9,1 \pm 3,6 \times 10^4$
ТОО «Какпатас-Кордай»	Здоровые	$6,9 \pm 3,2 \times 10^5$	$3,0 \pm 3,7 \times 10^5$	$3,6 \pm 2,4 \times 10^4$	$6,1 \pm 2,8 \times 10^4$	$9,8 \pm 2,0 \times 10^4$
	Больные*	$8,8 \pm 3,8 \times 10^5$	$4,6 \pm 2,9 \times 10^5$	$7,1 \pm 3,8 \times 10^4$	$8,6 \pm 3,8 \times 10^4$	$9,7 \pm 3,8 \times 10^4$

Примечание – * - дойные коровы, переболевшие субклиническим маститом

В хозяйстве ТОО «Тастобе Агро Фуд» на поверхности вымени, обработанной препаратами за весь период воздействия до следующего доения, было обнаружено, что выживаемость микроорганизмов низкая. Лучшее время воздействия составило 4 часа, в результате чего элиминация микроорганизмов в вымени здоровых коров снизилась с $6,4 \pm 3,4 \times 10^5$ до $1,5 \pm 0,4 \times 10^4$.

В целом, показатели СПК «ПЗ Алматы» и ИП «Каримов» дают высокие результаты. Их показатели снизились соответственно: с $6,5 \pm 3,3 \times 10^5$ до $2,0 \pm 0,8 \times 10^4$; с $7,0 \pm 3,7 \times 10^5$ до $2,3 \pm 0,7 \times 10^4$. А после ветеринарной обработки в хозяйстве ИП «Садыков», где сохранилась слабая жизнеспособность микроорганизмов, снижение произошло от $7,0 \pm 3,2 \times 10^5$ до $4,6 \pm 2,2 \times 10^4$, а в ТОО «Какпатас-Кордай» этот показатель снизился с $6,9 \pm 3,2 \times 10^5$ до $3,6 \pm 2,4 \times 10^4$.

В результате обработки продукки коров, больных субклиническим маститом, препаратом «Промиксан», степень загрязнения микроорганизмом была аналогична приведенной выше картине.

В следующей таблице 2 показаны результаты исследований по определению эффективности препаратов, используемых в хозяйственных условиях.

Таблица 2 – Динамика концентрации микроорганизмов в результате обработки сосков вымени после доения в производственных условиях

Препараты	Группа животных	Общее количество микроорганизмов на коже сосков, КОЕ/мл	Отбор бактериологической пробы после обработки сосков вымени, час			
			2	4	6	8
Хозяйство ТОО «Тастобе Агро Фуд»						
«Нависан МВ»	Здоровые	$6,2 \pm 3,3 \times 10^5$	$3,1 \pm 2,4 \times 10^5$	$2,7 \pm 0,8 \times 10^4$	$4,2 \pm 1,4 \times 10^4$	$7,0 \pm 1,8 \times 10^4$
	Больные*	$7,6 \pm 3,0 \times 10^5$	$3,8 \pm 2,2 \times 10^5$	$5,1 \pm 1,9 \times 10^4$	$7,4 \pm 2,0 \times 10^4$	$9,6 \pm 2,6 \times 10^4$
Хозяйство СПК «ПЗ Алматы»						
«Йод»	Здоровые	$6,8 \pm 3,2 \times 10^5$	$2,8 \pm 3,5 \times 10^5$	$3,0 \pm 2,2 \times 10^4$	$5,7 \pm 2,4 \times 10^4$	$9,5 \pm 1,8 \times 10^4$
	Больные*	$8,5 \pm 3,8 \times 10^5$	$4,4 \pm 2,8 \times 10^5$	$6,7 \pm 3,8 \times 10^4$	$8,0 \pm 3,7 \times 10^4$	$9,1 \pm 3,6 \times 10^4$
Хозяйство ИП «Каримов»						
«Дипал»	Здоровые	$7,6 \pm 3,2 \times 10^5$	$3,1 \pm 2,0 \times 10^5$	$3,1 \pm 0,5 \times 10^4$	$4,5 \pm 2,1 \times 10^4$	$6,2 \pm 2,3 \times 10^4$
	Больные*	$8,4 \pm 3,8 \times 10^5$	$5,0 \pm 2,7 \times 10^5$	$6,8 \pm 2,4 \times 10^4$	$7,6 \pm 3,4 \times 10^4$	$9,5 \pm 3,9 \times 10^4$
Хозяйство ИП «Садыков»						
«Дипал»	Здоровые	$7,9 \pm 3,2 \times 10^5$	$3,0 \pm 3,7 \times 10^5$	$5,6 \pm 2,4 \times 10^4$	$6,1 \pm 2,8 \times 10^4$	$9,8 \pm 2,0 \times 10^4$
	Больные*	$8,8 \pm 3,8 \times 10^5$	$4,6 \pm 2,9 \times 10^5$	$7,1 \pm 3,8 \times 10^4$	$8,6 \pm 3,8 \times 10^4$	$9,7 \pm 3,8 \times 10^4$
Хозяйство ТОО «Какпатас-Кордай»						
«Дипал»	Здоровые	$8,4 \pm 3,3 \times 10^5$	$5,4 \pm 2,8 \times 10^5$	$5,8 \pm 4,2 \times 10^4$	$2,5 \pm 2,0 \times 10^5$	$6,9 \pm 2,0 \times 10^5$
	Больные*	$8,5 \pm 3,4 \times 10^5$	$5,8 \pm 2,8 \times 10^5$	$6,3 \pm 2,0 \times 10^4$	$6,5 \pm 3,1 \times 10^5$	$8,1 \pm 3,0 \times 10^5$

Примечание – * - дойные коровы, переболевшие субклиническим маститом

Эффективность препаратов, используемых в производстве, по сравнению с результатами препарата «Промиксан», количественные данные препарата «Нависан МВ», применяемого в хозяйстве ТОО «Тастобе Агро Фуд», и препарата «Йод» в хозяйстве СПК «ПЗ Алматы» были схожими. А результаты применения препарата «Дипал» в других хозяйствах были ниже в 1,6 раза.

В этих хозяйствах в этом направлении проводились ветеринарные обработки, но было обнаружено, что их эффективность не определялась и не анализировалась.

Дальнейшие исследования были направлены на сравнительное определение эффективности действия лечебных свойств препаратов для профилактики субклинического мастита. Результаты исследований приведены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты сравнительной оценки эффективности лечебных свойств препаратов

Препараты	Группа животных	Количество поголовья	Количество зараженных животных	Лечебный эффект препарата, %
Хозяйство ТОО «Тастобе Агро Фуд»				
«Промиксан» (исследовательская)	Здоровые коровы	15	2	86,7
	Больные коровы	15	4	73,4
«Нависан МВ» (контрольная)	Здоровые коровы	15	2	86,7
	Больные коровы	15	4	73,4
Хозяйство СПК «ПЗ Алматы»				
«Промиксан» (исследовательская)	Здоровые коровы	15	2	86,7
	Больные коровы	15	4	73,4
«Йод» (контрольная)	Здоровые коровы	15	3	80,0
	Больные коровы	15	4	73,4
Хозяйство ИП «Каримов»				
«Промиксан» (исследовательская)	Здоровые коровы	15	3	80,0
	Больные коровы	15	4	73,4
«Дипал» (контрольная)	Здоровые коровы	15	4	73,4
	Больные коровы	15	5	66,7
Хозяйство ИП «Садыков»				
«Промиксан» (исследовательская)	Здоровые коровы	15	4	73,4
	Больные коровы	15	5	66,7
«Дипал» (контрольная)	Здоровые коровы	15	6	60,0
	Больные коровы	15	8	46,7
Хозяйство ТОО «Какпатас-Кордай»				
«Промиксан» (исследовательская)	Здоровые коровы	15	4	73,4
	Больные коровы	15	5	66,7
«Дипал» (контрольная)	Здоровые коровы	15	5	66,7
	Больные коровы	15	6	60,0

В целом результаты исследования показывают, что социальный уровень хозяйств и результаты хозяйств с налаженной системой животноводства показали хорошие результаты. Однако, выяснилось, что при строгом соблюдении ветеринарно-санитарных мер можно добиться высоких результатов, и для проведения ветеринарных обработок дойных коров можно использовать отечественный препарат «Промиксан» и предотвратить субклинический мастит во всех крестьянских хозяйствах страны.

Заключение. В хозяйстве ТОО «Тастобе Агро Фуд» на поверхности вымени, обработанной препаратами за весь период воздействия до следующего доения, было обнаружено, что выживаемость микроорганизмов низкая. Лучшее время воздействия составило 4 часа, в результате количество микроорганизмов в вымени здоровых коров снизилась с $6,4 \pm 3,4 \times 10^5$ до $1,5 \pm 0,4 \times 10^4$. Эффективность препаратов, используемых в производстве, по сравнению с результатами препарата «Промиксан». Количественные данные препарата «Нависан МВ», применяемого в хозяйстве ТОО «Тастобе Агро Фуд», и препарата «Йод» в хозяйстве СПК «ПЗ Алматы» были схожими. А результаты применения препарата «Дипал» в других хозяйствах были ниже в 1,6 раза.

Результаты ветеринарно-санитарного обработка препаратом «Промиксан» были такими же (86,7 %) по сравнению с результатами препарата «Нависан МВ», применяемого в хозяйстве ТОО «Тастобе Агро Фуд» для профилактики субклинического мастита. Этот результат на 6,7 % выше результата препарата «Йод», и на 6,6 % выше препарата «Дипал», применяемого ИП «Каримов», на 13,4 % выше результата хозяйства ИП «Садыков», и на 6,7 % выше результата хозяйства ТОО «Какпатас-Кордай».

ЛИТЕРАТУРА

1 Вязова Л.М. Мероприятия по профилактике и лечению субклинического мастита коров для повышения качества молока: автореф. дис. ... канд. вет. наук: 06.02.05 / Вязова Людмила Марковна. – Чебоксары, 2014. – 20 с.

2 Ларионов Г.А., Вязова Л.М., Дмитриева О.Н., Щипцова Н.В. Влияние препаратов растительного происхождения на безопасность и качество молока при субклиническом мастите коров // Известия Тимирязевской сельскохозяйственной академии. – 2014. – № 4. – С. 64-73.

3 Мухачёва Л.Р., Павлова Л.Ф. Повышение качества молока с использованием дезинфицирующих средств при доении коров холмогорской породы в СПК «Трактор» Можгинского района // Вестник Ижевской государственной сельскохозяйственной академии. – 2010. – № 1 (22). – С. 24-29.

4 Колчина А.Ф., Баркова А.С., Елесин А.В. Контроль состояния сосков вымени коров при машинном доении // Современные проблемы ветеринарного акушерства и биотехнологии воспроизведения животных: материалы Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 85-летию со дня рождения Г.А. Черемисова и 50-летию созд. Воронежской школы вет. акушер.– Воронеж: Истоки, 2012. – С. 256-261.

5 Пат. 32739 Республика Казахстан. Средство для санитарной обработки вымени коров / Танбаева Г.А., Мырзабеков Ж.Б., Тагаев О.О., Коспаков Ж., Токаева М.О., Барахов Б.Б., Нарбаева Д.Д. - опубл. 19.03.2018.

УДК 57, 578, 578:8, 578:821, 578:821:5, 578:821:51.

**А.С. Джапашева, Ж.С. Абсатова, М.К. Кенжебаева, М.А. Азанбекова, К.Д. Жугунисов,
Ә.Д. Өмуртай, М. Мамбеталиев, С.С. Килыбаев**

ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМК,
Гвардейский қтп, Қазақстан
E-mail: unots@biosafety.kz

ТҮЙЕ ШЕШЕГІ ВИРУСЫНЫҢ ВАКЦИНАЛЫҚ ШТАМЫНА ҚОРҒАНЫС ОРТАСЫН ТАҢДАУ ЖӘНЕ ШТАМ ҮЛГІЛЕРІНІҢ ӘРТҮРЛІ ТЕМПЕРАТУРАЛЫҚ-МЕРЗІМДІК РЕЖИМДЕРДЕ САҚТАЛУЫН ЗЕРТТЕУ

Аннотация. Жүргізілген жұмыста «КМ-40» вакциналық штамы үшін оңтайлы қорғаныс ортасын іріктеу және сақтаудың әртүрлі температуралық-мерзімдік режимдерінде вакцина үлгілерінің сақталу нәтижелері көрсетілген. Жүргізілген зерттеулердің нәтижесінде оңтайлы температура ретінде ($6,0 \pm 2,0$) °C және қорғау ортасы – майсыздандырылған сиыр сүті және соңғы концентрациядағы 6,5 % пептон таңдалды.

Түйін сөздер: вирус, штамм, түйе шешегі, аттенуация, вакцина, температура, қорғаныс ортасы.

**А.С. Джапашева, Ж.С. Абсатова, М.К. Кенжебаева, М.А. Азанбекова, К.Д. Жугунисов,
Ә.Д. Өмуртай, М. Мамбеталиев, С.С. Килыбаев**

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

ВЫБОР ЗАЩИТНОЙ СРЕДЫ К ВАКЦИННОМУ ШТАММУ ВИРУСА ОСПЫ ВЕРБЛЮДОВ И СОБЛЮДЕНИЕ ОБРАЗЦОВ ШТАММОВ В РАЗЛИЧНЫХ ТЕМПЕРАТУРНО-ВРЕМЕННЫХ РЕЖИМАХ

Аннотация. В проведенной работе представлены результаты хранения образцов вакцины с различными защитными средами при различных температурно-временных режимах. В результате проведенных исследований установлено, что в качестве оптимальной температуры выбрана ($6,0 \pm 2,0$) °C, а в качестве защитной среды – обезжиренное коровье молоко и 6,5 % пептон.

Ключевые слова: вирус, штамм, оспа верблюдов, аттенуация, вакцина, температура, защитная среда.

**A.S. Dzhapasheva, Zh.S. Absatova, M.K. Kenzhebayeva, M.A. Azanbekova,
K.D. Zhugunisov, O.D. Omurtai, M. Mambetaliyev, S.S. Kilybayev**

RSE “Research Institute for Biological Safety Problems” SC MES RK, Gvardeisky, Kazakhstan

SELECTION OF PROTECTIVE medium to VACCINE STRAIN OF CAMELPOX VIRUS AND COMPLIANCE WITH SAMPLES OF STRAINS IN DIFFERENT TEMPERATURE AND TIME MODES

Abstract. The results of storage of vaccine samples with different protective media at different temperature and time conditions are presented in this work. As a result of the studies, it was found that (6.0 ± 2.0) °C was chosen as the optimal temperature, and skimmed cow's milk and 6.5 % peptone were selected as the protective medium.

Key words: virus, strain, camelpox, attenuation, vaccine, temperature, protective environment

Кіріспе. Түйелердің шешегі-қоздырғышы *Poxviridae* тұқымдастығына жататын терідегі және шырышты қабықтардағы түйіндік-пустулезді шешек бөртпесінің пайда болуымен сипатталатын контагиозды ауру. Төл ауруы ауыр түрде 30% өлім-жітіммен өтеді. Түйе шешегі түйе шаруашылығымен айналысатын әрбір елде кездеседі. Ол Орталық Азия елдерінде, Таяу Шығыста, Араб елдерінде, Үндістанда, Түркияда және Африка құрлығының кейбір аймақтарында мезгіл-мезгілімен тіркеледі [1]. 1965 жылдан бастап Қазақстанда Гурьев облысының (қазіргі Атырау облысы) шаруашылықтарында күзгі-қысқы-көктемгі кезеңде түйелердің жаппай шешек ауруы байқалды және Қазақстанда түйе шешегінің соңғы өршуі 1996 жылы Маңғыстау облысының үш ауданында байқалды. Бұл ретте Маңғыстау ауданының сегіз шаруашылығында 8 мың бас түйенің 830-сы шешек ауруына шалдыққан, оның 43-і өлген. 2019 жылдың соңында осы саладағы түйелердің шешегіне күдік туралы хабарламалар келіп түсті. Жүргізілген кешенді зертханалық зерттеулер нәтижесінде биологиялық қауіпсіздік мәселелері ғылыми-зерттеу институтының қызметкерлері түйенің шешегін растады (мәліметтер жарияланған жоқ) [2].

Вакциналық препараттардың сақталу мәселесін зерттеу маңызды практикалық міндет болып табылады, өйткені бұл көбінесе вакциналарды өндіру кезінде олардың ұзақ уақытқа иммундық қасиеттерінің сақталуын қамтамасыз етуде маңызды роль атқарады [3, 4]. Вирустардың биологиялық белсенділігінің тұрақты сақталуына әсер ететін факторлардың бірі дұрыс таңдалған қорғау ортасы мен сақтау температурасы болып табылады. Құрғақ биопрепараттардың сенімді тұрақтылығының кепілі оларды дайындау технологиясында әртүрлі температурада мұздату, сусыздандыру және кептірілген күйде ұзақ уақыт сақтау процесінде микроағзалардың зақымдануын болдырмайтын тиімді қорғаныш орта-тұрақтандырғыштарды қолдану болып табылады [5]. Вирустардың көпшілігі төмен температурада жақсы сақталады, бірақ жоғары температурада олардың сақталуын зерттеу биопрепараттарды дайындау процесінде өсіру және әртүрлі жұмыс кезеңдерін жүргізу жағдайында мүмкін болатын инактивация дәрежесін анықтауға бағытталған [6]. Осыған байланысты, бұл жұмысымыздың басты мақсаты әртүрлі температуралық-мерзімдік режимдерінде «КМ-40» аттенуирленген штамынан әзірленген түйе шешегіне қарсы кептірілген вакцинаның эксперименттік сериясының сақталу мерзімін зерттеу болып табылады.

Материалдар мен әдістер. Бұл жұмыста біз Биологиялық қауіпсіздік проблемалары ғылыми-зерттеу институтының Микроағзалар коллекциясының зертханасынан кептірілген түрде алынған «КМ-40» штамын пайдаландық. «КМ-40» вакциналық штамы 2002 жылы “М-96” вируленттік штаммынан тауық эмбрионында 40 реттік пассаждау арқылы бөлініп алынған. Аттенуирленген “КМ-40” штамы үшін қорғаныс ортасын таңдау кезінде біз келесі соңғы концентрацияланған 4 ортаны пайдаландық: 6,5 % пептон (I топ); 6,5 % пептон + 5 % сахароза (II топ); 3 % пептон + 0,5 % желатин + 3 % сахароза (III топ) және майсыздандырылған сиыр сүті (IV топ). Заласыздандырылған қорғау ортасы 1:1 қатынасында вирусы бар суспензиямен араластырдық. Бақылау тобы ретінде қорғаныс орта қосылмаған вирустық суспензияны қолдандық (V топ). Вакциналарды лиофильді кептіру камерасындағы вакуум деңгейі $103 \times 25-45$ мбар болатын минус $45-50$ °C температурада лиофильді қондырғыда ампулаларда 22-24 сағат бойы автоматты режимде лиофильді қондырғыда лиофилизацияланды. Вирустың сақталуын зерттеу үшін кептірілген вакцина ампулалары келесі температуралық режимдерде $(37,0 \pm 0,5)$ °C және $(22,0 \pm 2,0)$ °C 8 айға, $(6,0 \pm 2,0)$ °C және минус $(40,0 \pm 1,0)$ °C 20 ай бойы сақталды. Әртүрлі температуралық-мерзімдік сақтау режимдерінде әртүрлі қорғаныш орталары бар түйе шешегі вирусының аттенуирленген “КМ-40” вакциналық штамының сақталуын қозы бүйрегінің жасуша өсінділерінде титрлеу жолымен анықталды. Титрлеу нәтижелері вирустың цитопатиялық әсерінің көрінісі бойынша анықталды. Вирустың титрі Рид және Менч әдісімен есептелді [7].

Деректер Prism v.7.0 (GraphPad Software, San Diego, CA) бағдарламалардың көмегімен талданды және шамалар орташа стандартты қателік ретінде анықталды. Айырмашылықтардың маңыздылығы $P < 0,05$ мәні деңгейінде белгіленді.

Зерттеу нәтижелері. Түйелердің шешек вирусына қарсы эксперименттік вакцинаның әртүрлі температуралық-уақыттық режимдерде әртүрлі қорғаныш орталары бар қозы бүйрегінің жасуша өсінділерінде титрлеу арқылы анықталды.

Төменде кестеде келтірілген мәліметтер негізінде түйелердің шешек ауруына қарсы «КМ-40» вакциналық штамының сақталуы температуралық-уақыттық сақтау режимдеріне және қорғаныс ортасының түріне тікелей байланысты екенін байқауға болады.

1-кесте – Өртүрлі қорғаныш орта қосылған түйе шешегі вирусының «КМ-40» вакциналық штамының (37 ± 0,5) °С температурада сақталу нәтижелері

Үлгі нөмірі	Вакцинаның қорғаныс ортасының құрамы	Сақтау мерзімі	Биологиялық белсенділігі, lg ТЦД ₅₀ /см ³		Белсенділіктің жоғалуы, lg ТЦД ₅₀	Айырмашылықтардың маңыздылығы, Р	Вакцина үлгісін сақтаудың белгіленген мерзімі
			бастапқы	сақтағаннан кейінгі			
I	6,5 % пептон	5 тәулік	6,50 ± 0,00	6,50 ± 0,14	0,00	> 0,05	1 ай
		10 тәулік	6,50 ± 0,00	6,25 ± 0,14	0,25	> 0,05	
		15 тәулік	6,50 ± 0,00	6,25 ± 0,14	0,25	> 0,05	
		1 ай	6,50 ± 0,00	5,75 ± 0,38	0,75	> 0,02	
		2 ай	6,50 ± 0,00	5,00 ± 0,14	1,50	< 0,05	
		3 ай	6,50 ± 0,00	4,75 ± 0,14	1,75	< 0,025	
		6 ай	6,50 ± 0,00	4,50 ± 0,14	2,00	< 0,01	
II	6,5 % пептон + 5 % сахароза	5 тәулік	6,50 ± 0,00	6,25 ± 0,14	0,25	> 0,5	1 ай
		10 тәулік	6,50 ± 0,00	5,75 ± 0,14	0,75	> 0,2	
		15 тәулік	6,50 ± 0,00	5,75 ± 0,28	0,75	> 0,2	
		1 ай	6,50 ± 0,00	5,75 ± 0,38	0,75	> 0,2	
		2 ай	6,50 ± 0,00	5,00 ± 0,14	1,50	< 0,05	
		3 ай	6,50 ± 0,00	4,50 ± 0,38	2,00	< 0,025	
		6 ай	6,50 ± 0,00	4,25 ± 0,14	2,25	< 0,01	
III	3 % пептон + 0,5 % желатин + 3 % сахароза	5 тәулік	6,83 ± 0,22	6,50 ± 0,14	0,33	> 0,5	15 тәулік
		10 тәулік	6,83 ± 0,22	5,75 ± 0,38	1,08	> 0,15	
		15 тәулік	6,83 ± 0,22	5,75 ± 0,28	1,08	> 0,1	
		1 ай	6,83 ± 0,22	3,75 ± 0,38	3,08	< 0,005	
		2 ай	6,83 ± 0,22	3,50 ± 0,14	3,33	< 0,005	
		3 ай	6,83 ± 0,22	3,50 ± 0,14	3,33	< 0,005	
		6 ай	6,83 ± 0,22	3,25 ± 0,28	3,58	< 0,001	
IV	майсыз сиыр сүті	5 тәулік	6,50 ± 0,00	6,50 ± 0,14	0,00	> 0,5	1 ай
		10 тәулік	6,50 ± 0,00	6,00 ± 0,14	0,50	> 0,4	
		15 тәулік	6,50 ± 0,00	5,25 ± 0,14	1,25	> 0,1	
		1 ай	6,50 ± 0,00	5,25 ± 0,28	1,25	> 0,1	
		2 ай	6,50 ± 0,00	4,25 ± 0,14	2,25	< 0,01	
		3 ай	6,50 ± 0,00	4,25 ± 0,38	2,25	< 0,01	
		6 ай	6,50 ± 0,00	4,00 ± 0,14	2,50	< 0,01	
V	қорғау ортасы жоқ (бақылау)	5 тәулік	6,75 ± 0,25	6,75 ± 0,14	0,00	> 0,5	10 тәулік
		10 тәулік	6,75 ± 0,25	5,50 ± 0,14	1,25	> 0,1	
		15 тәулік	6,75 ± 0,25	5,25 ± 0,28	1,50	< 0,05	
		1 ай	6,75 ± 0,25	5,00 ± 0,38	1,75	< 0,025	
		2 ай	6,75 ± 0,25	5,00 ± 0,14	1,75	< 0,025	
		3 ай	6,75 ± 0,25	5,00 ± 0,14	1,75	< 0,025	
		6 ай	6,75 ± 0,25	4,50 ± 0,14	2,25	< 0,01	
8 ай	6,75 ± 0,25	4,00 ± 0,28	2,75	< 0,005			

Зерттеу нәтижелерінде 1-ші кесте көрсетілген температуралық режимдерде (20 айға дейін) осы штаммның сақталуын салыстырмалы талдау (37 ± 0,5) °С температурада биологиялық белсенділікті жоғалтпай (P>0,5-0,1) (6,5 % пептон), II (6,5 % пептон + 5 % сахароза) және IV (майсыздандырылған сүт) вакциналардың үлгілерін 1 айға дейін сақтауға болатынын көрсетті.

2-кесте – Әртүрлі қорғаныс орта қосылған түйе шешегі вирусының «КМ-40» вакциналық штаммының (20,0 ± 2) °С температурада сақталу нәтижелері

Үлгі нөмірі	Вакцинаның қорғаныс ортасының құрамы	Сақтау мерзімі	Биологиялық белсенділігі, lg ТЦД ₅₀ /см ³		Белсенділіктің жоғалуы, lg ТЦД ₅₀	Айырмашылықтардың маңыздылығы, Р	Вакцина үлгісін сақтаудың белгіленген мерзімі
			Бастапқы	Сақтағаннан кейін			
I	6,5 % пептон	5 тәулік	6,50 ± 0,00	6,50 ± 0,14	0,00	> 0,5	6 ай
		10 тәулік	6,50 ± 0,00	5,75 ± 0,14	0,75	> 0,2	
		15 тәулік	6,50 ± 0,00	5,75 ± 0,14	0,75	> 0,2	
		1 ай	6,50 ± 0,00	5,75 ± 0,14	0,75	> 0,2	
		2 ай	6,50 ± 0,00	5,50 ± 0,14	1,00	> 0,1	
		3 ай	6,50 ± 0,00	5,50 ± 0,14	1,00	> 0,1	
		6 ай	6,50 ± 0,00	5,25 ± 0,28	1,25	> 0,1	
		8 ай	6,50 ± 0,00	5,00 ± 0,14	1,50	< 0,05	
		12 ай	6,50 ± 0,00	5,00 ± 0,38	1,50	< 0,05	
		15 ай	6,50 ± 0,00	5,00 ± 0,14	1,50	< 0,01	
II	6,5 % пептон + 5 % сахароза	5 тәулік	6,50 ± 0,00	6,50 ± 0,38	0,00	> 0,5	1 ай
		10 тәулік	6,50 ± 0,00	6,50 ± 0,28	0,00	> 0,5	
		15 тәулік	6,50 ± 0,00	6,50 ± 0,14	0,00	> 0,5	
		1 ай	6,50 ± 0,00	5,50 ± 0,28	1,00	> 0,1	
		2 ай	6,50 ± 0,00	5,50 ± 0,14	1,00	< 0,05	
		3 ай	6,50 ± 0,00	5,50 ± 0,14	1,00	< 0,05	
		6 ай	6,50 ± 0,00	5,25 ± 0,14	1,25	< 0,025	
		8 ай	6,50 ± 0,00	5,00 ± 0,28	1,50	< 0,025	
		12 ай	6,50 ± 0,00	4,50 ± 0,14	2,00	< 0,005	
		15 ай	6,50 ± 0,00	4,50 ± 0,14	2,00	< 0,005	
III	3 % пептон + 0,5 % желатин + 3 % сахароза	5 тәулік	6,83 ± 0,22	6,75 ± 0,14	0,08	> 0,5	10 тәулік
		10 тәулік	6,83 ± 0,22	6,00 ± 0,28	0,83	> 0,1	
		15 тәулік	6,83 ± 0,22	5,75 ± 0,14	1,08	< 0,025	
		1 ай	6,83 ± 0,22	5,75 ± 0,14	1,08	< 0,025	
		2 ай	6,83 ± 0,22	5,50 ± 0,38	1,33	< 0,050	
		3 ай	6,83 ± 0,22	5,50 ± 0,14	1,33	< 0,050	
		6 ай	6,83 ± 0,22	5,25 ± 0,28	1,58	< 0,050	
		8 ай	6,83 ± 0,22	5,25 ± 0,14	1,58	< 0,050	
		12 ай	6,83 ± 0,22	4,50 ± 0,14	2,33	< 0,005	
		15 ай	6,83 ± 0,22	4,50 ± 0,14	2,33	< 0,005	
IV	майсыз сиыр сүті	5 тәулік	6,50 ± 0,00	6,50 ± 0,14	0,00	> 0,5	3 ай
		10 тәулік	6,50 ± 0,00	6,25 ± 0,28	0,25	> 0,5	
		15 тәулік	6,50 ± 0,00	6,25 ± 0,14	0,25	> 0,5	
		1 ай	6,50 ± 0,00	5,25 ± 0,38	1,25	> 0,1	
		2 ай	6,50 ± 0,00	5,25 ± 0,28	1,25	> 0,1	
		3 ай	6,50 ± 0,00	5,25 ± 0,14	1,25	> 0,1	
		6 ай	6,50 ± 0,00	5,00 ± 0,14	1,50	< 0,05	
		8 ай	6,50 ± 0,00	4,75 ± 0,28	1,75	< 0,025	
		12 ай	6,50 ± 0,00	4,25 ± 0,14	2,25	< 0,01	
		15 ай	6,50 ± 0,00	3,75 ± 0,14	2,75	< 0,01	
V	қорғау ортасы жоқ (бақылау)	5 тәулік	6,75 ± 0,25	6,75 ± 0,14	0,00	> 0,5	2 ай
		10 тәулік	6,75 ± 0,25	6,50 ± 0,14	0,25	> 0,5	
		15 тәулік	6,75 ± 0,25	6,25 ± 0,28	0,50	> 0,5	
		1 ай	6,75 ± 0,25	6,25 ± 0,14	0,50	> 0,5	
		2 ай	6,75 ± 0,25	5,75 ± 0,38	1,00	> 0,2	
		3 ай	6,75 ± 0,25	5,25 ± 0,14	1,50	< 0,05	
		6 ай	6,75 ± 0,25	5,00 ± 0,14	1,75	< 0,025	
		8 ай	6,75 ± 0,25	4,75 ± 0,28	2,00	< 0,025	
		12 ай	6,75 ± 0,25	4,00 ± 0,28	2,75	< 0,01	
		15 ай	6,75 ± 0,25	4,00 ± 0,28	2,75	< 0,01	

Зерттеу нәтижелерінде 2-ші кесте (20,0 ± 2) °С температурада I үлгі (6,5 % пептон) 6 айға дейін, IV үлгі (майсыздандырылған сүт) 3 айға дейін, II үлгі (6,5 % пептон + 5 % сахароза) 1 айға дейін сақтауға болатынын көрсетті. Осы температурада V вакцинаның бақылау үлгісі құрамында сахароза бар II және III үлгілермен салыстырғанда ұзағырақ сақталған байқауға болады.

3-кесте – Әртүрлі қорғаныш орта қосылған түйе шешегі вирусының «КМ-40» вакциналық штаммының (6 ± 2) °С температурада сақталу нәтижелері

Үлгі нөмірі	Вакцинаның қорғаныш ортасының құрамы	Сақтау мерзімі	Биологиялық белсенділігі, lg		Белсенділіктің жоғалуы lg ТЦД ₅₀	Айырмашылықтардың маңыздылығы, Р	Вакцина үлгісін сақтаудың белгіленген мерзімі
			ТЦД _{50/см³}	Бастапқы			
I	6,5 % пептон	2 ай	6,50 ± 0,00	6,50 ± 0,14	0,00	> 0,5	8 ай
		3 ай	6,50 ± 0,00	6,25 ± 0,14	0,25	> 0,5	
		6 ай	6,50 ± 0,00	5,75 ± 0,14	0,75	> 0,1	
		8 ай	6,50 ± 0,00	5,50 ± 0,28	1,00	> 0,1	
		12 ай	6,50 ± 0,00	5,50 ± 0,14	1,00	< 0,05	
		15 ай	6,50 ± 0,00	5,50 ± 0,14	1,00	< 0,05	
II	6,5 % пептон + 5 % сахароза	2 ай	6,50 ± 0,00	4,67 ± 0,16	1,83	< 0,025	8 ай
		3 ай	6,50 ± 0,00	6,50 ± 0,00	0,00	> 0,5	
		6 ай	6,50 ± 0,00	6,25 ± 0,14	0,25	> 0,5	
		8 ай	6,50 ± 0,00	5,50 ± 0,38	1,00	> 0,1	
		12 ай	6,50 ± 0,00	5,50 ± 0,28	1,00	> 0,1	
		15 ай	6,50 ± 0,00	5,25 ± 0,14	1,25	< 0,025	
III	3 % пептон + 0,5 % желатин + 3 % сахароза	2 ай	6,50 ± 0,00	4,08 ± 0,08	2,42	< 0,001	6 ай
		3 ай	6,83 ± 0,22	6,75 ± 0,14	0,08	> 0,5	
		6 ай	6,83 ± 0,22	6,75 ± 0,14	0,08	> 0,5	
		8 ай	6,83 ± 0,22	5,75 ± 0,28	1,08	> 0,1	
		12 ай	6,83 ± 0,22	5,50 ± 0,14	1,33	< 0,01	
		15 ай	6,83 ± 0,22	5,00 ± 0,14	1,83	< 0,05	
IV	майсыз сиыр сүті	2 ай	6,50 ± 0,00	4,75 ± 0,28	2,08	< 0,01	15 ай
		3 ай	6,50 ± 0,00	3,75 ± 0,25	3,08	< 0,001	
		6 ай	6,50 ± 0,00	6,50 ± 0,14	0,00	> 0,5	
		8 ай	6,50 ± 0,00	6,25 ± 0,28	0,25	> 0,5	
		12 ай	6,50 ± 0,00	6,00 ± 0,38	0,50	> 0,4	
		15 ай	6,50 ± 0,00	5,50 ± 0,14	1,00	> 0,2	
V	қорғау ортасы жоқ (бақылау)	2 ай	6,50 ± 0,00	5,25 ± 0,38	1,25	> 0,1	8 ай
		3 ай	6,50 ± 0,00	4,28 ± 0,22	1,92	< 0,01	
		6 ай	6,75 ± 0,25	6,75 ± 0,14	0,00	> 0,5	
		8 ай	6,75 ± 0,25	6,75 ± 0,14	0,00	> 0,5	
		12 ай	6,75 ± 0,25	6,50 ± 0,28	0,25	> 0,5	
		15 ай	6,75 ± 0,25	5,75 ± 0,38	1,00	> 0,1	
20 ай	6,75 ± 0,25	4,50 ± 0,14	2,25	< 0,025			
20 ай	6,75 ± 0,25	3,83 ± 0,16	2,92	< 0,001			

Бұл зерттеу нәтижелерінде сақтау температурасы (6 ± 2) °С кезінде ең жақсы сақталуы құрамында майсыздандырылған сиыр сүті бар (15 айға дейін) вакцинаның IV үлгісін жақсы сақталғандығын көрсетті. Төмен сақтау температурасы барлық үлгілердің сақталуына оң әсер етті.

4-кесте – Әртүрлі қорғаныш орта қосылған түйе шешегі вирусының «КМ-40» вакциналық штаммының минус (40 ± 1) °С температурада сақталу нәтижелері

Үлгі нөмірі	Вакцинаның қорғаныш ортасының құрамы	Сақтау мерзімі	Биологиялық белсенділігі, lg		Белсенділіктің жоғалуы lg ТЦД ₅₀	Айырмашылықтардың маңыздылығы, Р	Вакцина үлгісін сақтаудың белгіленген мерзімі
			ТЦД _{50/см³}	Бастапқы			
I	6,5 % пептон	3 ай	6,50 ± 0,00	6,50 ± 0,14	0,00	> 0,5	20 ай
		6 ай	6,50 ± 0,00	6,50 ± 0,14	0,00	> 0,5	
		8 ай	6,50 ± 0,00	6,25 ± 0,14	0,25	> 0,5	
		12 ай	6,50 ± 0,00	6,25 ± 0,14	0,25	> 0,5	
		15 ай	6,50 ± 0,00	6,00 ± 0,28	0,50	> 0,4	
II	6,5 % пептон + 5 % сахароза	20 ай	6,50 ± 0,00	5,75 ± 0,43	0,75	> 0,2	15 ай
		3 ай	6,50 ± 0,00	6,50 ± 0,14	0,00	> 0,5	
		6 ай	6,50 ± 0,00	6,50 ± 0,14	0,00	> 0,5	
		8 ай	6,50 ± 0,00	6,25 ± 0,28	0,25	> 0,5	
		12 ай	6,50 ± 0,00	6,00 ± 0,14	0,50	> 0,2	
III	3 % пептон + 0,5 % желатин + 3 % сахароза	15 ай	6,50 ± 0,00	5,75 ± 0,28	1,08	> 0,1	15 ай
		20 ай	6,83 ± 0,22	4,75 ± 0,14	2,08	< 0,025	
		3 ай	6,83 ± 0,22	6,50 ± 0,14	0,33	> 0,4	
		6 ай	6,83 ± 0,22	6,50 ± 0,14	0,33	> 0,4	
		8 ай	6,83 ± 0,22	6,25 ± 0,28	0,58	> 0,4	
IV	майсыз сиыр сүті	12 ай	6,83 ± 0,22	6,00 ± 0,38	0,83	> 0,2	20 ай
		15 ай	6,50 ± 0,00	5,75 ± 0,25	0,75	> 0,2	
		20 ай	6,50 ± 0,00	5,75 ± 0,25	0,75	> 0,2	
		3 ай	6,50 ± 0,00	6,50 ± 0,14	0,00	> 0,5	
		6 ай	6,50 ± 0,00	6,50 ± 0,14	0,00	> 0,5	
V	қорғау ортасы жоқ (бақылау)	8 ай	6,50 ± 0,00	6,50 ± 0,14	0,00	> 0,5	15 ай
		12 ай	6,50 ± 0,00	6,25 ± 0,14	0,25	> 0,5	
		15 ай	6,50 ± 0,00	6,25 ± 0,14	0,25	> 0,5	
		20 ай	6,50 ± 0,00	5,75 ± 0,25	0,75	> 0,2	
		3 ай	6,75 ± 0,25	6,50 ± 0,14	0,25	> 0,5	
6 ай	6,75 ± 0,25	6,50 ± 0,14	0,25	> 0,5			
8 ай	6,75 ± 0,25	6,50 ± 0,14	0,25	> 0,5			
12 ай	6,75 ± 0,25	6,00 ± 0,28	0,75	> 0,2			
15 ай	6,75 ± 0,25	6,00 ± 0,14	0,75	> 0,2			
20 ай	6,75 ± 0,25	4,67 ± 0,22	2,08	< 0,025			

Зерттеу барысында 4-ші кестеде көрсетілгендей сақтау температурасы минус (40 ± 1) °C кезінде ең жақсы сақталуы құрамында 6,5 пептон мен майсыздандырылған сиыр сүті бар (20 айға дейін) вакцинаның I және IV үлгісін көрсетті. Ал, II (6,5 % пептон + 5 % сахароза) және III үлгі (3 % пептон + 0,5 % желатин + 3 % сахароза) 15 айға дейін сақтауға болатынын көрсетті.

1-4 ші кестелерде келтірілген деректер негізінде ТШ вирусының аттенуирленген «КМ-40» вакциналық штамды сақтаудың температуралық-уақыттық режимдеріне және қорғаныс ортасының түріне тікелей байланысты екендігі туралы қорытынды жасауға болады. Осылайша, түйе шешегі вирусының аттенуирленген штаммының КМ-40 вакцинасының сыналған үлгілерінің сақтау температурасымен сақтау мерзіміне, сондай-ақ қорғаныш ортасының құрамына байланысты болды. Бұл ретте жоғары температура – ($37 \pm 0,5$) °C, вирустың өміршеңдігіне олардағы қорғаныш орталарының құрамына қарамастан кері әсер етті және тиісінше вакцина үлгілерінің сақталу мерзімі 1 айдан аспайды. Төмен температурада сақтау олардың сақталуын айтарлықтай ұзартқан.

Алынған деректерді талқылау. Вирустардың көпшілігі зерттеу және өндірістік мақсаттарда сақтаудың негізгі әдістері қорғаныс ортасын қолдана отырып, төмен температурада кептіру және мұздату болып табылады [8]. Сублимациялық кептіру бұл тірі биопрепараттар өндірісінің соңғы кезеңі, ал вирустық массаны кептіру процесіне ғана емес, сонымен қатар оның қасиеттерінің сақталуына, әсіресе ұзақ уақыт сақтауға әсер ететін қорғаныс орталарына ерекше мән беріледі [9].

Сондықтан, сублимациялық кептіру аяқталғаннан кейін және одан әрі сақтау кезінде биологиялық препараттардың жоғары тиімділігін қамтамасыз ете алатын оңтайлы кептіру ортасын табу маңызды мәселе болып табылады [10].

Әлемнің әртүрлі ғылыми-өндірістік орталықтарында тірі вирустық вакциналарды дайындау кезінде лиофилизацияда, сақтауда және тасымалдауда вирусқа протективті әсер ететін тұрақтандырушы орта пайдаланылады, атап айтқанда поксвирустар үшін, негізінен, пептон-лактоза, пептон-сахароза, сахароза-желатин және майсыздандырылған сиыр сүті сияқты қорғаныс орталары қолданылады [11]. Айта кету керек, біз ашық көздерде түйе шешек вирусының тіршілік әрекетін сақтау үшін тұрақтандырғыш компоненттерді таңдау бойынша іздеу жұмыстарын таппадық. Сондықтан алынған нәтижелерді басқа ұқсас зерттеулермен талқылау және терең талдау жүргізілген жоқ. Алайда, біз алынған нәтижелерді басқа авторлармен жақынырақ байланысты вирустарға қатысты зерттелген мәселе бойынша талқылауға тырыстық. Сонымен, Solyom et al. [12] сыналған 4 қорғаныс ортасының (1 % пептон + 2,5 % глюкоза, 20 % майсыздандырылған сиыр сүті, 2,5 % лактоальбумин гидролизаты, бактоказеин) қой шешегі вирусының аттенуирленген штаммының лиофилизациясы кезінде ең жақсы тұрақтандырушы әсері 20 % майсыздандырылған сиыр сүті және бактоказеин болғанын анықтады, бірақ авторлар мұндай препараттардың сақтау процесінде сақталуы туралы мәліметтер келтірілмеген. Біздің тәжірибемізде әр түрлі сыналатын тұрақтандырғыштары бар түйе шешегі вирусын лиофильді кептіруден кейін барлық үлгілердің белсенділігі айтарлықтай төмендегені атап өтілді.

Chifney et al. [13] 2,5 % лактоальбумин гидролизаты және 5 % сахароза бар ортаны пайдалану үшін поксвирустың аттенуирленген штамдарын лиофилизациялауда ұсынылды. Лиофилизацияланған вирусты осы қорғаныс ортасымен сақтау кезінде оның белсенділігінің 1 жыл ішінде минус 20 °C-та төмендеуі байқалмады [14, 15]. Қой шешегі вирусының лиофилизациясында майсыздандырылған сиыр сүті қорғаныс құралы ретінде пайдаланылды. О. А. Короб жүргізген зерттеулердің нәтижелері бойынша [16]. Таңдалып алынған 14 түрлі қорғау ортасының ішінде қой шешегі вирусының штамдарына қатысты ең жақсы тұрақтандырушы әсерге 3-5 % концентрациядағы пептоны және 2,5-5 % сахарозасы бар орта ие екендігі анықталды, ол вакцинаны дайындау үшін матрицалық штамды сақтауға ұсынылады. Қой шешегі вирусының штамдары тұрақтандырғыш орталармен кептіріліп, 4 °C және минус 20 °C температурада жыл бойы белсенділіктің айтарлықтай тұрақты сақтаған.

Сонымен қатар, ірі қара малдың надулярлық дерматит вирусы үшін қорғау ортасын таңдау кезінде мынадай соңғы концентрациялардағы компоненттер пайдаланылған: 12 % пептон+8 % лактоза; 8 % пептон+1 % желатин+6 % сахароза және майсыздандырылған сиыр сүті. Жүргізілген зерттеулер нәтижесінде 3 түрлі тұрақтандырғыш ортаның (12 % пептон+8 % лактоза, 8 % пептон+1 % желатин+6 % сахароза және майсыз сиыр сүт 50 %) арасынан пептон (8 %), желатин (1 %), сахароза (6 %) үш компонентті кешенді ортасының 1:1 қатынасы ең жақсы тұрақтандырғыш қасиетке ие болған [17].

Қорытынды. Алынған зерттеу нәтижелері 1:1 қатынасында майсыздандырылған сиыр сүті болып табылатын осы вакцина үшін оңтайлы қорғаныш ортасын таңдауға мүмкіндік берді. Вакцинада майсыздандырылған сиыр сүтінің болуы вакцинаны 15 ай бойы ($6,0 \pm 2,0$) °C температурада және минус ($40,0 \pm 1$) °C кезінде 20 ай бойы (бақылау мерзімі) сақтауға мүмкіндік берді. Сонымен қатар, осы температурада, яғни минус ($40,0 \pm 1$) °C, құрамында 6,5 % пептон бар вакцина үлгісі сонша уақыт сақталды. Сондықтан оңтайлы температура ретінде ($6,0 \pm 2,0$) °C және қорғау ортасы – майсыздандырылған сиыр сүті және соңғы концентрациядағы 6,5 % пептон таңдалды.

ӘДЕБИЕТ

- 1 Сюрин В.Н., Иванова Г.А., Краснобаев Е.А., Фомин Ю.В. Лабораторная диагностика вирусных болезней животных. - 1972. - С. 181.
- 2 Разработка технологии изготовления вакцины против оспы верблюдов. Отчет о НИР (заключительный). - Гвардейский, 2019.
- 3 Токарик Э.Ф., Ковальская Л.А., Скотникова Т.А. и др. Методические подходы к конструированию защитных сред для живых вирусных вакцин // Научные основы производства ветеринарных препаратов. - М., 1989. - С. 17-21.
- 4 Токарик Э.Ф., Ковальская Л.А., Константинов В.М. Методы статического анализа в исследованиях по стабилизации вирусных вакцин. достижения и перспективы развития криобиологии и криомедицины // Тезисы докл. междунар. конф. - Харьков, 1988. - С. 56.
- 5 Collier L.H. The preservation of smallpox vaccine // Trends. Biochem. Sci. - 1978. - Vol. 3 (2). - P. 27-29.
- 6 Мастеница М.А. К изучению потерь вируса в процессе производства оспенной вакцины // Сб. вопр. приклад. вирусол. и микробиол. - Томск, 1974. - Т. 24. - С. 262-265.
- 7 Reed I.J., Muench H.A. A simple method of estimating fifty per cent endpoints // Am. J. Hyg. - 1938. - Vol. 27. - P. 493-497.
- 8 Главацкий В.Н., Кравченко В.М., Накопов В.Н. и др. Стабилизация эффективных веществ при замораживании и высушивании очищенных биопрепаратов // Актуальные проблемы ветеринарной вирусологии. - Владимир, 1977. - С. 103-107.
- 9 Варяница В.В., Высеканцев И.П. Защитные среды для хранения стандартного штамма вируса бешенства CVS при температурах минус 20-80 °С // Вісник проблем біології і медицини. - 2019. - Вип. 4, Т. 1 (153). - С. 205-211. ISSN 2077-4214.
- 10 Никитин Е.Е., Звягин И.В. Замораживание и высушивание биологических препаратов. - Москва: Колос, 1971. - 343 с.
- 11 Токарик Э.Ф., Ковальская Л.А., Скотникова Т.А. и др. Методические подходы к конструированию защитных сред для живых вирусных вакцин // Научные основы производства ветеринарных препаратов. - М., 1989. - С. 17-21.
- 12 Solyom F., Perenlei L., Roith J. A live attenuated virus vaccine against sheep pox // Acta Vet. Acad. Sci. Hung. - 1980. - Vol. 28 (4). - P. 398-389.
- 13 Chifney S.T.E., Martin W.B., Ergin H., Koylu A. Factors associated with the production of attenuated sheep pox vaccines // Res. Vet. Sci. - 1973. - Vol. 14 (1). - P. 62-68.
- 14 Mateva Pankova V., Jassim F.A., Thompson J.R., AL-Doorri T.M. The propagation of an attenuated sheep pox virus and its use as a vaccine // Bull. Off. Int. Epiz. - 1974. - Vol. 81 (24). - P 329-339.
- 15 Лихачева Н.В., Жидкова Л.А. Атенуированный штамм вируса оспы овец // Тез. докл. науч.-произв. конф. ВГНКИ вет.препаратов. - Москва, 1974. - С. 1-2.
- 16 Кореба О.А. Биологическое свойство штаммов вируса оспы овец: дисс. на соиск. уч. ст. канд. биол. наук. - Гвардейский, 1984. - 188 с.
- 17 Абсатова Ж.С., Азанбекова М.А., Жугунисов К.Д., Мамбеталиев М., Кенжебаева М.К., Кутумбетов Л.Б. Подбор стабилизирующих компонентов для сохранения вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота в условиях лаборатории // Биобезопасность и биотехнология. - 2020. - N 1. - С. 16.

УДК: 57.086.833

**Г.А. Жаппарова, Б.Ш. Мырзахметова, А.К. Наханов, Б.М. Жолдыбаева,
А.Б. Иманкулова, А.А. Терейбай**

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

МЕТОДИКА ПОЛУЧЕНИЯ И КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ КОЖИ ЭМБРИОНА ОВЦЫ

Аннотация. Цель настоящего исследования состояла в том, чтобы выделить, культивировать и охарактеризовать первичную культуру клеток кожи эмбриона овцы (КЭО), а также определить оптимальную посевную концентрацию для получения односуточного равномерного монослоя. Первичная культура клеток КЭО была получена из кожи эмбриона овцы методом трипсинизации. Результаты исследований показали высокую пролиферативную активность первичной культуры клеток, 90 % клеточный монослой был получен на 5-6 день культивирования. При изучении цитоморфологической характеристики было установлено, что

монослой культуры клеток КЭО состоял из фибробластоподобных клеток удлинено веретенообразной формы. Наиболее оптимальной посевной концентрацией для первичной культуры клеток КЭО была 500 тыс кл/мл который на первые сутки образовал монослой (80-90 %), при этом индекс пролиферации (ИП) составил 2,3 раза. Эти результаты показывают, что клетки КЭО обладают определенными характеристиками первично-трипсинизированных культур клеток.

Таким образом, первичная культура клеток КЭО может потенциально оказаться полезным для репродукции производственных штаммов вакцин.

Ключевые слова: кожа эмбриона овцы, трипсинизация, первичная культура клеток, монослой, культивирование.

**Г.А. Жаппарова, Б.Ш. Мырзахметова, А.К. Наханов, Б.М. Жолдыбаева,
А.Б. Иманкулова, А.А. Терейбай**

РМК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты»
ҒК БҒМ ҚР Жамбыл облысы, Қордай ауданы, Гвардейский қалашығы, Қазақстан

КОЙ ЭМБРИОНЫНЫҢ ТЕРІ ЖАСУШАЛАРЫНЫҢ (ҚЭТ) БАСТАПҚЫ ӨСІНДІСІН БӨЛІП АЛУ ЖӘНЕ ӨСІРУ ӘДІСІ

Аннотация. Бұл зерттеудің мақсаты қой эмбрионының тері жасушаларының (ҚЭТ) бастапқы өсіндісін бөліп алу, өсіру және сипаттау, сонымен қатар бір тәуліктік біркелкі моноқабатын алу үшін оңтайлы концентрациясын анықтау болды. ҚЭТ жасушаларының бастапқы өсінділері қой эмбрионының терісінен трипсинизация әдісімен алынған. Зерттеу нәтижелері бастапқы жасуша өсінділерінің жоғары пролиферативті белсенділігін көрсетті, жасуша моноқабатының 90 % 5-6-шы тәулікте алынды. Цитоморфологиялық сипаттамасын зерттеуде ҚЭТ жасуша өсінділерінің моноқабаты ұзартылған шыбық тәрізді фибробласт тектес жасушалардан тұратыны анықталды. Бастапқы ҚЭТ жасуша өсінділерін себудің оңтайлы концентрациясы 500 мың жасуша/мл болды, мұнда моноқабат (80-90 %), бір тәулікте түзілді, бұл кезде пролиферация индексі 2,3 есе құрады. Мұндай нәтижелер ҚЭТ жасушаларының белгілі бір сипаттамаларына ие екендігін көрсетті.

Осылайша, бастапқы ҚЭТ жасуша өсінділері өндірістік вакцина штамдарын көбейту үшін өте маңызды.

Түйін сөздер: қой эмбрионының терісі, трипсинизация, бастапқы жасушалар өсіндісі, монослой, өсіру.

**G.A. Zhapparova, B.Sh. Myrzakmetova, A.K. Nakhanov, B.M. Zholdybayeva,
A.B. Imankulova, A.A. Terebai**

RSE «Research Institute for Biological Safety Problems» SC MES RK,
Zhambyl region, Kordai district, Gvardeiskiy village, Kazakhstan

METHOD OF OBTAINING AND CULTIVATION OF PRIMARY CULTURE OF SHEEP EMBRYO SKIN

Abstract. The purpose of this study was to isolate, cultivate, and characterize the primary culture of sheep embryo skin cells (CEO), as well as determine the optimal inoculum concentration to produce a one-day, uniform monolayer. The primary culture of CEO cells was obtained from the skin of a sheep embryo by trypsinization. The research results showed a high proliferative activity of the primary cell culture, 90 % of the cell monolayer was obtained on the 5-6th day of cultivation. When studying the cytomorphological characteristics, it was found that the monolayer of the cell culture CEO consisted of fibroblast-like cells of an elongated spindle shape. The most optimal inoculum concentration for the primary CEO cell culture was 500 thousand cells/ml, which on the first day formed a monolayer (80-90 %), while the proliferation index (PI) was 2.3 times. These results show that CEO cells possess certain characteristics of primary trypsinized cell cultures.

Thus, a primary CEO cell culture may potentially be useful for the reproduction of production vaccine strains.

Key words: sheep embryo skin, trypsinization, primary cell culture, monolayer, cultivation.

Введение. В современной биотехнологии культуры клеток применяются в ветеринарных и медицинских областях для скрининга лекарственных препаратов, получения вакцин [1].

Развитие клеточных технологий позволило широко использовать клетки животных в различных вирусологических исследованиях *in vitro*. Для изучения свойств вирусов, используют органные культуры и клеточные культуры [2].

Массовое производство практически всех медицинских вирусных вакцин основано на первичных культурах клеток. Поэтому увеличение биомассы культуры-продуцента, получаемой от одного животного-донора ткани, остается важным этапом производственного процесса. Решение этой задачи может быть осуществлено за счет увеличения сборов первично-трипсинизированных клеток.

Определяющим этапом при получении первичных культур клеток человека и животных является дезагрегация исходных тканей на дискретные клетки или небольшие клеточные конгломераты, способные к размножению в условиях *in vivo*. Самым распространенным способом дезагрегации тканей является обработка их протеолитическими ферментами в комплексе с механическим или химическим воздействием. Наиболее широко в качестве диспергента используют трипсин.

Однако утрата типичных для исходной ткани свойств клеток не позволяет использовать клеточные штаммы и линии в качестве идеальной модельной системы для исследований вирусов *in vitro*. Подразумевается, что идеальной клеточной моделью является наиболее близкая к исследуемому объекту модель, позволяющая получать результаты сходные с результатами, полученными при использовании исследуемого объекта. Все выше перечисленное привело исследователей к использованию первичных клеточных культур в качестве наиболее близкой к условиям *in vivo* модельной системы для изучения различных свойств возможных вирусов [3, 4].

До сих пор первичные культуры остаются основным клеточным субстратом при производстве различных противовирусных вакцин. Это связано с тем, что исторически первые культуральные вирусные вакцины были приготовлены на этом типе культур клеток и показали высокую эффективность, и безопасность на протяжении длительного периода времени [5].

Целью настоящего исследования являлось получение первичной культуры клеток КЭО методом трипсинизации, культивирование и цитоморфологическая характеристика данной культуры, а также определение оптимальной посевной концентрации для получения односуточного ровного монослоя.

Методика исследований. Для проведения исследований из ОПЖ (НИИПББ) была поставлена овцематка. Все эксперименты на животных проводились в соответствии с руководящими принципами, установленными комитетом по уходу и использованию животных сельскохозяйственных наук [6].

После обескровливания животного извлекли из брюшной полости матку вместе с развитым эмбрионом. Эмбрион обжигали спиртовым факелом и оставляли в растворе Хенкса, содержащей антибиотика (пенициллина 200 ед/см³, стрептомицина – 200 мкг/см³) при температуре плюс 4 °С на 2 часа. Через 2 часа в боксе с соблюдением правил асептики эмбрион переместили в эмалированный лоток и извлекли кожу, затем измельчили медицинскими ножницами на кусочки размером 1-2 мм. Кусочки ткани отмывали от остатков крови солевым раствором Хенкса до полного просветления надосадочной жидкости. После промывки заливали 0,25 % теплым раствором трипсина фирмы «Sigma», ткань обрабатывали в трипсине перемешивая на магнитной мешалке 10 раз по 5 мин до приобретения белесоватого оттенка. Продолжительность цикла составила от 5 до 10 мин при средней повторяемости от 10 до 15 раз. Центрифугирование суспензии проводили в центрифуге «Мистраль 6Л» МСЕ при 1000 об/мин в течение 20 мин. После центрифугирования надосадочную жидкость сливали, осадок ресуспендировали ростовой средой с 10 % сывороткой. Полученную суспензию фильтровали через 3-4 слойный марлевый фильтр по 2 раза.

Концентрацию клеток полученной суспензии посчитывали с помощью автоматического счетчика клеток ТС20. Для культивирования клеток использовали питательную среду ПСП с 20 % сывороткой КРС. Через 2 суток культивирования проводили смену ростовой среды первичной культуры КЭО.

Для определения оптимальной посевной концентрации первичной культуры клеток КЭО брали несколько вариантов от 3x10⁵, 4x10⁵, 5x10⁵, 6x10⁵ кл/см³. Количество клеток, индекс пролиферации и процент жизнеспособных клеток определяли на третьи сутки по общепринятой методике.

Основные результаты исследований. Клетки, выделенные из кожи эмбриона овцы, начали прикрепление через 16-18 ч после посева. На первые сутки они были округлой формы и начинали удлиняться на вторые сутки. На 4 сутки отмечалось колониальный рост, после этого первичной культуре клеток КЭО проводили смену среды. Через 5-6 дней культивирования на 90 % сформировался клеточный монослой. Микрофотография полученной первичной культуры клеток КЭО приведена на рисунке 1.

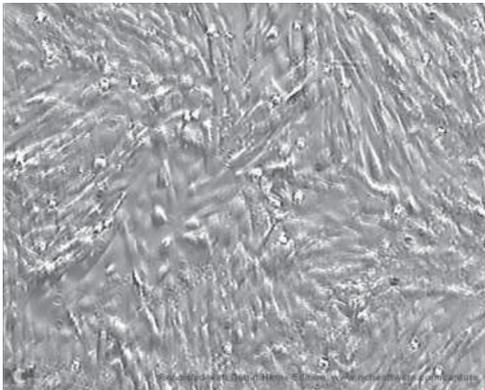


Рисунок 1 – Монослойная культура клеток КЭО (ув. х 40)

Как видно из рисунка 1, клетки КЭО проявляли фибробластоподобную и удлиненно веретенообразную морфологию, мелкие с четкими границами. Имеют крупные овальные ядра с мелкими ядрышками.

В результате исследований было установлено, что при ферментативном методе трипсин позволяет дезагрегировать более

90 % ткани, а количество живых клеток при этом составило около 95 %.

Монослойная культура клеток сохранялся без смены питательной среды в течение 20 суток. Для снятия монослоя клеток использовали диспергирующую смесь, состоящую из 0,25 % раствора трипсина и 0,02 % версена в соотношении 1:1. Данная концентрация позволяла собрать максимальное количество клеток, и являлась наиболее оптимальной.

С целью определения оптимальной посевной концентрации для получения полного монослоя через 24 часа обрабатывали несколько вариантов концентраций клеток в суспензии от 3×10^5 , 4×10^5 , 5×10^5 , 6×10^5 кл/см³, на третьи сутки определяли прирост клеток. Изучения формирования монослоя клеток при разных посевных концентрациях приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Формирование монослоя первичной культуры клеток КЭО при разных посевных концентрациях

Название культуры клеток	Посевная концентрация	Сроки образования монослоя	Степень образования монослоя, %	Индекс пролиферации
КЭО	3×10^5	4 сут	70-80	2.1
	4×10^5	4 сут	80-90	2.2
	5×10^5	1 сут	80-90	2.3
	6×10^5	2 сут	96-98	2.8

Из данных таблицы видно, наиболее оптимальной посевной концентрацией для первичной культуры клеток КЭО была 500 тыс кл/мл который на первые сутки образовал монослоем (80-90 %), при этом ИП составил 2,3 раза. Степень образования монослоя для культуры клеток КЭО составил 70-80 % при посевной концентрации 300 тыс клеток, который на 4 сутки образовал равномерный монослоем. Посевная концентрация 600 тыс кл/мл на первые сутки образовывал плотный монослоем (96-98 %), который не был пригоден для заражения вирусом.

Сформированный монослоем использовали для получения субпассажа. При этом, для снятия монослоя клеток использовали диспергирующую смесь, состоящую из 0,25 % раствора трипсина и 0,02 % версена в соотношении 1:1. Данная концентрация позволяла собрать максимальное количество клеток, и являлась наиболее оптимальной. Первичная культура клеток КЭО культивировались до 6-го и 8-го пассажного уровня, после наблюдалось старение клеток и низкая пролиферативная активность. Однако дальнейшее пассирование оказалось не эффективным, так как наблюдалось старение клеток, при этом изменялись не только формы клеток, но так же снижались ростовые свойства.

Обсуждение полученных данных. Применяемые в настоящее время методики позволяют получать взвеси жизнеспособных клеток практически из всех органов и тканей животных. Наиболее достаточно эффективным и универсальным способом дезагрегации тканей на клетки является их обработка протеолитическими ферментами. В проведенных нами исследованиях был использован трипсин, при котором было установлено, что ферментативный метод с использованием 0,25 % трипсина позволяет дезагрегировать более 90 % ткани, а также существенно повышает количество жизнеспособных клеток (95 %).

Клетки первично-трипсинизированной культуры клеток кожи эмбриона овцы преимущественно имели фибробластоподобную и удлиненно веретенообразную форму, что соответствовал данной культуре клеток.

При определении оптимальной посевной концентрации для получения полного монослоя через 24 часа обрабатывали несколько вариантов концентраций клеток в суспензии от 3×10^5 , 4×10^5 , 5×10^5 , 6×10^5 кл/см³, на третьи сутки определяли прирост клеток. В результате определена оптимальная посевная концентрация 5×10^5 для культуры клеток КЭО для получения полного сформированного монослоя через 24 часа культивирования для последующего заражения вирусом.

Первичная культура клеток КЭО культивировались до 6-го и 8-го пассажного уровня, после наблюдалось старение клеток и низкая пролиферативная активность. Однако дальнейшее пассирование оказалось не эффективным, так как наблюдалось старение клеток, при этом изменялись не только формы клеток, но так же снижались ростовые свойства. Поэтому, данная культура клеток может быть использована основным клеточным субстратом при производстве различных противовирусных вакцин.

Заключение. Первичная культура клеток полученные из кожи эмбриона овцы в настоящее время используются для определения биологической активности вирусов, освежения контрольных и матриксных штаммов вирусов, выделения вирусов из патологических материалов, а также для получения вирусного сырья, необходимого для приготовления диагностических и профилактических препаратов.

ЛИТЕРАТУРА

1 Мингалеева Р.Н., Соловьева В.В., Блатт Н.Л. и др. Применение культур клеток и тканей для скрининга противоопухолевых препаратов *in vitro* // Клеточная трансплантология и тканевая инженерия. – 2013; - N 8 (2)№ - С. 20-28.

2 Еремец В.И., Самуйленко А.Я., Еремец Н.К. и др. Совершенствование и стандартизация технологических процессов, методов контроля и управления качеством противовирусных вакцин // Ветеринарный врач. - 2011. – Т. 3. – С. 4-7.

3 Хапчаев Ю.Х. Разработка методов получения и культивирования первичных и перевиваемых культур клеток животных для производства вирусных вакцин. – Москва, 2003.

4 Глаголева И.С., Плотникова Э.М. Возможность применения первичных культур клеток почек новорожденных крольчат в производстве вакцинных препаратов // Гены и клетки. – 2014. – Т. IX, N 3.

5 Блажевич О.В. Культивирование клеток: Курс лекций. - Минск:БГУ, 2004.

6 Директива 2010/63/EU Европейского парламента и совета европейского союза по охране животных, используемых в научных целях// НП «Объединение специалистов по работе с лабораторными животными». - Санкт-Петербург, 2012.

УДК 34.25.01.; 34.25.05.; 34.25.37.; 68.41.41.

Г.Д. Наханова, Ж. Кыдырбаев, М.Б. Орынбаев, С.Ш. Нурабаев, Ж.К. Кошеметов

РГП на ПХВ «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», КН МОН РК
Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, Казахстан

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ И ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ПО ГРИППУ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

Аннотация. Учитывая проведенный анализ интенсивности эпидемиологического процесса острой респираторной вирусной инфекции (ОРВИ) и гриппа, а также результаты лабораторных исследований за эпидемиологический сезон (эпидсезон) 2007-2008 годов можно сделать выводы, что низкие показатели заболеваемости ОРВИ и гриппом связаны с интенсивной циркуляцией вирусов гриппа В, который был преобладающим этиологическим агентом и в предыдущий эпидсезон 2006-2007 годов (27-75 % из 36 штаммов). Таким образом, имевшая место незначительного подъема заболеваемости гриппом в целом по республике была обусловлена, в основном, циркуляцией вируса гриппа типа В (38,2 %). Циркулировали также вирусы гриппа А (H1N1) и А (H3N2) – 11 и 2 штамма, соответственно. За анализируемый эпидсезон летальных случаев от гриппа и ОРВИ зарегистрировано не было.

Кроме того в процессе эпизоотологического мониторинга в разных областях Республики Казахстан (РК) с помощью РТГА были выявлены антитела против вируса гриппа А/H1N1. Из исследованных 343 проб сывороток крови, взятых от свиней серопозитивных к вирусу гриппа А/H1N1 было выявлено 96 проб. А из исследованных 120 проб сывороток крови, взятых от птиц серопозитивных к вирусу гриппа А/H1N1 было выявлено 35 проб.

Ключевые слова: эпидемиологический мониторинг, эпизоотологический мониторинг, грипп, реакция гемагглютинации (РГА), реакция торможения гемагглютинации (РТГА), штамм.

Г.Д. Наханова, Ж. Кыдырбаев, М.Б. Орынбаев, С.Ш. Нурабаев, Ж.К. Кошеметов

«Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ШЖК РМК ҚР БҒМ ҒК,
Жамбыл облысы, Қордай ауданы, Гвардейский құк, Қазақстан

КАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ АУМАҒЫНДА ТҰМАУ БОЙЫНША ЭПИДЕМИОЛОГИЯЛЫҚ ЖӘНЕ ЭПИЗООТОЛОГИЯЛЫҚ МОНИТОРИНГ

Аннотация. Жіті респираторлық вирустық инфекциялар (ЖРВИ) мен тұмаудың эпидүдерісінің қарқындылығына жүргізілген талдауды, сондай-ақ 2007-2008 жж.эпидмаусымдағы зертханалық зерттеулердің нәтижелерін ескере отырып, ЖРВИ мен тұмаумен сырқаттанушылықтың төмен көрсеткіштері этиологиялық агентпен және 2006-2007 жылдары алдыңғы эпидмаусымда (36 штаммдардың 27-75 %-ы) басым болған В тұмауы вирустарының қарқынды айналымымен байланысты деп қорытынды жасауға болады.

Осылайша, республика бойынша тұтастай алғанда тұмаумен сырқаттанушылар санының аздап көтерілудің орын алғаны, негізінен В типті тұмау вирусының айналымымен (38,2 %) байланысты болды.

Сондай-ақ тұмаудың вирусының А (H1N1) және А (H3N2)-11 және 2 штаммдары айналыста болды. Талданып отырған эпидемиялық маусымда тұмау мен ЖРВИ-дан өлім жағдайлары тіркелген жоқ.

Бұдан басқа, Қазақстан Республикасының облыстарында эпизоотологиялық мониторинг барысында ГАТР көмегімен А/H1N1 тұмауы вирусына қарсы антиденелер анықталды.

Зерттелген 343 шошқа қан сарысуы сынамаларынан А/H1N1 тұмауы вирусына серопозитивті антидене 96-нан анықталды. Сонымен қатар зерттелген 120 құс қан сарысу сынамаларынан 35-нен А / H1N1 тұмауы вирусына серопозитивті антидене анықталды.

Түйін сөздер: эпидемиологиялық мониторинг, эпизоотологиялық мониторинг, тұмау, гемагглютинация реакциясы (ГАР), гемагглютинацияның тежеу реакциясы (ГАТР), штамм.

G.D. Nahanova, Zh. Kydyrbayev, M.B. Orynbayev, S.Sh. Nurabayev, Zh.K. Koshemetov

Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan Science Committee «Research Institute for Biological Safety Problems», Zhambyl region, Kordai district, Gvardeiskiy village, Kazakhstan

EPIDEMIOLOGY AND EPIZOOTOLOGICAL MONITORING ON FLU ON TERRITORY OF REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

Abstract. Taking into account the analysis of the intensity of the SARS and flu epidemic process, as well as the results of laboratory studies for the 2007-2008 epidemiological season, it can be concluded that the low incidence of SARS and flu is associated with the intensive circulation of influenza B viruses, which was the prevailing etiological agent in the previous 2006-2007 epideseason (27-75 % of 36 strains). Thus, the slight increase in the incidence of influenza in the Republic as a whole was mainly due to the circulation of type B influenza virus (38.2 %). Influenza viruses A (H1N1) and A (H3N2) – 11 and 2 strains, respectively, were also circulating. During the analyzed epidemic season, there were no deaths from influenza and SARS.

In addition, during epizootological monitoring, antibodies against the influenza A/H1N1 virus were detected using rta in different regions of the Republic of Kazakhstan. Of the studied 343 samples of blood sera taken from pigs seropositive to the influenza A/H1N1 virus, 96 samples were detected. And out of the studied 120 samples of blood sera taken from birds seropositive to the influenza A/H1N1 virus, 35 samples were detected.

Key words: epidemiological monitoring, influenza, hemagglutination reaction (WGA) reaction of inhibition of hemagglutination (HAI), strain.

Введение. Высокопатогенный грипп (*highly pathogenic influenza*) – острая высококонтагиозная вирусная болезнь, поражающая людей, животных и представителей куриных [1-8]. Характеризуется у больных общим угнетением, отеками, поражением органов дыхания и пищеварения и высокой смертностью. Возбудителем болезни является вирус гриппа типа А, семейства ортомиксовирусов, имеющий подтиповые варианты, которые устанавливаются двумя наружными белками – гемагглютинином (Н1-Н16) и нейраминидазой (N1-N10) [9-11]. Геном возбудителя способен мутировать, в результате чего может повысить свою патогенность и приобрести эпидемиологическую опасность. Штаммы высокопатогенного гриппа животных и птиц патогены и для человека.

Высокопатогенный грипп характеризуется следующими клиническими признаками: повышенное слезотечение, затрудненное дыхание. Источником инфекции являются больные люди, животные и птицы, с экскретами и секретами которых выделяется большое количество активного вируса. Заражение происходит аэрогенно, алиментарно и трансвариально. Наибольшую опасность представляет грипп типа А, который поражает человека, животных и птиц. Как известно этот тип вируса гриппа и его подтипы многократно вызывали пандемии, которые уносили миллионы жизней людей [12].

Грипп является одним из самых распространенных во всем мире заболеваний. Вспышки эпидемии гриппа фиксируются ежегодно, пандемии повторяются через каждые 20-70 лет. Основными из высокопатогенных подтипов вируса гриппа типа А для людей и всех видов птиц в настоящее время считаются H5N1 и H1N1.

В 1997 году в Гонконге, вирус гриппа А/H5N1 инфицировал как кур, так и людей. Это был первый случай, когда обнаружилось, что вирус птичьего гриппа может напрямую передаваться от птиц человеку. Для ликвидации источника вируса было уничтожено 1,5 миллиона кур.

В настоящее время кроме птичьего гриппа H5N1 пандемия свиного гриппа H1N1 охватили многие страны азиатского, европейского и американского континента.

Целью данных исследований являются эпидемиологический/эпизоотологический мониторинг распространения и изучение динамики заболеваемости гриппом в мире и на территории РК.

Работа проведена в рамках проекта: «Эпидемиологический мониторинг гриппа на территории Республики Казахстан».

Материалы и методы исследований. Все экспериментальные работы с возбудителем вируса гриппа проводили в соответствии с санитарно-эпидемиологическими правилами и нормами «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству и условиям работы микробиологических, вирусологических и паразитологических лабораторий» №8 от 01.01.04 года, утвержденными приказом Министра здравоохранения РК №63 от 21 января 2004 года.

Вирус

- рекомбинантный штамм NIBRG-121 хр (H1N1) вируса гриппа А с биологической и гемагглютинирующей активностями 9,00 lg ЭИД₅₀/см³ и 1:512, соответственно.

Животные

- петухи в возрасте 6-7 месяцев.

Исследуемые материалы

При постановке методов РГА, РТГА для идентификации и типирования вируса гриппа в качестве исследуемых использовали сыворотки крови свиней и птиц, отобранных из разных регионов РК.

Диагностические препараты

- антиген диагностический гриппозный для РТГА, сухой, тип (субтип) вируса А (H2N2), производства ООО «ППДП» г. Санкт-Петербург (РФ);

- антиген диагностический гриппозный для РТГА, сухой, тип (субтип) вируса А (H3N2), производства ООО «ППДП» г. Санкт-Петербург (РФ);

- антиген диагностический гриппозный для РТГА, сухой, тип (субтип) вируса А (H7N1), производства НИИПББ;

- антиген диагностический гриппозный для РТГА, сухой, тип (субтип) вируса А (H5N1), производства НИИПББ;

- сыворотка диагностическая гриппозная для РТГА, сухая, тип (субтип) вируса А (H2N2), производства ООО «ППДП» г. Санкт-Петербург (РФ);

- сыворотка диагностическая гриппозная для РТГА, сухая, тип (субтип) вируса А (H3N2), производства ООО «ППДП» г. Санкт-Петербург (РФ);

- сыворотка диагностическая гриппозная для РТГА, сухая, тип (субтип) вируса А (H1N1), производства НИИПББ;

- сыворотка диагностическая гриппозная для РТГА, сухая, тип (субтип) вируса А (H7N1), производства НИИПББ;

- сыворотка диагностическая гриппозная для РТГА, сухая, тип (субтип) вируса А (H5N1), производства НИИПББ.

Реактивы и растворы

В работе использовали следующие растворы:

0,15М раствор NaCl: в мерную колбу вносили 8,5 г хлористого натрия и доводили бидистиллированной водой до 1 л.

0,1 М фосфатно-буферный раствор (ФБР), pH 7,2-7,4: растворяли $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,2 г, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$ – 2,9 г, NaCl – 8,0 г в 1 л бидистиллированной воды и подводили pH до 7,2-7,4.

0,1 М фосфатно-солевой буферный раствор (ФСБ), pH 7,2-7,4: растворяли $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 12\text{H}_2\text{O}$ - 1,2470 г, KH_2PO_4 - 0,4084 г, KCl - 0,2 г, NaCl - 8,0 г в 1 л бидистиллированной воды и подводили pH до 7,2-7,4.

Лабораторное оборудование и расходные материалы

- ламинарный шкаф 2 класса биологической безопасности фирмы Baker (США);

- термостат с водяной рубашкой ТС-1/20 СПУ (Россия);

- микроцентрифуга MiniSpin фирмы «Eppendorf» (Германия);

- автоматические одно - и восьмиканальные микропипетки на 1-5, 100-1000, 50-300, 20-200, 10-100 и 0,5-10 мкл фирмы «Eppendorf» (Германия) и «Ленпипет» (РФ);

- мешки полиэтиленовые для биоотходов;

- респиратор N99;

- защитные очки;

- хирургический халат с тесемками сзади;

- одноразовые перчатки;

- бахилы;

- наконечники с фильтром для автоматических пипеток.

Методы

Приготовление 0,5 %-ной взвеси эритроцитов петуха

Кровь брали у петуха из подкрыльцовой вены. В качестве антикоагулянтов использовали раствор гепарина производства «Каунасский завод эндокринных препаратов» (Латвия) из расчета 0,2 см³ на 100 см³. Для получения суспензии эритроцитов их за 2-4 часа до использования отмывали 0,85 % физиологическим раствором хлористого натрия. Обработку повторяли 3-4 раза, каждый раз осаждая эритроциты центрифугированием по 15 мин при 1200 об/мин (4 °С). После последнего отмывания надосадочная жидкость должна быть бесцветна и прозрачна. Из осадка эритроцитов, который принимается за 100 %-ный, готовили 0,5 % на физиологическом растворе хлористого натрия. Для получения 0,5 %-ной суспензии надо смешать одну часть осадка эритроцитов с 200 частями физиологического раствора.

Реакция гемагглютинации

Индикацию гемагглютинирующего агента и установление его активности в различных образцах биологического происхождения осуществляли микрометодом РГА в 96-луночных планшетах с V-образным

дном для иммунологических исследований фирмы «Costar» (США) согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) [13]. В реакции использовали 0,5 %-ную взвесь эритроцитов петуха.

Реакция торможения гемагглютинации

Идентификацию и субтипирование вируса гриппа А/Н1N1 по НА в различных образцах биологического происхождения проводили микрометодом РТГА в 96-луночных планшетах с V-образным дном для иммунологических исследований фирмы «Costar» (США) согласно рекомендациям ВОЗ [13]. Перед постановкой РТГА исследуемые сыворотки обрабатывали рецептор-разрушающим ферментом (RDE) фирмы «Seiken» (Япония) в течение 18 час при 37 °С, затем прогревали при 56 °С в течение 1 ч для инактивирования термолабильных ингибиторов.

Результаты исследований. Были проведены эпидемиологический/эпизоотологический мониторинг на территории Республики Казахстан среди людей, животных и птиц в период с 2006 по 2008 годы.

В ходе мониторинга 07 сентября 2006 года из разных регионах РК было обследовано 4269 больных людей на ОРВИ. Всего вирусологическим методом на клеточной культуре MDCK изолировано 5 штаммов гриппа.

Серологическим методом также не доказана доминирующая роль одного из типов вируса гриппа. Обследовано 4122 больных с диагнозом ОРВИ, сероконверсий выявлено к гриппу А (Н1N1) – 39,4 %, к гриппу А (Н3N2) – 29,9 %, к гриппу В – 31,5 %.

По результатам серологических исследований не было данных для прогнозирования вспышки гриппа в осенне-зимний сезон 2006-2007 годов. Удельный вес серонегативных лиц среди взрослых не превышал 3-18 % к гриппу А, 4-8 % к гриппу А₃, 4-7 % к гриппу В.

В целом по республике в 2007 году с целью выделения штаммов гриппа исследовано 3580 проб от больных, изолировано 39 штаммов. В структуре гриппа превалировал вирус типа В – 26 штаммов (66,6 %). Циркулировали также вирусы гриппа А (Н1N1) и А (Н3N2) – 11 и 2 штамма, соответственно.

Если в 2006 году вирусологическими методами Костанайской области не удалось выделить ни одного штамма, то в 2007 г. было изолировано 8.

Результативной была работа в Актюбинской области, где было выделено 7 штаммов. Также были выделены штаммы гриппа из Северо-Казахстанской области – 2, Павлодарской – 2, Западно-Казахстанской – 2, г. Алматы – 2, г. Астана – 2.

При исследовании 4790 сывороток крови от больных было выявлено 1096 серопозитивных, у 420 из них обнаружены антитела к вирусу гриппа типа А (Н1N1) – 38,3 %, у 360 – А (Н3N2) – 32,8 %, у 316 – 28,8 %.

В Восточно-Казахстанской области за 2007 год обследовано 1200 взрослых и 200 детей на содержание противогриппозных антител. Результаты серологического обследования показали, что население имеет довольно высокие титры ко всем 3 типам вируса гриппа, к вирусу гриппа А (Н1N1), удельный вес серонегативных оказался большее 10,3 %, тогда как к А (Н3N2) и типу В – 7,9 % и 2,5 %, соответственно. Удельный вес детей, серонегативных к гриппу А (Н1N1) составил 37,5 %.

Аналогичная картина наблюдалась и в 2-х других областях Актюбинской и Северо-Казахстанской. Так, при исследовании 1200 человек взрослого населения неиммунных лиц к вирусу А (Н1N1) было зарегистрировано в Актюбинской области – 77 %, в Северо-Казахстанской – 25,4 % от числа обследованных.

В Карагандинской области обследовано 850 человек, в том числе 50 детей. При этом удельный вес лиц, серонегативных к гриппу А (Н3N2) составило 26,3 %, А (Н1N1) – 8,5 % и В – 4,4 %.

В Павлодарской области при обследовании 221 здорового лица обнаружено, что основная часть обследованных лиц является серопозитивными ко всем трем типам вируса гриппа. Структура серонегативных лиц выглядит следующим образом: к А (Н1N1) – 3,6 %; А (Н3N2) – 0,9 %; В – 1,3 %.

Удельный вес серонегативных лиц в Восточно-Казахстанской области среди взрослого населения составил к вирусу гриппа А (Н1N1) – 44,3 %, А (Н3N2) – 3,8 %, В – 9 %, среди детского населения А (Н1N1) – 59 %, А (Н3N2) – 8,5 %, В – 22,5 %. Преобладание удельного веса серонегативных лиц к А (Н1N1) наблюдалось и в г. Алматы А (Н1N1) – 23 %, А (Н3N2) – 14 %, В – 15 %. Однако, в Карагандинской области при обследовании среди детей отмечен высокий удельный вес серонегативных лиц ко всем типам вируса гриппа А1 – 49 %, А3 – 36 %, В – 59 %. Удельный вес серонегативных лиц среди взрослых не превышал 3-18 % к гриппу А1, 4-8 % к гриппу А3, 4-7 % к гриппу В.

В республике за эпидемиологический сезон 2007-2008 годы в сравнении с аналогичным эпидемиологическим сезоном 2006-2007 годов отмечено снижение заболеваемости гриппом в 10 раз и ОРВИ на 16,0 %. Так, всего зарегистрировано 914284 случая ОРВИ + гриппа, с показателем заболеваемости 5745,2; среди детей до 14 лет заболело 628938, что составляет 68,8 %.

Сводные данные по заболеваемости ОРВИ и гриппом за эпидемиологический сезон 2007-2008 годы представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Сводные данные по заболеваемости ОРВИ и гриппом за эпидемиологический сезон 2007-2008 годы

Территория (область)	ОРВИ+ грипп	В том числе детей	Дети от 0-2 лет	Дети 3-6 лет	Дети 7-14 лет	Госпитализировано	Заболело гриппом	В том числе детей	Умерло
Акмолинская	47117 (61458)	30724 (65.1%)	8009 (26.1%)	8848 (28.8%)	13867 (45.1%)	931 (2%)	26 (0.1%)	8 (30.8%)	0 (-)
Актюбинская	33471 (4592.0)	23131 (69.1%)	6669 (28.4%)	8037 (34.7%)	8525 (36.9%)	274 (0.8%)	39 (0.1%)	9 (23.1%)	0 (-)
Алматинская	44834 (2657.0)	31504 (70.3%)	9208 (29.2%)	9217 (29.3%)	13079 (41.5%)	1040 (2.3%)	37 (0.1%)	3 (8.1%)	0 (-)
Атырауская	18084 (3598.3)	14244 (78,8%)	4856 (4,1%)	4377 (30,7%)	5011 (35,2%)	142 (0,8%)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
Восточно-Казахстанская	123190 (9649)	76941 (62,5%)	19418 (25,2%)	22807 (29,6%)	34718 (45,1%)	3915 (32%)	338 (0,3%)	130 (38,5%)	0 (-)
Жамбылская	25213 (2488)	19265 (75,4%)	6251 (32,4%)	6491 (33,7%)	6523 (33,9%)	516 (2,0%)	5 (0,0%)	2 (40,0%)	0 (-)
Западно-Казахстанская	40912 (7028)	30460 (74,5%)	8674 (28,5%)	9357 (30,7%)	12429 (40,8%)	1354 (3,3%)	27 (0,1%)	3 (18,5%)	0 (-)
Карагандинская	128085 (9227)	82687 (64,6%)	28576 (34,6%)	23534 (28,5%)	30677 (37,0%)	2731 (2,1%)	264 (0,2%)	106 (40,2%)	0 (-)
Кустанайская	6388 (7084)	43178 (67,6%)	12663 (29,3%)	14091 (32,6%)	16424 (38,0%)	1193 (1,9%)	31 (0,0%)	29 (93,5%)	0 (-)
Кызылординская	16745 (2683)	13353 (79,7%)	5220 (39,1)	4057 (30,4%)	4076 (30,5%)	306 (1,8%)	0 (-)	0 (-)	0 (-)
Мангыстауская	30147 (6567)	22178 (73,6%)	9205 (41,5%)	6819 (30,7%)	6154 (27,7%)	1152 (3,8%)	143 (0,5%)	92 (64,3%)	0 (-)
Павлодарская	103657 (13645)	68774 (66,3%)	18968 (27,6%)	19474 (28,3%)	30332 (44,1%)	1282 (12%)	542 (0,5%)	349 (54,4%)	0 (-)
Северо-Казахстанская	33272 (5056)	26974 (81,1%)	5025 (18,6%)	8479 (31,4%)	13470 (49,9%)	176 (0,5%)	4 (0,0%)	1 (25,0%)	0 (-)
Южно-Казахстанская	42019 (1727)	31128 (74,1%)	12655 (40,7%)	10234 (32,9%)	8239 (26,5%)	2607 (6,2%)	49 (0,1%)	38 (77,6%)	0 (-)
г. Алматы	108785 (7724)	79954 (73,5%)	28417 (35,5%)	26597 (33,3%)	24940 (31,2%)	9036 (8,3%)	70 (0,1%)	68 (97,1%)	0 (-)
г. Нур-Султан	54812 (9233)	34443 (62,8%)	13090 (38,0%)	11596 (34,0%)	9657 (28,0%)	1377 (2,5%)	16 (0,0%)	5 (31,2%)	0 (-)
Сводные данные	914284 (57452)	628938 (68,8%)	196804 (31,3%)	194115 (30,9%)	238019 (37,8%)	28032 (3,1%)	1591 (0,2%)	845 (53,1%)	0 (-)

В возрастной структуре заболеваемости ОРВИ и гриппом удельный вес детей до 14 в республике составил 68,8 %. Превышение республиканского показателя заболеваемости среди детей до 14 лет в основном отмечается в регионах с достаточно низким уровнем заболеваемости, что возможно связано с недостаточной обращаемостью взрослого населения за медицинской помощью и низким учетом случаев заболевания в данных регионах: Северо-Казахстанской (81,1 %), Кызылординской (79,7 %), Атырауской (78,8 %), Жамбылской (76,4 %), Южно-Казахстанской (74,1 %), Мангыстауской (73,6 %) областях и в г. Алматы (73,5 %).

Данные, свидетельствуют о том, что в текущем эпидемическом сезоне умеренный подъем заболеваемости ОРВИ и гриппом начался с 46 недели 2007 года, когда было зарегистрировано превышение контрольных уровней заболеваемости на 0,6 %, показатель фактической заболеваемости составил 178,7 при контрольном уровне заболеваемости 177,93, в том числе превышение собственных контрольных уровней было зарегистрировано в Актюбинской – 173,0 (при контрольном уровне 155,4), Кызылординской – 112,4 (106,81), Павлодарской – 426,2 (353,92) областях. В последующем, до конца эпидемического сезона превышение контрольных уровней не наблюдалось. За 11 недель 2008 года при контрольном уровне заболеваемости 248,33, фактическая заболеваемость по республике составляла 246,6. Пик подъема заболеваемости ОРВИ и гриппом за эпидемический сезон приходится на 8 неделю 2008 года, когда был зарегистрирован 64191 случай ОРВИ и гриппа (в том числе 242 случая гриппа), с показателем фактической заболеваемости на 100 тысяч населения 399,0, при контрольном уровне 580,03. При этом, превышение контрольных уровней было зарегистрировано в Карагандинской 694,6 при показателе фактической заболеваемости 659,81, Павлодарской 832,87 и 1574,5 областях и г. Астана 506,12 и 589,5, соответственно.

Результаты исследований по выделению вируса гриппа в эпидемиологическом сезоне 2007-2008 годов представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты исследований по выделению вируса гриппа в эпидемиологический сезон 2007-2008 годов

Территория (область)	Вирусология					Серология					Люминесцентная микроскопия				Негриппозные инфекции				
	Обследовано	Всего выделено	грипп типа			mix	Обследовано	Всего выделено	грипп типа			mix	Обследовано	Всего выделено	грипп типа		mix	Обследовано	Всего выделено
			A3	A1	B				A3	A1	B				A	B			
Акмолинская	30	0	0	0	0	0	242	45	15	12	18	0	243	35	21	14	0	234	22
Актюбинская	306	8	0	0	8	0	762	45	42	0	3	0	627	20	7	13	0	627	212
Алматинская	55	1	0	1	0	0	78	48	7	16	25	0	54	0	0	0	0	0	0
Атырауская	503	0	0	0	0	0	154	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Восточно-Казахстанская	49	0	0	0	0	0	931	334	29	30	252	23	68	12	5	7	0	23	8
Жамбылская	298	1	0	0	1	0	72	3	0	1	2	0	107	0	0	0	0	107	3
Западно-Казахстанская	200	0	0	0	0	0	44	4	3	0	1	0	1768	24	18	6	0	1771	629
Карагандинская	197	0	0	0	0	0	134	27	11	11	5	0	213	5	2	3	0	213	52
Кустанайская	41	0	0	0	0	0	37	2	0	0	2	0	16	0	0	0	0	0	0
Кызылординская	0	0	0	0	0	0	357	0	0	0	0	0	298	0	0	0	0	0	0
Мангыстауская	90	0	0	0	0	0	405	132	115	1	11	5	103	21	19	1	1	100	15
Павлодарская	496	0	0	0	0	0	423	244	99	79	34	32	1381	8	1	2	5	1111	145
Северо-Казахстанская	639	0	0	0	0	0	449	4	0	0	4	0	639	0	0	0	0	639	22
Южно-Казахстанская	321	0	0	0	0	0	380	110	24	22	64	0	0	0	0	0	0	0	0
г. Алматы	566	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	6	0
г. Нур-Султан	246	0	0	0	0	0	210	30	4	17	8	1	154	11	5	6	0	156	51
РСЭС	539	9	0	1	8	0	34	0	0	0	0	0	27	0	0	0	0	0	0
Сводные данные	4676	19	0	2	17	0	4712	1028	349	189	429	61	5704	136	78	52	6	4987	1159

Данные представленные в таблице 2 свидетельствуют о том, что в целом по республике с 5 октября 2007 года по 25 апреля 2008 года вирусологическим методом обследовано более 4676 лиц, изолировано на клеточной культуре МДСК 19 штаммов гриппа с превалированием вируса гриппа типа В – 17 штаммов, гриппа А (H1N1) – 2 штамма. Серологическим методом в РТГА обследовано 4712 лиц, выявлено 1028 сероконверсий к гриппу, из них к типам: В – 429, А (H1N1) – 189, А (H3N2) – 349.

Кроме того проведен мониторинг эпизоотологической ситуации в РК по гриппу А/Н1N1. При проведении мониторинга нами были исследованы сыворотки крови, взятые от птиц и свиней, доставленные из различных областей РК на наличие антител против вируса гриппа А/Н1N1 методом РТГА, постановку которой проводили по разработанным в РГП на ПХВ НИППББ КН МОН РК условиям. Результаты исследований представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Результаты исследования в РТГА сывороток крови свиней с целью выявления антител против вируса гриппа А/Н1N1

Откуда были доставлены сыворотки	К-во исследованных проб	К-во положительных проб	Титр в РТГА положительных проб
Северо-Казахстанская область, ТОО «СБИ-АгроТашкентка»	28	4	1:20-1:80
Кустанайская область, Затобольский район, ТОО «Жанибек»	30	7	1:20-1:40
Павлодарская область, Баянаульский район, ТОО «Биржан Сал степняк»	28	4	1:20-1:40
Акмолинская область, Шортандинский район, ТОО «Арал-Тобе»	30	9	1:20-1:80
Карагандинская область, ТОО «Лоскей»	30	3	1:20-1:40
Северо-Казахстанская область, ТОО «Совет СК»	30	4	1:20-1:40
Кустанайская область, Затобольский район, ТОО «Актилек»	10	1	1:20
Акмолинская область, Шортандинский район, Новоивановский свинокомплекс	5	4	1:40-1:80
Кокчетавская область, ИП «Гоцакий»	30	25	1:20-1:320
Актюбинская область, Алгинский район, село Бестомак, ТОО «Парижская Коммуна»	22	5	1:10-1:320
Актюбинская область, Каратауско-Мартукский район, ТОО «Кабасов-А»	18	2	1:10-1:20
Актюбинская область, поселок Ясный, ТОО «Рамазан»	30	-	-
Павлодарская область	29	12	1:20-1:320
Кустанайская область, Затобольский район, ТОО «Агро-Торо»	30	16	1:20-1:320

Результаты исследований сывороток крови птиц представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Результаты исследования в РТГА сывороток крови птиц с целью выявления антител против вируса гриппа А/Н1N1

Откуда были доставлены сыворотки	К-во исследованных проб	К-во положительных проб	Титр в РТГА положительных проб
г. Кустанай, ТОО «Север птица» птицефабрика «Дружба»	30	18	1:20-1:40
Павлодарская область, ТОО «Биржан Сал степняк»	30	4	1:20-1:40
Карагандинская область, птицефабрика «Ботанара»	30	5	1:40-1:80
Актюбинская область, поселок Ясный, ТОО «Рамазан» птицефабрика	30	8	1:20-1:40

Как видно из результатов, представленных в таблицах 3 и 4, в исследуемых сыворотках крови, взятых от свиней и птиц, доставленных из различных областей РК с целью проведения мониторинга эпизоотической ситуации в РТГА были выявлены антитела против вируса гриппа А/Н1N1 в титрах от 1:20-1:320 и от 1:20-1:80, соответственно. Из исследованных 343 проб сывороток крови, взятых от свиней серопозитивных к вирусу гриппа А/Н1N1 было выявлено 96 проб. Из исследованных 120 проб сывороток крови, взятых от птиц серопозитивных к вирусу гриппа А/Н1N1 было выявлено 35 проб. Уровень антител к вирусу гриппа А/Н1N1, выявленный нами в сыворотках крови свиней методом РТГА свидетельствует о переболевании данных животных вышеназванной инфекцией.

Заключение. Учитывая актуальность гриппа, как наиболее важного заболевания в инфекционной патологии человека для здравоохранения РК проведен анализ эпидемиологической ситуации по данной инфекции в Казахстане.

Следует отметить, что за 2006 год удельный вес положительных результатов остался на уровне предыдущего эпидсезона составил 1,4 %, что объясняется тем, что заболеваемость гриппом в эпидсезон 2005-2006 годов была на низком уровне.

Анализ полученных эпидемиологических данных свидетельствует о том, что в РК за эпидсезон 2007-2008 годы заболеваемость гриппом и ОРВИ в сравнении с аналогичным эпидсезоном 2006-2007 годов идёт на снижение по гриппу в 10 раз и ОРВИ на 16,0 %.

С октября 2007 года по апрель 2008 года вирусологическим методом на клеточной культуре MDCK обследовано более 4676 лиц, изолировано 19 штаммов гриппа с превалированием вируса гриппа типа В – 17 штаммов, грипп А (Н1N1) – 2 штамма. Серологическим методом в РТГА обследовано 4712 лица, выявлено 1028 сероконверсий к гриппу, из них к типу В – 429, А (Н1N1) – 189 и А (Н3N2) – 349.

Проведены мониторинговые исследования эпизоотической ситуации в РК по гриппу А/Н1N1, в ходе которых были исследованы сыворотки крови, взятые от свиней и птиц, доставленные из различных областей республики на наличие антител к данному возбудителю методом РТГА. В результате, было установлено, что как у свиней, так и у птиц были выявлены антитела против данной инфекции в титрах, составивших 1:20-1:320 и 1:20-1:80, соответственно. Однако, уровень антител, выявленный в сыворотках крови свиней, свидетельствует о переболевании данных животных вышеназванной инфекцией.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Глобальный план ВОЗ по подготовке к борьбе с гриппом (WHO/CDS/CSR/GIP/2005.5.). - 49 с. (пер. с англ.).
- 2 Карпунин Г.И. Грипп. Руководство для врачей. - СПб.:Гиппократ, 2001. - 360 с.
- 3 Лагуткин Н. Непредсказуемость гриппа. Птицеводство. - 2001. – N 6. - С. 27-30.
- 4 Грипп птиц: происхождение инфекционных биокатастроф / Под ред. В.И. Покровского. - СПб.:Росток, 2005. - 269 с.
- 5 Дудников Н.С. и др. Грипп, обзор литературы. – Владимир, 2005. - 58 с.
- 6 Боев Б.В., Макаров В.В. Ветеринарная патология. - 2005. – N 3. - С. 49-58.
- 7 Ковалева Е.П. Птичий грипп. Эпидемиология и принципы профилактики // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. - 2006. - N 6. - С. 5-7.
- 8 Голубев Д.Б. Вирус птичьего гриппа и будущая пандемия // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. - 2007. – N 2. - С. 9-14.
- 9 Бакулов И.А. К вопросу об эпизоотологической классификации инфекционных болезней // Вопросы ветеринарной вирусологии, микробиологии и эпизоотологии. Тезисы докладов научной конференции ВНИИВВиМ. – Покров, 1985. - С.6-9.

10 Грипп и другие вирусные респираторные инфекции: эпидемиология, профилактика, диагностика и терапия (под ред. О.И. Киселева, А.А. Сомининой, И.Г. Маринича). - М.: «Боргес», 2003. - 244 с.

11 Swayne D.E., Perdue M.L., Garcia M., Rivera-Cruz E., Brugh M. Pathogenicity and diagnosis of H5N2 Mexican avian influenza viruses in chickens // Avian Dis. – 1997. – Vol. 41 (2). – P. 335-46.

12 Кузнецов О.К., Киселев О.И. Вирус гриппа с пандемическими потенциями и меры по предотвращению его появления // Медицинский академический журнал. - 2003. - N 2. - С. 112-121.

13 WHO. Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance, 5 Rev. 1. - 2002. - 94 p.

УДК 619:576.807.7

**М.К. Сармыкова, Б.А. Еспембетов, Н.Н. Зинина, Е.Б. Серикбай,
С.С. Исабеков, И.А. Ахажанова, Е.О. Абдураимов, К.Д. Закарья**

РГП на ПХВ «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», КН МОН РК
Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, Казахстан
E-mail: ribsp@biosafety.kz

СТАБИЛЬНОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭПИЗОТИЧЕСКИХ КУЛЬТУР БРУЦЕЛЛ ПОСЛЕ ЛИОФИЛИЗАЦИИ

Аннотация. Проведена работа по изучению сохранности культурально-морфологических, биологических и биохимических свойств после лиофилизации эпизоотических штаммов *B.abortus* 0001/Н, *B.melitensis* 0003/Н, *B.abortus* 0006/В и *B.abortus* 0009/Х, выделенных ранее по НИР. По результатам исследований ферментативных, агглютинабельных и биохимических свойств исследуемых штаммов установлено, что все эпизоотологические штаммы соответствуют своим исходным паспортным свойствам.

Ключевые слова: бруцеллез, эпизоотический штамм, биологические свойства.

**М.К. Сармыкова, Б.А. Еспембетов, Н.Н. Зинина, Е.Б. Серикбай,
С.С. Исабеков, И.А. Ахажанова, Е.О. Абдураимов, К.Д. Закарья**

«Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» ШЖК РМК ҚР БҒМ ҒК,
Жамбыл облысы, Қордай ауданы, Гвардейский қалашығы, Қазақстан

ЭПИЗОТИЯЛЫҚ БРУЦЕЛЛА ӨСІНДІЛЕРІНІҢ ЛИОФИЛИЗАЦИЯДАН КЕЙІНГІ БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІНІҢ ТҰРАҚТЫЛЫҒЫ

Аннотация. Ілгеріде жүргізілген ҒЗЖ барысында бөлінген *B.abortus* 0001/Н, *B.melitensis* 0003/Н, *B.abortus* 0006/В және *B.abortus* 0009/Х эпизоотиялық штамдарының лиофилизацияланғаннан кейін культуральды-морфологиялық, биологиялық және биохимиялық қасиеттерінің сақталуын зерттеу бойынша жұмыс жүргізілді. Зерттелетін штамдардың ферментативті, агглютинабельді және биохимиялық қасиеттерін зерттеу нәтижелері бойынша барлық эпизоотологиялық штамдардың бастапқы қасиеттеріне сәйкес келетіні анықталды.

Түйін сөздер: бруцеллез, эпизоотиялық штамм, биологиялық қасиеттері.

**M.K. Sarmykova, B.A. Yespembetov, N.N. Zinina, S.S. Isabekov,
Ye.B. Serikbay, I.A. Akhazhanova, E.O. Abduraimov, K.D. Zakarya**

Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan Science Committee «Research Institute for
Biological Safety Problems»,
Zhambyl region, Kordai district, Gvardeiskiy village, Kazakhstan

STABILITY OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF EPIZOOTIC BRUCELLA CULTURES AFTER LYOPHILIZATION

Abstract. The work was carried out to study the preservation of cultural-morphological, biological and biochemical properties after lyophilization of epizootic strains *B. abortus* 0001/Н, *B.melitensis* 0003/Н, *B. abortus* 0006/В and *B. abortus* 0009/Х, previously isolated by research. Based on the results of studies of the enzymatic, agglutinable and biochemical properties of the studied strains, it was found that all epizootological strains correspond to their original properties.

Key words: brucellosis, epizootic strain, biological properties.

Введение. Бруцеллез сельскохозяйственных животных – широко распространенная в недавнем прошлом инфекция, однако продолжающая оставаться актуальной проблемой ветеринарной науки и практики по сей день [1, 2, 3].

По различиям некоторых биологических свойств и способности паразитировать преимущественно в организме определенных видов животных (главным образом по эпизоотологическим и эпидемиологическим признакам) род «*Brucella*» подразделён на 6 видов: *B. melitensis*, *B. abortus*, *B. suis*, *B. neotome*, *B. ovis*, *B. canis* [4]. Высокий уровень летальности при тяжелых генерализованных формах этой инфекции у человека и значительные экономические потери при заболевании животных требует постоянного контроля эпизоотической ситуации [5].

Проблема бруцеллеза в Казахстане в последние годы остается одной из наиболее актуальных в отношении зоонозных инфекций. После снижения заболеваемости в 2004-2007 годах, в 2008 году вновь отмечен рост заболеваемости [6, 7].

В рамках совершенствования эпидемиологического и эпизоотологического надзора представляет интерес изучения фено-генотипов циркулирующих штаммов бруцелл. Проводя эту работу постоянно, можно достоверно установить источники инфекции и оценить эффективность проводимых мероприятий [8, 9].

В 2012-2014 годы в РГП НИИПББ КН МОН РК были проведены научные исследования по научно-технической программе «Мониторинг эпизоотической ситуации бруцеллеза крупного рогатого скота в Республике Казахстан. Разработка средств диагностики и профилактики», целью которого являлось изучения эпизоотолого-эпизоотической ситуации по бруцеллезу в Республике Казахстан. Для этого были выбраны несколько областей, как территории с наибольшей заболеваемостью бруцеллезом.

В результате проведенных исследований были выделены более пятидесяти эпизоотических культур бруцелл (*B. abortus* и *B. melitensis*) и изучены их морфологические, биологические и генетические свойства, что в будущем может послужить кандидатами для создания профилактических и диагностических препаратов.

Одним из важнейших противобруцеллезных мероприятий является диагностика болезни. Поддержание сохранности и освежение актуальных эпизоотических штаммов, сохраняя исходных свойств, является очень важным процессом для создания новых и эффективных вакцин и диагностикумов [10], что способствует обеспечению благополучия Республики Казахстан по данному особо опасному зооантропонозному заболеванию.

В связи с этим целью настоящей работы являлось определение сохранности биологических свойств (ферментативные, агглютинабельные, биологические и биохимические) эпизоотических бруцеллезных штаммов *B. abortus* 0001/Н, *B. melitensis* 0003/Н, *B. abortus* 0006/В и *B. abortus* 0009/Х после лиофилизации.

Материалы и методы исследования. Идентификацию и дифференциацию видов и биоваров бруцелл проводили по методике и схеме ФАО/ВОЗ, утвержденной подкомитетом по таксономии бруцелл Международного комитета экспертов [11].

Для изучения биологических свойств брали следующие эпизоотические штаммы бруцелл: *B. abortus* 0001/Н (биовар 3), *B. melitensis* 0003/Н (биовар 1), *B. abortus* 0006/В (биовар 3), *B. abortus* 0009/Х (R-форма). Для контроля использовали эталонные штаммы *B. abortus* 544, *B. melitensis* 16 М и *B. canis* 1066.

Была проведена проверка условий хранения штаммов возбудителей бруцеллеза, пересчет количества ампул с лиофилизированной микробной массой. При этом обращали внимание на целостность ампул и сохранность этикеток.

Культивирование бруцелл проводили с использованием твердую питательную среду *Brucella Agar Base* и жидкую *Brucella Broth Base*.

Взятые для изучения ампулы с возбудителями бруцеллеза вскрывали, суспендировали содержимое в 1 мл бульоне *Brucella Broth Base* и проводили посев в пробирки с агаром *Brucella Agar Base*.

Для определения соответствия свойств бруцелл паспортным данным использовали 2-х суточные культуры бруцелл 2 и 3 генерации.

Морфологические и тинкториальные свойства исследуемых культур определяли микроскопическим путем окрашивания мазков по Граму, с помощью 4-х шагового набора – BD Gram Stain Kit.

Для идентификации изучаемых культур на уровне рода исследовали ферментативные свойства помощью пипетки *Difco BD* с реактивом каталазы и оксидазы.

Штаммы возбудителя бруцеллеза проверяли на диссоциацию в реакции агглютинации на стекле со специфическими сыворотками, термоагглютинацией, пробой с акрифлавином и методом Уайт-Вилсона.

Для проверки видоспецифических признаков штаммов бруцелл были проведены посевы на питательные среды с анилиновыми красителями: фуксином (в разведении 1:50 тыс; 1:100 тыс) и тионином (1:25 тыс; 1:50 тыс; 1:100 тыс).

Основные результаты исследований. При проверке условий хранения штаммов возбудителей бруцеллеза, было установлено сохранность, целостность ампул и хранятся в металлических контейнерах в холодильниках при температуре плюс 4-6 °С.

Посев и инкубирование ростового материала в чашках Петри и биологических пробирках проводили при температуре 37,5 °С. При этом рост культур наблюдались через 2 суток (рисунок 1).



1а



1б

Рисунок 1 – Рост бруцелл на питательных средах *Brucella Agar Base* (рисунок 1а) и *Brucella Broth Base* (рисунок 1б)

Как видно на рисунке 1а, рост бруцелл на бульонной среде *Brucella Broth Base* выражается с образованием равномерной мути и пристеночного голубого кольца, что характерно только для бруцелл [11]. Также у культур бруцелл на твердой среде *Brucella Agar Base* наблюдается рост в виде бесцветных выпуклых, с гладкой блестящей поверхностью колоний, напоминающие капельки росы (рисунок 1б).

Из литературных данных известно, что бруцеллы окрашиваются сафранином в красный цвет, так как являются грамм отрицательными [12], что и наблюдалось при окраске по Граму (рисунок 2).



Мазок из чистой культуры *B. abortus* 0006/V
Рисунок 2 – Окраска бруцелл по Граму

Как видно на рисунке, при микроскопировании мазков исследуемых культур наблюдали следующее – мелкие бактерии, палочковидной или овоидной формы, неподвижны, спор не имели. Грамотрицательны. В мазке располагались беспорядочно.

Далее определили стабильность ферментативных свойств эпизоотических бруцеллезных штаммов. Как известно из литературных источников бруцеллы образуют каталазу, обычно оксидазу (кроме *B. ovis* и *B. neotomae*) [13]. Результаты исследования подтвердили принадлежность культур *B. abortus* 0001/Н, *B. melitensis* 0003/Н, *B. abortus* 0006/В и *B. abortus* 0009/Х к бруцеллам, так как обладали каталазной и оксидазной активностью. При взаимодействии с ферментом каталазы немедленно

давали бурное длительное выделение пузырьков, а с оксидазой – синее окрашивание бактериальной массы.

Для дифференциации S-форм и R-форм исследуемые колонии бруцеллезных штаммов проверяли на диссоциацию в реакции агглютинации на стекле со специфическими сыворотками, термоагглютинацией, пробой с акрифлавином и методом Уайт-Вилсона.

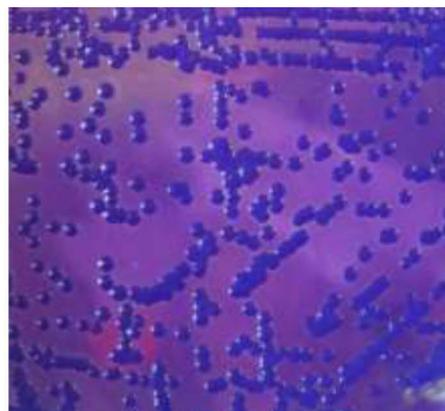
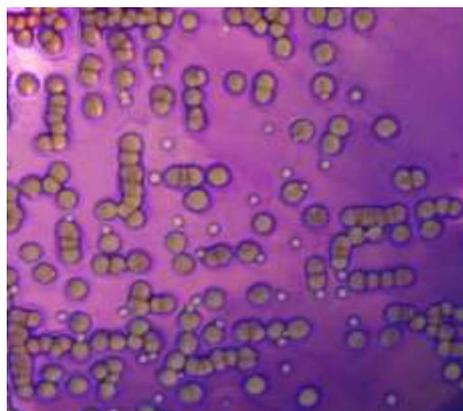
Таблице 1 – Результаты дифференциации культур бруцелл

Наименование штамма	РА на стекле		Проба с акрифлавином	Термо-агглютинация	Уайт-Вилсона	Рост на средах с красками				
	S-сыворотка	R-сыворотка				фуксин		тионин		
						1:50 000	1:100 000	1:25 000	1:50 000	1:100 000
Эпизоотические штаммы:										
<i>B. abortus</i> 0001/Н	+	-	-	-	S	+	+	+	+	+
<i>B. melitensis</i> 0003/Н	+	-	-	-	S	+	+	-	+	+
<i>B. abortus</i> 0006/В	+	-	-	-	S	+	+	+	+	+
<i>B. abortus</i> 0009/Х	-	+	+	+	R	+	+	+	+	+
Эталонные (контрольные) штаммы:										
<i>B. abortus</i> 544	+	-	-	-	S	+	+	-	-	-
<i>B. melitensis</i> 16 М	+	-	-	-	S	+	+	-	+	+
<i>B. canis</i> 1066	-	+	+	+	R	-	-	+	+	+

Согласно данным по таблице, проведенные тесты показали следующие результаты:

По результату реакции агглютинаций на стекле, культуры *B. abortus* 0001/Н, *B. melitensis* 0003/Н, *B. abortus* 0006/В были положительно с S-сывороткой – агглютинация с образованием хорошо выраженных хлопьев, тогда как штамм *B. abortus* 0009/Х агглютинировался с R-сывороткой, что подтверждает исходные свойства штаммов.

При постановке теста по Уайт-Вилсона колонии *B. abortus* 0001/Н, *B. melitensis* 0003/Н, *B. abortus* 0006/В имели светло-желтый оттенок в центре с тонким фиолетовым ободком, это доказывает, что данные культуры находятся в S-форме. Колонии эпизоотического штамма *B. abortus* 0009/Х окрасились в различные оттенки синего и фиолетового цвета, что присуще диссоцианту [13]. Полученные результаты свидетельствуют о стабильности свойств эпизоотических штаммов.

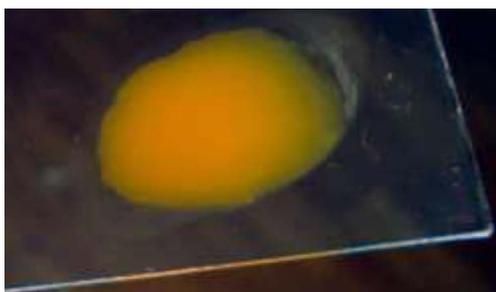


Колонии штамма в S- форме

Колонии штамма в R - форме

Рисунок 3 – Окрасивание колонии по Уайт-Вилсону

Следующим шагом дифференциации культур был тест с акрифлавином на стекле (рисунок 4).



Отрицательная реакция – S-форма

Положительная реакция – R-форма

Рисунок 4 – Тест с акрифлавином

Как видно из рисунка 4, эпизоотические культуры *B. abortus* 0001/Н, *B. melitensis* 0003/Н, *B. abortus* 0006/В при постановке теста не агглютинировались с реагентом и оставались гомогенными (S-форма), тогда как штамм *B. abortus* 0009/Х дал положительный результат – произошла агглютинация с образованием

хорошо выраженных хлопьев (R-форма), что соответствует исходным свойствам исследуемых культур.

При постановке реакций термоагглютинации, наличие диссоциации подтверждает штамм *B. abortus* 0009/X, с ясно выраженной агглютинацией клеток бруцелл, тогда как суспензия недиссоциированных (S) штаммов *B. abortus* 0001/Н, *B. melitensis* 0003/Н, *B. abortus* 0006/В оставались гомогенными.

По результатам дифференциации бруцеллезных культур по редуцирующей активности в отношении красок была отмечена редуцирующая активность тестируемых культур *B. abortus* 0001/Н, *B. abortus* 0006/В и *B. abortus* 0009/X в отношении красок – основного фуксина (в разведении 1:50 000, 1:10 0000) и тионина (1:25 000, 1:50 000, 1:10 0000). При этом наблюдали сплошной рост изолята. Штамм *B. melitensis* 0003/Н соответственно контролю *B. melitensis* 16-М редуцировал активность во всех разведениях фуксина, тогда как 1:25 тыс разведение тионина дал негативный результат в остальных разведениях (1:50 тыс, 1:10 тыс) положительно, что присуще 1-му биовару мелитензисной культуры.

Обсуждение полученных данных. По данным литературы, Некоторые виды бруцелл (*Br. melitensis*, *Br. abortus*, *Br. suis*) изначально находятся в S-форме, но при различных неблагоприятных условиях, в том числе неправильном лиофилизации или при паразитировании в нетипичном хозяине могут легко диссоциировать в R-форму. В соответствующих благоприятных условиях они снова реверсируют в S-форму (переход бруцелл из S-формы в R носит название диссоциации, а из R- в S - реверсии). Они различаются между собой по строению клеток и характеру метаболизма.

Внимание на антигенных особенностях возбудителя, связанных с диссоциацией, акцентировано неслучайно. В нашей стране диагностика бруцеллеза проводится только с диагностикумом, выявляющим заражение классическими S-вариантами бруцелл. Практически все R-варианты возбудителя не определяются, следовательно, и болезнь не диагностируется [14].

Производство диагностических и вакцинных препаратов требует сохранять стабильность антигенных и генетических свойств эталонных, производственных и музейных штаммов возбудителей бруцеллеза [15].

Таким образом, проведенная исследовательская работа с целью изучения стабильности биологических свойств после лиофилизации эпизоотических штаммов-кандидатов для создания противобруцеллезных средств подтверждает, что исследуемые культуры сохранили свои исходные биологические свойства.

Заключение. В результате проведенных исследований по изучению сохранности биологических и агглютинабельных свойств эпизоотических бруцеллезных штаммов *B. abortus* 0001/Н, *B. abortus* 0006/В и *B. abortus* 0009/X, установлено, что исследуемые штаммы соответствуют их паспортным данным. После проведенных исследований данные штаммы были освежены, лиофилизированы и заложены на хранение.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Здродовский П.Ф. Бруцеллез. – М.:Медгиз, 1953. – С. 244.
- 2 Ременцова М.М Бруцеллез диких животных. – Алматы, 1962. - С. 270.
- 3 Иванов Н.П. Бруцеллез сельскохозяйственных животных, методы и средства борьбы с ним. – Алматы, 2002. – С. 267.
- 4 Вершилова П.А. Бруцеллез. – М., 1972.
- 5 Иванов Н.П. Состояние учения о бруцеллезе и мерах борьбы с ним // Ветеринария. – 2011. – N 3 (19). –С.24-37.
- 6 Мизанбаева С.У., Николич М.Р., Дмитровский А.М. Опыт генотипирования *Brucella melitensis* на юго-востоке Казахстана // Вестник КазНМУ. – 2011.
- 7 Ашетов И.К., Ешмухаметов А.Е., Ашетова И.Н. Мониторинг и анализ эпизоотической ситуации по бруцеллезу КРС в РК за 2007-2012 годы. – Алматы, 2012. - С.79-86.
- 8 Kattar M.M., Jaafar R.F., Araj G.F., Le Flèche P., Matar G.M. et al. Evaluation of a multilocus variable-number tandem-repeat analysis scheme for typing human *Brucella* isolates in a region of brucellosis endemicity // J. Clin. Microbiol. – 2008. – Vol. 46. – P. 3935-3940.
- 9 Eisen J.A. Phylogenomics: improving functional predictions for un-characterized genes by evolutionary analysis // Genome Res. – 1998. – Vol. 8. – P. 163-167.
- 10 Охупкина В.Ю. Методы поддержания микробных культур. Лиофилизация. Часть 2 // Теоретическая и прикладная экология. – 2009. N 4. - С. 21.
- 11 Techniques for the brucellosis laboratory.institut national de la recherché agronomique 147, rue de l'Universite, 75007 // IJRA Paris J. – 1988. – Vol. 2. - P. 145.
- 12 Литусов Н.В. Возбудители бруцеллеза // Иллюстрированное учебное пособие. - 2012. -С. 10-11.
- 13 Скородумов Д.И., Субботин В.В., Сидоров М.А., Костенко Т.С. Микробиологическая диагностика бактериальных болезней животных // Справочник. – Москва, 2005. – С.450-459.
- 14 Сансызбай А.Р., Еспембетов Б.А., Зинина Н.Н. Изучение морфологических свойств изолятов бруцелл в S- и R-формах электронно-микроскопическим методом // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2013. - N 12 (110). - С. 74-75.
- 15 Панкова Е.В. Обеспечение сохранности антигенных и генетических свойств штаммов возбудителей бруцеллеза // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. - 2012. - С. 258.

Е.А. Шаяхметов, Н.К. Далбаев, Ж.Б. Кондыбаева, Ж.Т. Аманова, Ж.Ж. Саметова,
З.Д. Ершебулов, Е.А. Булатов

РГП на ПХВ «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН
РК, пгт. Гвардейский, Казахстан
E-mail.: eraly.shax@gmail.com

ИНАКТИВИРОВАННАЯ ВАКЦИНА ПРОТИВ БЕШЕНСТВА ДЛЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ И ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ, РАЗРАБОТАННАЯ В НИИПББ

Аннотация В работе представлены результаты по разработке инактивированной вакцины против бешенства сельскохозяйственных и домашних животных. Вакцина против бешенства животных изготовлена из штамма «VRC-RZ2» фиксированного вируса бешенства, выращенного в культуре клеток ВНК-21, инактивированного димер этиленимином (ДЭИ) и сорбированного на гидроокиси алюминия. Разработанная на основе штамма «VRC-RZ2» вируса бешенства инактивированная вакцина оказалась безвредной, ареактогенной и вызывает продолжительный иммунитет сроком до 12 месяцев.

Ключевые слова: вирус, штамм, бешенство, инактивант, вакцина, безвредность, иммуногенность.

Е.А. Шаяхметов, Н.К. Далбаев, Ж.Б. Қондыбаева, Ж.Т. Аманова, Ж.Ж. Саметова,
З.Д. Ершебулов, Е.А. Булатов

ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми зерттеу институты» ШЖҚ РМК, қтк
Гвардейский, Қазақстан

БҚПҒЗИ-ДА ӘЗІРЛЕНГЕН АУЫЛ ШАРУАШЫЛЫҚ ЖӘНЕ ҮЙ ЖАНУАРЛАРЫНЫҢ ҚҰТЫРЫҒЫНА ҚАРСЫ ИНАКТИВТЕНДІРІЛГЕН ВАКЦИНА

Аннотация. Жұмыста ауыл шаруашылық және үй жануарларының құтырығына қарсы инактивтендірілген вакцинаны әзірлеу бойынша ғылыми-тәжірибелік жұмыстардың нәтижелері ұсынылған. Жануарлардың құтырығына қарсы вакцина ВНК-21 жасуша өсіндісінде өсірілген, димер этилениминмен (ДЭИ) белсенділігі жойылған және алюминий асқынотығына сіңірілген құтырықтың фикс вирусының «VRC-RZ2» штамынан дайындалған. Құтырық вирусының «VRC-RZ2» штамы негізінде жасалған инактивтендірілген вакцина зиянсыз, ареактогенді болып шықты және 12 айға дейін иммунитет туындайды.

Түйін сөздер: вирус, штамм, құтырық, инактивация, вакцина, зиянсыздық, иммуногенділік.

E. Shayakhmetov, N. Dalbayev, Zh. Kondybayeva, Zh. Amanova,
Zh. Sametova, Z. Yershebulov, Ye. Bulatov

RSE «Research Institute for biological safety problems» CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan

INACTIVATED RABIES VACCINE FOR FARM ANIMALS AND PETS, DEVELOPED IN RIBSP

Abstract. The paper presents the results of scientific and experimental work on the development of inactivated rabies vaccine for agricultural and domestic animals. The animal rabies vaccine is made from the «VRC-RZ2» strain of fixed rabies virus grown in the culture of BHK-21 cells, inactivated with dimer ethylenimine (DEI) and sorbed on aluminum hydroxide. Developed on the basis of the «VRC-RZ2» strain of the rabies virus, the inactivated vaccine proved to be harmless, areactogenic and causes long-term immunity for up to 12 months.

Key word: virus, strain, rabies, inactivant, vaccine, harmless, immunogenicity.

Введение Вирус бешенства (ВБ) относится к отряду *Mononegavirales*, семейству *Rhabdoviridae*, роду *Lyssavirus* поражает всех теплокровных животных, в том числе и человека со 100 % летальным исходом [1, 2].

По оценке Всемирной Организации Здравоохранения (ВОЗ) бешенство входит в пятерку болезней, которые наносят большой социальный и экономический ущерб [3].

Впервые болезнь наблюдали 1708-1710 годы в Италии, которая впоследствии распространилась по крупным городам Европы. В большинстве стран азиатского континента неблагополучие по бешенству стало давно стационарным. Самая высокая заболеваемость зарегистрирована в Индии, Бангладеш, Индонезии, Таиланде, Филиппинах, Шри-Ланке [4]. На большей части территории России ежегодно регистрируют

значительное количество неблагополучных пунктов по бешенству животных. Заболевание встречается практически среди всех видов животных, тем самым вызывая их гибель и ставя под угрозу жизнь людей [5]. По настоящее время в Республике Казахстан сохраняется напряженная эпизоотическая ситуация по бешенству животных, имеющее социально-экономическое значение. Активные природные очаги бешенства зарегистрированы в различных регионах страны: Южно-Казахстанской, Акмолинской, Жамбылской, Западно-Казахстанской, Кызылординской, Атырауской, Актюбинской, Мангистауской, Карагандинской областях. Ежегодно регистрируется от 24 до 118 неблагополучных пунктов с охватом от 25 до 203 животных [6, 7].

Одним из основных и эффективных способов предотвращения бешенства является своевременная и эффективная иммунопрофилактика, основанная на использовании антирабических вакцин [8]. Антирабическая вакцинация является безальтернативным методом профилактики бешенства среди диких и домашних животных, позволяющим минимизировать риск заражения и гибели человека [9]. Основой современных антирабических вакцин являются фиксированные штаммы вируса бешенства. Иммунологическая эффективность антирабических вакцин зависит от системы культивирования вируса, выбора штамма, величины его накопления при культивировании, конечного соотношения количества вирусного антигена. Руководствуясь мировым опытом в данной области, в НИИПББ разработана инактивированная вакцина для профилактики бешенства животных. Результаты патогенных, антигенных, иммуногенных свойств позволили рекомендовать штамм «VRC-RZ2» в качестве кандидата для изготовления антирабических вакцин [10]. При культивировании штамма «VRC-RZ2» вируса бешенства использованы стационарный и роллерный методы культивирования, которые позволяют нарабатывать вирусную биомассу с инфекционной активностью до $6,5 \text{ lg TЦД}_{50}/\text{см}^3$ [11]. Трудоемкость данных методов культивирования, обусловленная проведением значительного количества технологических процедур, не позволяет нарабатывать вирусный материал в объеме, необходимом для промышленного изготовления вакцин против бешенства.

Анализ имеющихся данных показывает, что культивирование вируса бешенства в суспензионной культуре клеток ВНК-21/с13, обеспечивает высокие урожаи вируса, обладающего высокими иммунобиологическими свойствами и пригодным для получения инактивированных культуральных вакцин против бешенства [12].

В данной статье представлены результаты лабораторных исследований по приготовлению и изучению иммунобиологических свойств разработанной в НИИПББ инактивированной вакцины против бешенства сельскохозяйственных и домашних животных.

Материалы и методы.

Штаммы вируса. Фиксированный вакцинный штамм «VRC-RZ2» вируса бешенства был использован для изготовления вакцины, а для оценки протективных свойств референс-штамм «CVS» рекомендованный ВОЗ.

Животные. В экспериментах по определению безвредности и авирулентности вакцины испытание проводили на белых беспородных мышах массой 16-18 г и 10-13 г. Для определения иммуногенности использовали кроликов массой 0,4-0,8 кг, 6-12 мес возраста.

Наработка вирусной биомассы. В работе использовали фиксированный ВБ штамм «VRC-RZ2», депонированный в Коллекции микроорганизмов НИИПББ под номером П-7-04/Д; культура клеток ВНК-21/с13 (Банк культур клеток НИИПББ); питательные среды DMEM и ПСС; с добавлением L-глутамина (6 %) и сыворотки крови крупного рогатого скота (КРС) в концентрации 2,0 %. Для наработки вирусосодержащей суспензии бешенства стационарным методом использовали матрасы с культурой клеток ВНК-21/с13 объемом 1,5 л, которые заражали производственной раскладкой вируса в дозе $0,1 \text{ TЦД}_{50}/\text{кл}$. Инфицированные клетки инкубировали при температуре $(37 \pm 0,5) \text{ }^\circ\text{C}$, pH ростовой среды поддерживали в пределах 7,2-7,4 ежедневным добавлением раствора соды (8,5 % NaHCO_3).

При суспензионном методе культивирования использовали культуру клеток ВНК-21/с13, адаптированную к росту в суспензии. Культивирование клеток проводили на начальном этапе в спиннерах разных объемов (175, 350, 700, 3500, 700) см^3 на магнитных мешалках «Tehne» при 40 об/мин. По мере нарастания клеток в спиннерах суспензию последовательно переносили из спиннеров малых объемов в более объемные. На конечном этапе, по достижении концентрации клеток в спиннерах $1,0\text{-}1,5 \cdot 10^6$ кл/мл, содержимое спиннеров объединяли в общий сосуд и использовали для суспензионного культивирования клеток в биореакторе «БИОТРОН». В биореактор с помощью перистальтического насоса перекачивали питательную среду ПСС в объеме 5,0 л и содержимое четырех спиннеров общим объемом 2,8 л. Ежедневно контролировали pH среды, а также проводили подсчет клеток. После культивирования клеток в течение 120 ч при концентрации клеток $1,2 \times 10^6$ кл/мл в биореактор внесли производственную раскладку ВБ и инкубировали в течение 72 ч с ежедневным подсчетом живых и мертвых клеток.

Длительность культивирования определяли по интенсивности поражения монослоя вирусом. При проявлении цитопатического поражения 70-80 % монослоя клеток, вирусосодержащую суспензию замораживали при минус $40 \text{ }^\circ\text{C}$. Для масштабирования вируса в дальнейшем применяли суспензионный метод культивировали. После чего сосуды с культурой клеток охлаждали при температуре минус $(40,0 \pm 1,0) \text{ }^\circ\text{C}$.

Определение контаминации бактериальной и грибковой микрофлорой (стерильности) вирусосодержащей суспензии осуществляли по ГОСТ 28085.

Приготовление инактиванта. Инактивацию вируса бешенства животных проводили с использованием ДЭИ. Для этого в стеклянных бутылках в день составления вакцины, исходя из исходной концентрации инактиванта, готовили 8 % раствор на стерильной дистиллированной воде.

Приготовление 25 % раствора тиосульфата натрия. Тиосульфат натрия (натрий серноватисто кислый) квалификации хч или чда использовали для нейтрализации ДЭИ.

В бутылку, содержащую 500 мл дистиллированной воды, вносили 250 г тиосульфата натрия. После растворения тиосульфата натрия, объём раствора доводили дистиллированной водой до 1,0 л и тщательно перемешивали. Раствор стерилизовали в автоклаве при 1 атм текучим паром в течение 45 мин.

Приготовление гидроокиси алюминия (ГОА). Коллоидный 2 % гидрат окиси алюминия (BRENNTAG, Дания), стерилизовали при температуре 120 °С в течение 2 ч, затем охлаждали до 4-6 °С. рН устанавливали в пределах 7,6-7,8 путем добавления 5М раствора аммиака. Охлажденный до температуры 4-6 °С коллоидный гидрат окиси алюминия использовали в день его приготовления.

Инактивация вирусной суспензии димер этиленмином. Для инактивации вирусной суспензии бешенства использовали ДЭИ (ООО НПП «Биохимресурс» г.Владимир). Перед добавлением инактиванта, температуру вирусосодержащей суспензии доводили до $(37 \pm 0,5)$ °С. После чего, в суспензию добавляли 8 % рабочий раствор ДЭИ до конечной концентрации 0,2 %. Затем 30 % раствором уксусной кислоты устанавливали рН суспензии в пределах 7,2-7,6. Инактивацию вируса проводили при температуре $(37 \pm 0,5)$ °С, в течение 24 ч с периодическим перемешиванием (5 мин с интервалом 2 ч).

После инактивации вируса, в суспензию для нейтрализации инактиванта добавляли 25 % раствор тиосульфата натрия, до конечной концентрации 0,25 %, охлаждали до 2-6 °С и брали пробы для определения рН и стерильности. В случае хранения инактивированного материала до розлива во флаконы более 1 мес, в суспензию добавляли 10 % рабочий раствор тиомерсала в соотношении 1:10000 по объему.

Определение полноты инактивации вирусосодержащей суспензии. Проверку полноты инактивации вируса бешенства проводили на клинически здоровых мышах. С этой целью животным вводили инактивированный материал. Контрольным животным вводили исходный материал, использованный для инактивации. Мыши должны оставаться живыми в течение 14 сут наблюдения.

Объединение полуфабрикатов и составление вакцинного препарата. Для составления серии вакцины в стерильную емкость вносили 90 % объема инактивированной вирусной суспензии, в зависимости от необходимого количества доз в выпускаемой серии. При постоянном перемешивании к вирусной суспензии, добавляли ГОА 10 об %. Процесс сорбции проводили при 4 °С. Для увеличения антигенного титра вакцины проводили декантацию надосадка в объеме до 40 %.

Определение безвредности инактивированной вакцины. Проверку вакцины на безвредность проводили на клинически здоровых мышах. Для контроля безвредности вакцины отбирали 20 белых мышей массой 16-18 г и вводили им подкожно в область спины 0,5 мл вакцины в цельном виде.

Препарат считали выдержавшим испытание, если в течение всего срока исследования мыши не погибали, не теряли в весе и не проявляли признаков интоксикации. Мыши должны оставаться живыми в течение 14 сут наблюдения. В случае гибели хотя бы одной мыши испытываемую серию проверяют повторно на удвоенном количестве клинически здоровых белых мышей. Павших животных вскрывают и подвергают бактериологическому исследованию. Результаты повторного контроля являются окончательными.

Определение авирулентности. Для этой цели использовали белых мышей массой 10-13 граммов. Проведение испытания - авирулентность вакцины определяли на 20 гол, которых заражают интрацеребрально в объеме 0,03 мл. Наблюдали за мышами в течение 14 сут.

Вакцина не должна вызывать гибели мышей от бешенства в течение 14 сут (срок наблюдения). Допускается гибель не более 5 мышей без клинических симптомов характерных заболеванию бешенством, объясняемая наличием в вакцине гидроокиси алюминия. В случае гибели более 5 мышей из их мозга готовят 10-20 % суспензию мозга и вводят её интрацеребрально по 0,03 мл 10 мышам. В течение 14 сут (срок наблюдения) мыши должны остаться здоровыми. Результаты дополнительного контроля являются окончательными.

Определение иммуногенности. Иммуногенные свойства вакцины проверяли на 15 здоровых кроликах массой 0,4-0,8 кг, 6-12 мес возраста. Для этого первую группу, состоящую из 10 кроликов, подвергали однократной внутримышечной прививке вакциной в дозе 1,0 мл. Пять не вакцинированных кроликов являются контрольными.

Через 21 сут всех животных, 10 вакцинированных кроликов и 5 контрольных заражали интрацеребрально вирусом-фикс штамма «CVS» в дозе 50-100 ЛД₅₀/0,2 мл. За животными наблюдают 14 сут. Вакцина признается иммуногенной, если из 10 вакцинированных заболевают бешенством не более трех кроликов, при 100 % заболевании бешенством и гибели пяти контрольных не вакцинированных. При заболевании более 3 вакцинированных кроликов проводят повторный контроль иммуногенной активности на том же количестве животных, как и при первичном контроле. Результаты повторного контроля являются окончательными.

Обработка данных. Статистический анализ результатов исследований проводили с использованием программы Microsoft Excel и GraphPad Prism 6.

Основной целью наших исследований являлось разработка технологии получения экспериментальных образцов культуральной инактивированной вакцины против бешенства из штамма «VRC-RZ2» и изучить иммунобиологических свойств.

Результаты исследований. Результаты определения биологической активности, сроки культивирования и стерильность вируса бешенства представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Результаты определения титра культуральной суспензии ВБ штамма «VRC-RZ2» с использованием различных методов культивирования

Метод культивирования штамма «VRC-RZ2»	Сроки культивирования, ч	Титр, lg ТЦД ₅₀ /см ³	Стерильность				
			МПА	МПБ	Сабуро жидкая	Сабуро твердая	Тиогликолевая
Стационарный	96	5,92±0,08	-	-	-	-	-
Суспензионный	120	6,83±0,17	-	-	-	-	-

Представленные в таблице 1 результаты показывают, что наработанная вирусодержащая суспензия имеет высокие показатели активности, при культивировании штамма «VRC-RZ2» при стационарном методе ВСС достигала до $(5,92 \pm 0,08) \text{ lg ТЦД}_{50}/\text{см}^3$, а суспензионным методом активность $(6,83 \pm 0,17) \text{ lg ТЦД}_{50}/\text{см}^3$.

На следующем этапе экспериментов изучали параметры и полноту инактивации. Сосуды с вирусодержащей суспензией размораживали и при работающей мешалке порционно в суспензию добавляли 8 % рабочий раствор ДЭИ, до конечной концентрации 0,2 %, с pH 7,2-7,4. Перемешивание суспензии в спиннерах проводили на магнитных мешалках «Тechnе» при 40 об/мин. Инактивацию вируса проводили при температуре $(37 \pm 0,5) \text{ }^\circ\text{C}$ в течение 24 ч при периодическом перемешивании. Через каждые 2 ч. отбирали пробы материала, с целью определения кинетики инактивации вирусной суспензии путем титрования на двухсуточной монослойной культуре клеток ВНК-21/с13.

В результате опыта, установлено, что при использовании концентрации ДЭИ 0,2 % наступила полная инактивация инфекционной активности, что подтверждено результатами постановки ИФА, титрованием на культуре клеток и путем заражения белых мышей.

Изучение полноты инактивации на белых мышах является наиболее объективным тестом. С этой целью формировали 5 групп животных по 4 головы в каждой: четыре группы опытных и одна группа контрольная. Мышам опытных групп вводили инактивированные пробы материала, мышам контрольной группы – исходную вирусодержащую суспензию, использованную для инактивации. Животных заражали интрацеребрально в объеме 0,03 мл материала. За состоянием подопытных животных вели клиническое наблюдение дважды в день в течение всего опыта (14 сут).

Начиная с пятых суток, у мышей контрольной группы отмечали первые признаки болезни (угнетение, потеря аппетита), впоследствии проявились клинические признаки, характерные для бешенства: парез конечностей, судороги. Через 7 сут после заражения все животные контрольной группы пали. Все остальные животные остались живы до конца опыта.

После проверки полноты инактивации инактивированную вирусную суспензию переносили в реактор, где добавляли 10 % по объему 2 % ГОА, при постоянном перемешивании суспензии. Температуру суспензии повышали до 27,0-30,0 °C и поддерживали на этом уровне 4-6 ч. Затем температуру вакцинной суспензии снижали до 4,0-8,0 °C и хранили еще 48-56 ч. Готовую вакцину расфасовывали в стерильных условиях по 100 см³ во флаконы, которые затем закрывали резиновыми пробками и обкатывали металлическими колпачками. Непосредственно после приготовления препарата отобрали пробы для изучения его стерильности, безвредности, реактогенности, а также иммуногенности.

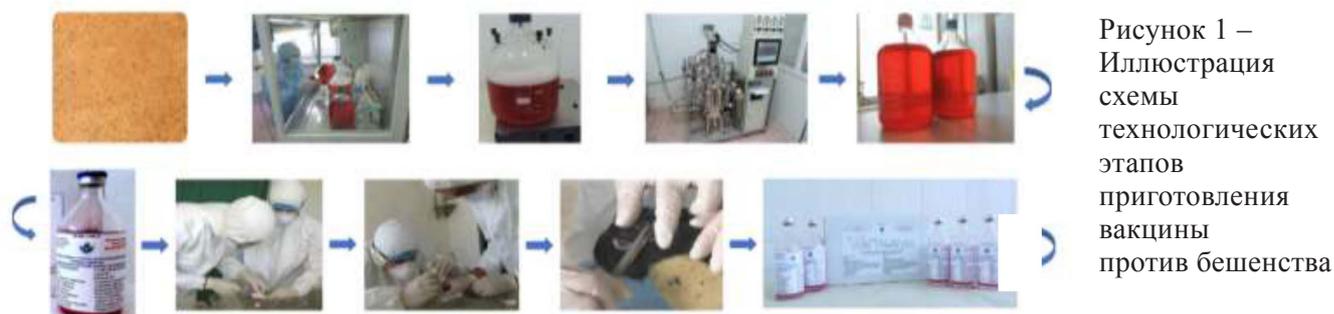
При проверке готовой вакцины на стерильность пробы оказались чистыми, стерильными и без посторонних примесей. При испытании приготовленного препарата на безвредность установлено, что все мыши оставались живыми, у них не отмечено отклонений от физиологической нормы в течение 14 сут (срок наблюдения), и эти данные указывают на безвредность испытываемой вакцины. Изучение реактогенности вакцины показало, что в течение всего срока наблюдения (14 сут) у подопытных животных также не наблюдалось отклонений от физиологической нормы или гибели мышей. Таким образом, полученная вакцина безвредна, не обладает реактогенностью, соответственно авирулентна.

Широко использовать кроликов как модельные объекты в медицине и ветеринарии при изготовлении и испытании разных препаратов считается экономически выгодным, чем использование более крупных животных для этих целей. Поэтому при изучении иммуногенности разработанной вакцины нами были использованы кролики. В результате проверки иммуногенности вакцины установлено, что она обладает выраженной иммуногенной эффективностью и защищает кроликов от заболевания при заражении вирулентным штаммом «CVS» вируса бешенства.

В ходе экспериментов на лабораторных животных установлено, что все иммунизированные кролики

остались живыми на протяжении всего опыта (14 сут), тогда как контрольные животные пали на 6-7 сут после контрольного заражения.

В процессе выполнения данного этапа исследований приготовлены две серии инактивированной вакцины против бешенства. Полный технологический цикл производства инактивированной вакцины против бешенства представлен на рисунке 1.



Данную вакцину рекомендуется использовать для специфической профилактики для сельскохозяйственных (верблюдов, лошадей, КРС, свиней, овец и коз) и домашних (собак и кошек) животных. Расчет дозы на виды и возраст животных представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Прививная доза вакцины для различного вида и возраста животных

Вид животных	Возраст	Доза, мл
Лошади и верблюды	Старше 3-х лет/от 3-х месяцев до 3 лет	10,0/5,0
Крупный рогатый скот	Старше 2-х лет/от 3-х месяцев до 2-х лет	8,0/5,0
Овцы и козы	Старше года/от 3-х месяцев до года	4,0/2,0
Свиньи	Старше года/от 4-х месяцев до года	5,0/3,0
Собаки крупные (свыше 10 кг массы)	Старше 1 года/2-12 мес	1,0/0,5
Собаки мелкие (до 10 кг массы)	Старше 1 года/6-12 мес/2-6 мес	0,5/0,3/0,2
Кошки	Старше 1 года/2-12 мес	0,5/0,3

Обсуждение полученных данных. В Научно-исследовательском институте проблем биологической безопасности по результатам выполнения научного проекта «Организация производства и выпуск вакцин против вирусных инфекций сельскохозяйственных животных, птиц и пушных зверей» в рамках Республиканской научно-технической программы Ц 0252 «Научно-техническое обеспечение и организация производства биотехнологической продукции в Республике Казахстан» на 2001-2005 годы разработана технология изготовления и контроля инактивированной вакцины против бешенства животных.

Потребности в данной вакцине для Казахстана и стран Центральной Азии достаточно велики, поскольку внедрение в производство вакцины против вируса бешенства является одним из главных залогов успеха борьбы с этой особо опасной инфекцией. Разработанная в НИИПББ вакцина по своим иммунобиологическим характеристикам соответствует предъявляемым требованиям Всемирной организации по охране здоровья животных, что в свою очередь позволит быть конкурентоспособной на рынках сбыта продукции, как в Казахстане, так и в странах ближнего зарубежья. Предложенная вакцина позволит республике отказаться от импорта зарубежных препаратов.

В НИИПББ в 2002 году был получен штамм «VRC-RZ2» вируса бешенства адаптированный к репродукции в культурах клеток ВНК-21. Инфекционная активность вируса, полученного в культуре клеток ВНК-21 составляла – 5,0-5,5 lg ТЦД₅₀/см³. Результаты иммунобиологических характеристик данного штамма вируса бешенства позволили рассматривать его в качестве вакцинного кандидата для изготовления профилактических препаратов против бешенства животных [11]. Разработанная в НИИПББ инактивированная вакцина против бешенства животных из штамма «VRC-RZ2» фиксвируса бешенства прошла производственные испытания в условиях хозяйств Алматинской и Акмолинской областей. Результаты проведенных исследований показали, что разработанная учеными НИИПББ отечественная инактивированная вакцина предназначена для профилактической иммунизации против бешенства крупного и мелкого рогатого скота, лошадей, верблюдов, свиней, собак и кошек, не уступает зарубежным аналогам и создает у вакцинированных животных иммунитет с продолжительностью не менее 12 месяцев. На вакцину получено регистрационное удостоверение № РК-ВП-1-3102-16 от 13 апреля 2016 года. Результаты контроля показали, что приготовленные опытно-экспериментальные серии инактивированной вакцины против бешенства соответствуют всем требованиям СТ 405-1919-04 ГП-109-2018. Проведена перерегистрация действующей нормативно-технической документации. Составлен паспорт качества и получены сертификат соответствия и сертификат качества на изготовленные серии вакцины, соответственно.

Заключение. На основании анализа экспериментальных данных, можно заключить, что вакцина

инактивированной против бешенства животных, изготовленной из штамма «VRC-RZ2» фиксированного вируса бешенства, выращенного в культуре клеток ВНК-21, инактивированного димер этиленмином (ДЭИ) и сорбированного гидроокисью алюминия оказалась стерильной, безвредной и ареактогенной. При изучении иммуногенности испытуемой вакцины установлено, что она обладает выраженной иммуногенной эффективностью и защищает животных от заболевания при контрольном заражении вирулентным штаммом «CVS» вируса бешенства. Приготовленные две опытно-экспериментальные серии инактивированной вакцины безвредны, авирулентны и иммуногенны.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Грибенча С.В., Львов Д.К. Рабдовирусы // Руководство по вирусологии // под ред. Академика РАМН Д.К. Львова. - М.: «МИА», 2008. - С.586-588.
- 2 Львов Д.К., Грибенча С.В. с соавт. Бешенство // Руководство по вирусологии // под ред. Академика РАМН Д.К. Львова. - М.: «МИА», 2013. - С.811-816.
- 3 Европейская организация информационной системы сотрудничества ВОЗ и Центра по наблюдению и исследования бешенства // www.who-rabies-bulletin.org. - 2015.
- 4 Шестопалов А.М., Кисуриным И., Груздев К.Н. Бешенство и его распространение в мире // Журнал вопросы вирусологии. – 2001. - N 2. - С.7-12.
- 5 Мурзакаева Г.К., Пионтковский В.И. Эпизоотическая и эпидемиологическая ситуация по бешенству в мире, Российской Федерации, Республике Казахстане и основные направления профилактики // 3i-интеллект, идея, инновация. – 2015. - N2. – С. 68-74.
- 6 Эпизоотическая ситуация в Казахстане находится под контролем // <http://oilnews.kz>.
- 7 Батанова Ж.М., Әбдіқадырова Ә.М., Ахметсадықов Н.Н. Қазақстан Республикасындағы құтырықтың індеттік жағдайы // Ветеринария. – 2011. - N 2 (18). – С. 35-39.
- 8 Груздев К.Н., Недосеков В.В. Бешенство животных. - М.: Аквариум, 2001. – 304 с.
- 9 Макаров В.В. Оральная вакцинация лисиц против бешенства безальтернативна // Ветеринарная патология. – 2009. - N 4, - С. 104-106.
- 10 Аманова Ж.Т., Ершебулов З.Д., Жугунисов К.Д., Булатов Е.А. Оценка безопасности и иммуногенности инактивированной вакцины против бешенства животных // Научно-практический журнал ЗКАТУ имени Жангир хана «Наука и образование». – 2020. – N 1-1 (58). - С. 172-178.
- 11 Жилин Е.С., Русанова А.М., Червякова О.В., и др. Изучение иммунобиологических свойств вируса бешенства штамма «VRC-RZ2» адаптированного к перевиваемым клеткам сирийского хомяка (ВНК-21/13) // Актуальные вопросы современной биологии: матер. междунар. конф. молодых ученых и студентов. - Алматы, 2006, - С. 90-91.
- 12 Жестерев В.И., Лаптева О.И., Горшкова Т.Ф. Культивирование вируса бешенства в суспензии клеток ВНК-21 // Биолого-экологические проблемы заразных болезней диких животных и их роль в патологии сельскохозяйственных животных и людей: матер. науч. практ. конф. ГНУ ВНИИВВиМ. - Покров, 2002. – С. 113-116.

УДК 614.2/614.3:57.081

Н.Т. Амирханова, Д.Р. Таболдиев, А. Уланқызы, А.Е. Джалдыбаева, С.С. Килибаев

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

БИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ РАБОТЫ С МИКРООРГАНИЗМАМИ I-IV ГРУПП ПАТОГЕННОСТИ В НИИПББ

Аннотация. В данной статье представлена современная информация об обеспечении биологической безопасности персонала от воздействия патогенных микроорганизмов I-IV групп патогенности. Мероприятия по обеспечению биобезопасности при проведении работ с микроорганизмами I-IV групп патогенности можно отнести к важнейшей составляющей НИИПББ. Грамотная организация этапности проведения профилактических мероприятий обеспечивает бесперебойную работу не только конкретно рассматриваемого отдела или лаборатории, но всего учреждения в целом. Профессиональная подготовка специалистов для работы с патогенными биологическими агентами представлена как комплексная задача. Приведено обоснование актуальности и приоритетности ее решения для обеспечения индивидуальной и общественной биобезопасности, намечены пути совершенствования. Тщательное выполнение простых мероприятий является залогом поддержания необходимого уровня работоспособности НИИПББ.

Ключевые слова: биологическая безопасность, патогенные биологические агенты, подготовка персонала, санитарные правила.

Н.Т. Амирханова, Д.Р. Таболдиев, А.Уланқызы, А.Е. Джалдыбаева, С.С. Килибаев

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

БҚПҒЗИ-да I-IV ТОПТАҒЫ ПАТОГЕНДІ МИКРООРГАНИЗМДЕРМЕН ЖҰМЫС ІСТЕУДІҢ БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАУІПСІЗДІГІ

Аннотация. Бұл мақалада БҚПҒЗИ жағдайында зардаптылығы бойынша I-IV топтағы микроорганизмдермен жұмыс істеу кезінде қызметкерлердің биологиялық қауіпсіздігін қамтамасыз ету туралы заманауи ақпараттар ұсынылған. Зардаптылығы жағынан аса қауіпті микроорганизмдермен жұмыс істеу кезінде биоқауіпсіздік шараларын қамтамасыз ету БҚПҒЗИ маңызды міндеттерінің бірі болып табылады. Профилактикалық іс-шараларды кезең-кезеңмен ұйымдастыру қарастырылып отырған ғылыми бөлімнің немесе зертхананың ғана емес, тұтастай алғанда институттың үздіксіз жұмысын қамтамасыз етеді. Патогендік биологиялық агенттермен жұмыс істеуге мамандарды кәсіби даярлау-күрделі міндеттердің бірі. Сонымен қатар жекелеген және жалпылама биоқауіпсіздікті қамтамасыз ету үшін оны шешудің өзектілігі мен басымдылығы негізделген, әрі жетілдіру жолдары қарастырылған. Көрсетілген шараларды мұқият орындау – БҚПҒЗИ өнімділігінің қажетті деңгейін ұстап тұрудың басты кілті болып табылады.

Түйін сөздер: биологиялық қауіпсіздік, патогенді биологиялық агенттер, қызметкерлерді дайындау, санитарлық ережелер.

N.T. Amirkhanova, D.R. Taboldiyev, A. Ulankyzy, A.E. Dzhaldybayeva, S.S. Kilibayev

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

BIOLOGICAL SAFETY OF WORK MICROORGANISMS I-IV PATHOGENIC GROUPS IN RIBSP

Abstract. This article presents up-to-date information on ensuring the biological safety of personnel from the

effects of pathogenic microorganisms of I-IV pathogenicity groups. Measures to ensure biosafety during work with microorganisms of I-IV pathogenicity groups can be attributed to the most important component of the RIBSP. The competent organization of the phasing of preventive measures ensures the smooth operation of not only the department or laboratory under consideration, but the entire institution as a whole. Professional training of specialists to work with pathogenic biological agents is presented as a complex task. The substantiation of the relevance and priority of its solution for ensuring individual and social biosafety is given, ways of improvement are outlined. Careful implementation of simple measures is the key to maintaining the required level of RIBSP performance.

Key words: biological safety, pathogenic biological agents, personnel training, sanitary rules.

Биологическая безопасность объединяет теорию и практику защиты, от опасных биотических факторов ориентируясь на экологию и здоровье человека. Проблема биологической безопасности вызывает все большую тревогу у населения и ученых в связи с реальным ростом биологических угроз. Биологическая безопасность включает широкий круг вопросов, решение которых в современных условиях становится частью национальной безопасности как необходимого условия устойчивого развития страны [1, 2, 8].

Обеспечение биологической безопасной работы потенциально опасных объектов – сложная системная проблема, для решения которой осуществляются организационные, технические, медицинские и социальные мероприятия, снижающие уязвимость организации за счет повышения надежности функционирования технических систем и технологических процессов. При этом согласно национальным нормативно-методическим документам под биологической безопасностью понимают систему медико-биологических, организационных и инженерно-технических мероприятий и средств, направленных на защиту работающего персонала, населения и окружающей среды от воздействия патогенных биологических агентов [3, 4].

НИИПББ в полной мере относится к учреждениям, использующим в своей деятельности патогенные биологические агенты I-VI групп (ПБА), характеризующиеся высокой степенью индивидуальной и общественной опасности.

Для успешной и надежной работы, мы должны отвечать квалификационным требованиям: знание на современном уровне теоретических и практических вопросов в области особо опасных инфекций (ООИ), знание принципов биобезопасности (ББ), владение навыками ее обеспечения, но и обладать определенной совокупностью психофизиологических качеств, поддерживающих должный уровень профессиональной адаптации. Надежность работы зависит и от состояния характеристик здоровья персонала, поскольку любые их отклонения могут повлиять на протекание психофизиологических процессов, обеспечивающих профессиональную деятельность [4-7].

Обучение правилам биобезопасности и биозащите в работе с микроорганизмами содержать комплексный подход к оценке пригодности претендента или работника института. Оценка базируется в определении исходного уровня профессиональной подготовленности (высшее и среднее медицинское, биологическое, ветеринарное образование) и здоровья сотрудника. Для инженерно-технического персонала, дезинфекторов и лабораторных сотрудников было предусмотрено освоение требований безопасной работы в структурном подразделении. В действующих санитарных правилах по безопасности работ проведен допуск к работе с ПБА.

Таким образом, подготовка кадров для работы с ПБА всегда рассматривалась как приоритетная задача, поэтапно совершенствовались пути решения. Актуальность ее несомненна и в настоящий момент. Использование комплексного подхода, а именно, определение уровня профессионального здоровья, надежности профессиональной деятельности и профессиональной подготовленности сотрудников, позволит обеспечить ББ работников и санитарно-эпидемиологическое благополучие при проведении всех видов работ с ПБА [6-8].

В НИИПББ отбор при приеме на работу заключается в определении соответствия уровня профессиональных знаний претендента, состояния здоровья, наличия профессионально необходимых личностных характеристик, требуемых при выполнении конкретных должностных обязанностей. Полученные результаты должны быть использованы при определении исходного уровня надежности деятельности работника.

Требования к персоналу в работе с микроорганизмами:

- Работа с ПБА выполняет специалисты не моложе 18 лет с высшим и средним медицинским, биологическим, ветеринарным и иным образованием;
- Допуск персонала к работе осуществляться на основании приказа руководителя организации и проверки знаний персоналом требований ББ. Инструктажи по соблюдению требований ББ проводиться 1 раз в год;
- Инженерно-технический персонал, дезинфекторы и лаборанты подразделения, осуществляющего деятельность с использованием ПБА, должны проходить специальную подготовку по биобезопасности по

месту работы в соответствии с должностными обязанностями. Допуск инженерно-технического персонала к обслуживанию оборудования оформляется на основании приказа руководителя организации один раз в год;

- Разрешение на посещение лаборатории, участка и конкретного рабочего места инженерно-техническому персоналу, не работающему постоянно в организации, выдает руководитель института. Посещение должно осуществляться в сопровождении сотрудника лаборатории или отдела. Посещение регистрируется в специальном журнале;

- При приеме на работу, связанную с использованием ПБА, персонал проходит предварительную медицинский осмотр с целью выявления медицинских противопоказаний, лечению специфическими препаратами и применению средств индивидуальной защиты. Объем и порядок проведения медосмотра определяются действующими нормативными документами. Все сотрудники, привлекаемые к работе с микроорганизмами проходят периодические медицинские осмотры в соответствии с нормативными документами (один раз год);

- В случае появления у сотрудника симптомов, характерных для инфекционного заболевания, вызываемого возбудителем, с которым он работал, сотрудник должен ставить об этом в известность руководителя подразделения.

Научные лаборатории НИИПББ, где проводятся научные исследования, размещены в отдельно стоящем здании и в изолированной части здания. На входной двери установлены таблички с названием лаборатории и международный знак «Биологическая опасность». Производственные лаборатории, проводящие работу с ПБА III группы, также располагаются в отдельно стоящих зданиях.

Все научно-исследовательские и производственные лаборатории обеспечены холодным и горячим водоснабжением, канализацией, электричеством, отоплением и вентиляцией. Также имеется естественное и искусственное освещение в соответствии с требованиями действующих нормативных документов.

Все лаборатории и отделы в штате имеют рабочих и вспомогательные помещения (комнаты). Набор помещений и их оснащение оборудованием варьируется в зависимости от конкретных целей и задач лаборатории, и разделяются на «заразную» зону, где осуществляются манипуляции с ПБА III-IV групп и их хранение, и «чистую» зону, где не проводят работы с микроорганизмами и их хранение.

В «чистой» зоне лабораторий располагается: гардероб для верхней одежды; помещения для проведения подготовительных работ (препараторская, моечная, приготовление и разлив питательных сред и др.); помещение для стерилизации питательных сред и лабораторной посуды (стерилизационная); помещение с холодильной камерой и холодильниками для хранения питательных сред и диагностических препаратов; помещение для работы с документами и литературой; помещение отдыха и приема пищи; кабинет заведующего; кабинет сотрудников, помещение для хранения и одевания рабочей одежды; подсобные помещения и туалет.

В «заразной» зоне размещается: помещение для приема и регистрации материала (проб); боксированные помещения с предбоксами и оснащенные боксами биологической безопасности. В боксированных помещениях «заразной» зоны лаборатории проводятся: работа с животными (заражение, вскрытие); содержание инфицированных животных; центрифугирование ПБА, сушка, другие операции с вероятным образованием аэрозоля; заражение культуры клеток и куриных эмбрионов; приготовление суспензий; работа с лиофилизированными ПБА; работа по ведению коллекционных штаммов; работа по идентификации и изучению выделенных штаммов микроорганизмов. Для проведения вирусологических (бактериологических) и иммунологических исследований имеется помещение для микроскопии; помещение для проведения исследовательских работ; помещение для работы с лабораторными животными; помещение для содержания инфицированных лабораторных животных; помещения для ПЦР-диагностики; термостатная комната и помещение для обеззараживания (автоклавная). В лабораториях, проводящих исследования с ПБА только IV группы, в «заразной» зоне располагается: комната для посевов; комната для проведения исследований с ПБА; комната для обеззараживания и стерилизации и душевая.

Внутренняя отделка помещений лаборатории института выполнена в соответствии с их функциональным назначением и гигиеническими нормативами. Поверхности пола, стен, потолка в лабораторных помещениях «заразной» зоны гладкая, без щелей, устойчивой к многократному действию моющих и дезинфицирующих средств. Полы не скользкие, имеет гидроизоляцию. Окна и двери помещений «заразной» зоны лаборатории герметичные. Входные двери в помещениях для работы с инфицированными животными оборудованы высокими порогами, недоступными для проникновения грызунов. Приборы, оборудование и средства измерений, используемые в работе лаборатории, аттестованы, технически исправны, имеют технический паспорт и рабочую инструкцию по эксплуатации с учетом требований биологической безопасности. Средства измерения подвергают метрологическому контролю в установленные сроки. Помещения «заразной» зоны оборудованы бактерицидными облучателями для обеззараживания воздуха и поверхностей в соответствии с нормативами.

В нашем институте учет, хранение, передача и транспортирование ПБА II-IV групп осуществляются в помещениях «заразной» зоне. Допускается их хранение в специально выделенном помещении «чистой» зоны, упакованными в соответствии с требованиями, предъявляемыми к транспортированию ПБА в соответствии с требованиями действующих нормативных документов. Передача ПБА в организации, не имеющие лицензии на деятельность, связанную с использованием возбудителей инфекционных заболеваний соответствующих групп патогенности, не допускается.

Соблюдение требований к организационным, санитарно-противоэпидемическим мероприятиям, направленным на обеспечение личной и общественной безопасности, защиту окружающей среды является обязательным для НИИПББ и каждого подразделения (научные лаборатории, производственные отделы и т.п.), которая осуществляется на основании санитарно-эпидемиологического заключения в соответствии санитарной правила № 684 РК [9, 10]. Правила соблюдаются при работе в диагностике болезни, токсинов и ядов; выделение возбудителей; экспериментальной и производственной работе; ПЦР-диагностике; иммунологических исследованиях; производственной работе с вакцинными штаммами возбудителей; сбор полевого материала на территориях природных очагов инфекций; транспортировании; содержание животных; работы в инфекционных очагах заболеваний; работы в изоляторах; вскрытие трупов павших животных и исследования по контролю качества продукции.

Для каждой лаборатории, проводящего работы с ПБА разработан документ (СОП и журналы), определяющий режим безопасной работы в конкретных условиях, с учетом характера работ, особенностей технологии, свойств микроорганизма и продуктов его жизнедеятельности. Документ согласован с комиссией по контролю соблюдения требований биологической безопасности организации и утвержден первым руководителем. При разработке и внедрении новых методов и методических приемов, требующих усиления мер безопасности, в документ вносят соответствующие дополнения.

Сотрудниками отдела биологической и санитарной безопасности разработан и внедрен в производства инструкция по вопросам оценки биологического риска (ОБР₁), по обеспечению биобезопасности при организации и проведении работ с ПБА. Осуществляется контроль по составлению ОБР₁, дается заключение и утверждается генеральным директором института.

Работа по производству препаратов (вакцины) с использованием ПБА регламентируется настоящими санитарными правилами и другими нормативными документами [9, 10], содержащими требования к помещениям, оборудованию и технике безопасности.

Лабораторные помещения оборудованы пожарной сигнализацией и обеспечены средствами пожаротушения в соответствии с требованиями пожарной безопасности. Инженерная система обеспечения ББ подразделений осуществляются инженерно-технической службы и специалистами в соответствии с годовым графиком.

Все жидкие отходы, образующиеся в процессе работы в «заразной» зоне, перед сбросом в поселковую канализационную систему подлежат обязательному химическому обеззараживанию, для которых имеется хлораторная станция.

Помещения для работы и содержания инфицированных животных (изоляторы и клиника), боксированные помещения, микробиологические комнаты, помещения с аэрозольными камерами (установками) оборудованы автономными системами приточно-вытяжной вентиляции с механическим побуждением. Указанные системы оснащены фильтрами (НЕРА-фильтрами) тонкой очистки на выходе, проверяемыми на защитную эффективность. Эксплуатацию систем приточно-вытяжной вентиляции лабораторий (лабораторных зданий) осуществляется в соответствии с инструкцией, составленной на основании требований соответствующих нормативных документов [9]. Смена фильтров проводится при нарушении параметров депрессионного режима (изменение скорости воздушных потоков, кратности воздухообмена), при повреждении фильтра (снижение сопротивления, увеличение коэффициента проскока), при повышении сопротивления фильтров на 50 % и одновременно уменьшении скорости воздушного потока в боксирующих устройствах. В некоторых рабочих комнатах и боксах установлены кондиционеры.

В изоляторах имеется блок для работы с инфицированными животными, автоклавные для обеззараживания, моечные, комнаты для исследования и другие вспомогательные помещения. Животных перед вывозом в научные лаборатории выдерживают в карантине. Помещения карантинного вивария изолированы от других помещений и защищены от проникновения грызунов. В случае обнаружения павшего животного проводится бактериологическое (вирусологическое) и серологическое исследование трупа [11].

Работы, связанные с высоким риском образования аэрозоля (центрифугирование, гомогенизация, измельчение, интенсивное встряхивание, обработка ультразвуком, вскрытие объектов с зараженным материалом), работы с большими объемами и высокими концентрациями ПБА и др. при невозможности их осуществления в боксах биологической безопасности проводятся в отдельных боксированных помещениях. Боксы биологической безопасности должны проверяться на защитную эффективность не реже одного

раза в год при наличии фильтров предварительной очистки воздуха от крупнодисперсных частиц. При проверке определяются эффективность работы фильтров очистки воздуха, скорость воздушного потока в рабочем проеме бокса.

Доставка в лабораторию материала для исследования осуществляется в контейнерах, биксах, в сумках-холодильниках и контейнерах с жидким азотом. Прием и разборка доставленного материала (проб) проводится с соблюдением мер предосторожности.

После завершения работы помещение лаборатории запирается и опечатывается. При наличии коллекции культур микроорганизмов дополнительно опечатываются их хранилища. Опечатывание и снятие печатей производят сотрудники лаборатории, имеющие разрешение руководителя лаборатории.

В нашем институте сотрудники лаборатории обеспечены рабочей одеждой: медицинскими халатами, пижамами (комбинезонами), шапочками, сменной обувью и средствами индивидуальной защиты в зависимости от характера выполняемых работ и в соответствии с действующими нормами.

Дезинфекцию различных объектов осуществляются физическим (УФ-облучение) и химическим (использование растворов дезинфицирующих средств) методами. Для дезинфекции используется только дезинфицирующие средства и оборудования (дезинфекционные камеры, паровые и воздушные стерилизаторы, распыливающие устройства, установки, бактерицидные облучатели, моечные машины и т.д.), разрешенных в установленном порядке к промышленному выпуску и применению в Республике Казахстан.

Методы и средства обеззараживания определяются в каждом отдельном случае в зависимости от характера работы. Выбор дезинфицирующего средства определяется спецификой объектов, подлежащих обеззараживанию, и целевым назначением средства. Для дезинфекции применяются средства, содержащие в качестве действующих веществ (ДВ) активный кислород (перекисные соединения и др.), хлорактивные соединения, спирты (этанол) чаще всего в виде многокомпонентных рецептур, содержащих одно или несколько ДВ и функциональные добавки (антикоррозионные, дезодорирующие, моющие и др.).

Режимы дезинфекции различных объектов организации, контаминированных возбудителями III-IV групп патогенности (бактериями, включая микобактерии, вирусами, грибами и спорами), дезинфицирующими средствами приведены в инструкциях по их применению. Контроль работы паровых и воздушных стерилизаторов, используемых для обеззараживания материалов, проводятся согласно действующим инструктивно-распорядительным и методическим документам физическим, химическим и биологическим методами.

Автоклавирование проводится персоналом, имеющим свидетельство об окончании специальных курсов. Химический (при использовании) и бактериологический (плановый - 2 раза в год) контроль работы стерилизаторов проводятся после монтажа и ремонта, а также в процессе его эксплуатации.

Текущая уборка помещений проводится ежедневно влажным способом после окончания рабочего дня: в «чистой» зоне лаборатории с применением моющих средств, в «заразной» зоне с применением дезинфектантов.

В нашем институте на случай аварии, руководитель подразделения сообщает об аварии комиссии по контролю соблюдения требований биологической безопасности и руководителю организации. В подразделениях, где ведут работы с ПБА, разработаны план ликвидации аварии, запас дезинфицирующих средств, комплекты рабочей и защитной одежды и аптечка. Научно-исследовательские лаборатории, проводящие исследования с микроорганизмами III-IV групп патогенности с измененными свойствами имеют средства для экстренной профилактики и лечения (антибиотики и др.).

Таким образом, рассматриваемые вопросы по выполнению требований по обеспечению биологической безопасности в НИИПББ определены необходимые и достаточные организационно-профилактические и контрольные мероприятия и процедуры по организации работы с микроорганизмами I-IV групп патогенности (опасности). Проанализированы вопросы, касающиеся эксплуатации инженерных систем биологической безопасности и оценки их защитной эффективности, вопросы организации медицинского сопровождения работ и ликвидации последствий чрезвычайных ситуаций биологического характера. Определены подходы и принципы формирования требований к системе биологической безопасности на потенциально опасном биологическом объекте с учетом всего спектра биологических рисков при работе с микроорганизмами. Эффективное решение проблемы в целом смогут обеспечить комплексный подход и реализацию соответствующих необходимых мероприятий в области обеспечения биологической безопасности, создающие условия снижения биологического риска до приемлемого уровня при работе с использованием патогенных микроорганизмов.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Шеина Н.И. Критерии оценки биобезопасности микроорганизмов, используемых в биотехнологической промышленности // Вестник ОГУ. – 2012. - N 6 (142). - 165 с.
- 2 Бекенов А.Е., Айкимбаев А.М., Лухнова Л.Ю. Проблемы биотехнологических исследований двойного использования // Эпидемиология. – 2005. - N 11. - 69 с.
- 3 Ипатов П.Л., Мартенс В.К., Сорокин А.В. и др. Профессиональная надежность персонала АЭС: Концепция и технология количественной оценки, практика управления. – Саратов: Изд-во Сарат. ун-та, 2003. - 232 с.
- 4 Бодров В.А. Психология профессиональной пригодности. – М.: ПЭР СЭ, 2001. - 511 с.
- 5 Руководство по гигиенической оценке факторов рабочей среды и трудового процесса. Критерии и классификация условий труда. Руководство Р 2.2.2006-05 // Бюл. норм. и метод. док. госсанэпиднадзора. – М., 2005. – N (21). – С. 3-144.
- 6 Растунцева Е.В., Тихомирова Л.А. и Сазанова Е.В. Пути снижения рисков инфицирования при обучении работе с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности) // Проблемы особо опасных инфекций. – 2017. – N 3. – С. 80-84. DOI: 10.21055/0370-1069.
- 7 Малюкова Т.А., Бобров А.Ф. и др. Методологические основы оценки надежности профессиональной деятельности персонала, работающего с микроорганизмами I-II групп патогенности. Эпидемиология, биобезопасность // Проблемы особо опасных инфекций. – 2010. – N 103. - 37 с.
- 8 Джайнакбаев Н.Т., Атшабар Б.Б. и др. Обучение правилам биобезопасности и биозащите врачей ПМСП на передвижных медицинских комплексах // Журнал Казахстанско-Российского медицинского университет. – 2014. - N 3-4. - 3 с.
- 9 Руководство по биобезопасности в лабораториях. Второе издание. – Женева, 2003. - 109 с.
- 10 СП «Санитарно-эпидемиологические требования к лабораториям, использующим потенциально опасные химические и биологические вещества» Министра здравоохранения Республики Казахстан от 8 сентября 2017 года № 684.
- 11 Закон Республики Казахстан от 10 июля 2002 года № 339-III О ветеринарии (с изменениями и дополнениями по состоянию на 30.05.2020 года). Закон РК от 29.06.20 г № 351-VI (вводится в действие с 1 июля 2021 года).

УДК 619:616-07

М.Д. Алмежанова, К.Т. Султанкулова

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

ПОДБОР ОПТИМАЛЬНОГО МЕТОДА ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВИРУСА НОДУЛЯРНОГО ДЕРМАТИТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ

Аннотация. При использовании молекулярно-биологических методов, выделение ДНК является определяющим этапом, так как от качества и количества полученных препаратов ДНК во многом зависит результат ПЦР анализа. В данной работе сравнили эффективность выделения ДНК вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота различными способами: тризольный метод с использованием коммерческого реагента TRizol, СТАБ метод и сорбентный метод с использованием частиц кремнезема. Показано, что при выделении ДНК на частицах кремнезема, обеспечивается высокая чувствительность выявления ДНК вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота по сравнению с другими методами. Амплификация экстрагированной ДНК на частицах кремнезема является более эффективной и позволяет получать воспроизводимые результаты высокой степени точности. В перспективе данный метод будет использован для комплектации тест-системы для диагностики нодулярного дерматита крупного рогатого скота. Внедрение методов экспресс-диагностики в практику чрезвычайно важно, так как быстрая и ранняя диагностика позволит своевременно противодействовать распространению инфекции, что в свою очередь повысит уровень эпизоотологической ситуации в стране.

Ключевые слова: нодулярный дерматит, крупный рогатый скот, тест-система, диагностика, амплификация, частицы кремнезема.

М.Д. Алмежанова, К.Т. Султанкулова

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

ПОЛИМЕРАЗДЫ ТІЗБЕКТІ РЕАКЦИЯ КӨМЕГІМЕН ІРІ ҚАРА МАЛДЫҢ ТҮЙІНДІ ДЕРМАТИТ ВИРУСЫН АЙҚЫНДАУ ҮШІН ДНҚ БӨЛҮДІҢ ОҢТАЙЛЫ ӘДІСІН ТАҢДАУ

Анотация. Молекулалық және биологиялық әдістерді қолдану барысында ДНҚ бөлу шешуші кезең болып табылады, өйткені ПТР талдау нәтижесі көбіне алынған ДНҚ препараттарының сапасына және санына байланысты болып келеді. Осы мақалада біз ірі қара малдың түйінді дерматит вирусының ДНҚ-ын әр түрлі әдістермен (TRIZOL коммерциялық реагенті қолданылатын тризол әдісі, СТАБ әдісі және кремнезем бөлшектері қолданылатын сорбентті әдісі) бөлудің тиімділігін салыстырдық. ДНҚ бөлу кезінде кремнезем бөлшектерінде басқа әдістермен салыстырғанда ірі қара малдың түйінді дерматит вирусының ДНҚ-ын анықтау сезімталдығы қамтамасыз етілген. Бөлініп алынған ДНҚ амплификациялануы кремнеземдік бөлшектерді қолданғанда күшейтілуі тиімдірек және жоғары дәлдіктің қайталанатын нәтижелерін алуға мүмкіндік береді. Болашақта бұл әдіс ірі қара малдың түйінді дерматитін балауға арналған сынақ-жүйесін жасау үшін қолданылады. Жедел диагностикалау әдістерін енгізу практикада өте маңызды, өйткені инфекцияны тез және ерте диагностика жасау оның таралуына уақытылы қарсы тұруға мүмкіндік береді, бұл өз кезегінде елдегі эпизоотологиялық және эпизоотологиялық жағдайдың деңгейін арттырады.

Түйін сөздер: түйінді дерматит, ірі қара мал, сынақ-жүйе, диагностика, амплификация, кремнезем бөлшектері.

M.D. Almezhanova, K.T. Sultankulova

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

SELECTION OF AN OPTIMAL DNA EXTRACTION METHOD FOR THE DETECTION OF CATTLE LUMPY SKIN DISEASE VIRUS BY POLYMERASE CHAIN REACTION

Abstract. When using molecular biological methods, DNA extraction is a decisive step, since the result of

PCR analysis largely depends on the quality and quantity of the obtained DNA preparations. In this work, we compared the efficiency of DNA extraction of the cattle lumpy dermatitis virus by various methods: the trizol method using the commercial reagent TRizol, the CTAB method and the sorbent method using silica particles. It is shown that the DNA extraction on silica particles provides a high sensitivity of DNA extraction of the cattle lumpy skin disease virus in comparison with other methods. Amplification of the extracted DNA on silica particles is more efficient and provides reproducible results with a high degree of accuracy. In the future, this method will be used to complete a test system for the diagnosis of lumpy skin disease in cattle. The introduction of methods of express diagnostics into practice is extremely important, since fast and early diagnosis will allow timely counteraction to the spread of infection, which in turn will increase the level of the epizootic situation in the country.

Key words: lumpy skin disease, cattle, test-system, diagnostics, amplification, silica particles.

Введение. Возбудителем болезни нодулярного дерматита (НД) крупного рогатого скота (КРС) является ДНК-содержащий вирус, относящийся к роду *Capripoxvirus* семейства *Poxviridae*. Род *Capripoxvirus* состоит из трех тесно связанных вирусов, а именно оспы овец и оспы коз и нодулярного дерматита КРС. Каприпоксвирусы серологически близки, и поэтому их идентификация основывается на использовании молекулярных инструментов диагностики [1].

Одним из основных этапов проведения молекулярно-генетических исследований является выделение ДНК из биопроб, отобранных от животных. Процесс выделения ДНК в пробах патологического материала (фрагменты тканей (пораженная кожа) и органов, цельная кровь, мазки со слизистых ротоглотки) животных является важнейшим моментом при проведении полимеразной цепной реакции (ПЦР) от которого зависит качество анализа. Используются различные методы выделения ДНК, однако необходимо выбрать самый оптимальный вариант метода выделения в зависимости от поставленных задач. От правильного выбора метода выделения ДНК зависит успешность дальнейших ПЦР реакций и, как следствие – результат анализа.

Наиболее важным моментом при постановке ПЦР, от которого во многом зависит качество анализа, является первый этап, который включает в себя процесс выделения ДНК из биоматериалов животных и определение чистоты, выделенной ДНК.

В настоящее время существуют различные методы, позволяющие выделять нуклеиновые кислоты из широкого спектра образцов, но лишь малое их число пригодно для автоматизации и на многих стадиях выделения есть высокий риск контаминации. Методы выделения ДНК или РНК должны обеспечивать следующие приоритетные требования: лизис биологического материала, селективную экстракцию (сорбцию), концентрирование из больших объемов, отделение компонентов, которые ингибируют ПЦР, разделение ДНК и РНК, высокий процент выхода, возможность калибровки и положительного контроля, отсутствие контаминации, малые временные затраты, возможность автоматизации [2].

Диагностика нодулярного дерматита крупного рогатого скота основана на выявлении вируса данного заболевания с помощью полимеразной цепной реакции [3].

Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) обладает рядом преимуществ по сравнению с традиционным бактериологическим методом выявления сальмонелл, так как сочетает в себе быстроту и простоту исполнения, а также потенциально высокую специфичность и чувствительность при выявлении патогенных микроорганизмов [4].

В задачи наших исследований входили выбор и оценка наиболее оптимального метода выделения ДНК из материалов животных. Для этого были выбраны широко используемые классические методы и коммерческий набор выделения ДНК.

Целью исследования является отработка оптимального способа выделения ДНК вируса нодулярного дерматита КРС из патологических материалов животных.

Методика исследований. В качестве объекта исследований в работе были использованы патматериалы, доставленные из неблагополучных хозяйств по нодулярному дерматиту.

Выделение ДНК. Выделение ДНК вируса нодулярного дерматита КРС проводили следующими методами:

1 Тризольный метод. В работе использовали коммерческий реагент TRizol («Invitrogen», США) в соответствии с инструкцией производителя;

2 Метод с использованием СТАБ (цетилтриметил бромид аммония). СТАБ – классический катионный детергент, используемый при экстракции ДНК. СТАБ лизирует клеточную мембрану, эффективно разрушает ДНК-белковые комплексы [5].

3 Сорбентный метод, с использованием частиц кремнезема. ДНК связывается с кремнеземом под действием высококонцентрированной соли [6].

Контроль качества и количества выделенной ДНК определяли с использованием спектрофотометра NanoDrop 2000 по отношению оптических плотностей при длинах волны 260 нм и 280 нм (E260/E280).

ПЦР-амплификация. Получение ПЦР-фрагментов гена вируса нодулярного дерматита КРС проводили с использованием праймеров: LSDV-2-F (прямой) и LSDV-2-R (обратный). Для амплификации ДНК вируса нодулярного дерматита использовали реакционную смесь объемом 25 мкл, состоящую из Taq ДНК

полимеразы – 0,25 мкл (5 ед/мкл); ×10 ПЦР-буфер – 2,5 мкл; специфические праймеры (20 пМ) LSDV-2-F-5'-ATGATGGTGTGGATACT-3' и LSDV-2-R-5'-GGCATTGATTTTACTGGG-3' – по 1 мкл каждого; смесь дНТФ (10 мМ) – 1 мкл; 25 мМ раствор хлорида магния – 2 мкл; ДНК – 3 мкл; деионизированная вода – 14,25 мкл. Нарботка ПЦР продуктов проведена в термоциклере GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems, США) согласно следующему режиму амплификации: 94 °С – 3 мин, 35 циклов, 94 °С – 20 с, 59 °С – 20 с, 72 °С – 40 с и 72 °С – 7 мин, 4 °С – хранение.

Электрофоретический анализ продуктов амплификации ДНК. Электрофорез продуктов амплификации ДНК вируса нодулярного дерматита проводили в аппарате для горизонтального электрофореза «G-100», фирмы «Pharmacia». Для электрофореза использовали 1,5 % раствор агарозы в ТАЕ-буфере. Документирование полученных результатов проводили при помощи фотографирования гелей, в гель документирующей системе «BioRad». В качестве маркера молекулярных масс использовали «DNA Ladder 1kb» фирмы «Qiagen». Размер ПЦР продукта составляет 347 п.о.

Результаты исследований. Проведено сравнительное изучение трех различных вариантов выделения ДНК вируса нодулярного дерматита КРС: тризольный метод с использованием коммерческого реагента TRIzol, СТАБ метод и сорбентный метод с использованием частиц кремнезема.

При выборе метода выделения ДНК для проведения ПЦР анализа учитывали такие параметры как количество и качество выделенной ДНК. Результаты выделения геномной ДНК из 7 изолятов вируса нодулярного дерматита КРС различными методами показаны на рисунке 1.

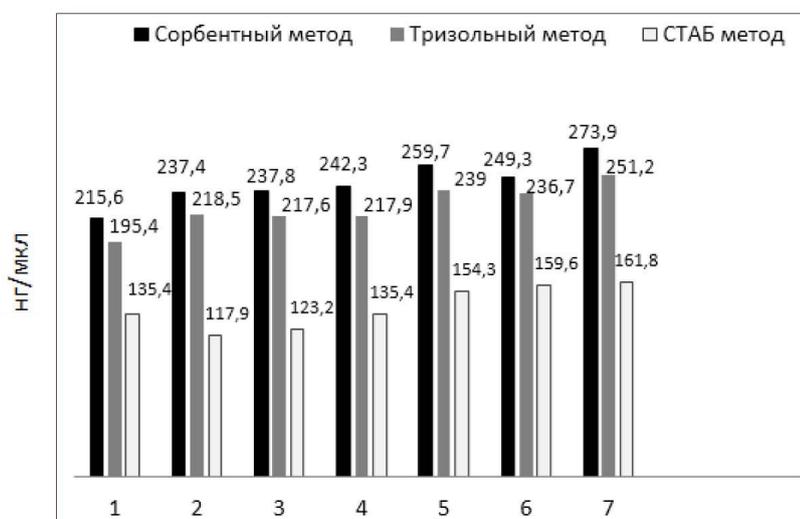
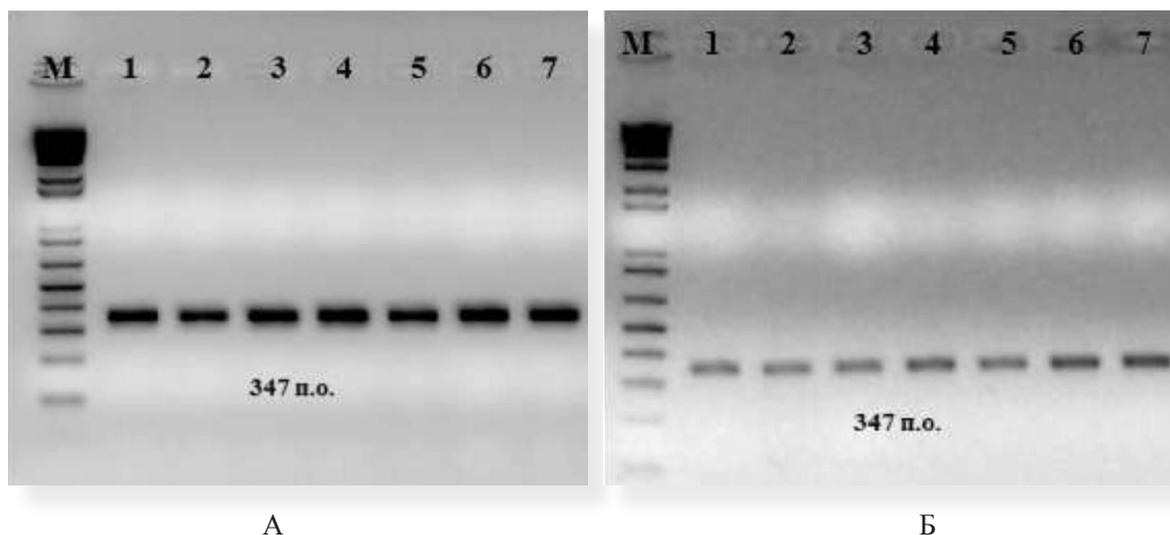


Рисунок 1 – Диаграмма ДНК изолятов вируса нодулярного дерматита КРС (нг/мкл), выделенные различными методами

Проведенные исследования показали, наибольший выход ДНК отмечается при использовании сорбентного метода. Незначительно уступает первому методу – тризольный метод. И меньше всего выход ДНК составил при использовании СТАБ метода.

ПЦР-анализ в значительной степени зависит от качества экстрагированной ДНК. ПЦР амплификацию проводили с

одинаковым объемом образцов ДНК (1 мкл ДНК), полученными различными методами экстрагирования из образцов исследуемого материала: тризольным методом с использованием коммерческого реагента TRIzol, СТАБ методом и сорбентным методом с использованием частиц кремнезема. Результаты представлены на рисунке 2.



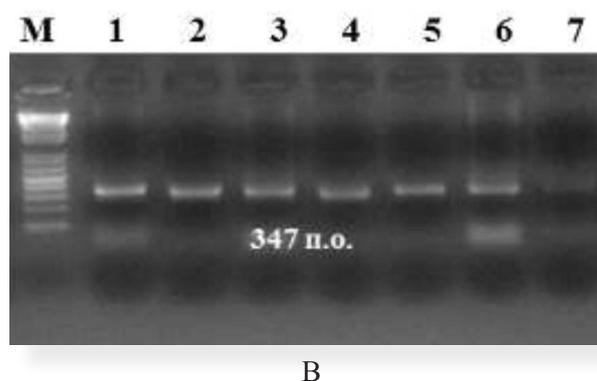


Рисунок 2 – Электрофореграмма ДНК вируса нодулярного дерматита КРС в агарозном геле, полученная сорбентным методом, с использованием частиц кремнезема (А), тризольным методом с использованием коммерческого реагента TRizol (Б) и СТАБ методом (В)

Из рисунка 2 видно, что генетический материал высокого качества и достаточной концентрации для ПЦР анализа были получены сорбентным методом, с использованием частиц кремнезема (А). При этом следует отметить, что концентрация ДНК в препаратах, полученных с применением сорбентного метода в 1,65 раза ниже чем в препаратах, полученных с применением реагента TRizol (Б) и в 1,75 раз ниже чем в препаратах при СТАБ методе (В).

Незначительная ингибция ПЦР в образцах ДНК, полученных тризольным методом с использованием коммерческого реагента TRizol и СТАБ методом, возможно связана с избытком ДНК, являющимся ингибитором ПЦР.

Обсуждение результатов. Основным критерием в методах выделения ДНК является то, что нуклеиновая кислота должна быть максимально очищенной от примесей клеточных ДНК и белков. Выделенная геномная ДНК должна быть нефрагментированной, так как она служит матрицей для синтеза специфического продукта [7]. Такой результат обеспечивает использование сорбентного метода с помощью частиц кремнезема. При использовании данного метода белки и составляющие клеток удаляются, и остается максимально очищенная ДНК. Преимуществами метода экстракции ДНК с помощью частиц кремнезема является: минимизация потерь в ходе выделения ДНК; уменьшение риска перекрестной контаминации за счет того, что весь нуклеиновый материал связывается с сорбентом; высокая чистота конечного продукта [8]. Данный метод в отличие от остальных методов не требует использования токсичных реактивов.

Эффективность процесса выделения ДНК является определяющим фактором в условиях работы с небольшим количеством материала, либо образцами, содержащими значительное количество ингибиторов, что может приводить к снижению диагностической чувствительности теста и подавлению процесса амплификации [9]. Правильно выбранный метод выделения ДНК дает возможность добиться максимально точного результата полимеразной цепной реакции.

Заключение. На основании проведенных исследований можно заключить, что для выделения ДНК вируса нодулярного дерматита КРС наиболее приемлем сорбентный метод с использованием частиц кремнезема. В перспективе данный метод возможно использовать для комплектации тест-системы для диагностики нодулярного дерматита крупного рогатого скота.

Таким образом, одним из надежных инструментов молекулярной диагностики нодулярного дерматита КРС считается метод постановки ПЦР.

Источник финансирования. Работа выполнена в рамках программно-целевого финансирования О.0878 «Ветеринарная безопасность территории Республики Казахстан: эпизоотологический мониторинг, испытание, внедрение и коммерциализация средств специфической профилактики и диагностики особо опасных инфекционных заболеваний» (ИРН BR06249226) при финансировании Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан договор № 28 от 10 сентября 2018 года.

ЛИТЕРАТУРА

1 Le Goff C., Lamien C.E., Fakhfakh E., Chadeyras A., Aba-Adulugba E., Libeau G., Tuppurainen E., Wallace D.B., Adam T., Silber R., Gulyaz V., Madani H., Caufour P., Hammami S., Diallo A., Albina E. Capripoxvirus G-protein-coupled chemokine receptor: a host-range gene suitable for virus animal origin discrimination // J Gen Virol. - 2009. – Vol. 90.

2 Нургалиева М.Т., Жансеркенова О.О., Усенбеков Е.С., Касымбекова Ш.Н., Смагулов А.К. Методы выделения нуклеиновых кислот для проведения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени // Издәністер, нәтижелер – Исследования, результаты. – 2016. – N 3 (71). – С. 68-72.

3 Алмежанова М.Д., Шораева К.А., Шыныбекова Г.О., Червякова О.В., Султанкулова К.Т. Определение

специфичности и чувствительности метода ПЦР для лабораторной диагностики нодулярного дерматита КРС // Вестник Государственного Университета имени Шакарима города Семей. – 2019. – N 2. – С. 387-391.

4 Herrera-Leo S., McQuiston J.R., Usera M.A. Multiplex PCR for Distinguishing the Most Common Phase-1 Flagellar Antigens of Salmonella spp // J. Clin. Microbiol. - 2004. – Vol. 42. - P. 2581-2586.

5 Scott O. Rogers, Arnold J. Bendich Extraction of DNA from milligram amounts of fresh, herbarium and mummified plant tissues // Plant Molecular Biology. – 1985. – Vol. 5. - P 69-76.

6 Капустин Д.В., Простякова А.И., Алексеев Я.И. Высокоэффективный метод одностадийного выделения ДНК для ПЦР-диагностики Mycobacterium tuberculosis // Acta naturae. - 2014. – N .2 (21). - С 52-57.

7 Киркимбаева Ж.С., Ермагамбетова С.Е., Бияшев К.Б. Сравнительное изучение эффективности различных методов выделения ДНК лептоспир // Издәністер, нәтижелер – Исследования, результаты. - 2016. – N 4 (72). – С. 50-54.

8 <https://docplayer.ru/429091-Probopodgotovka-metody-vydeleniya-dnk-rnk>.

9 www.dna-technology.ru.

УДК 578.322

Е.Д. Бурашев, А.У. Исабек, С.О. Садикалиева, М.М. Касенов, К.Т. Султанкулова

РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК,
Жамбылская область, пгт. Гвардейский, Казахстан
E-mail: yerbol.bur@gmail.com

ВЫБОР МЕТОДА И ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ОЧИСТКИ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ

Аннотация. В последние годы интенсивное развитие получила металлаффинная хроматография, в основе которой лежит различное сродство гетероатомов органических соединений к ионам металлов. В данной статье представлены результаты очистки поверхностного белка гемагглютиниона вируса гриппа птиц. Для получения белков, чистотой не менее 95 %, были использованы методы гельфильтрации, ионообменной и аффинной хроматографии. Наиболее оптимальные показатели были получены при обработке методом аффинной хроматографии с ионами Co^{2+} в качестве адсорбента.

Ключевые слова: вирус гриппа, белок, очистка, гельфильтрация, хроматография.

Е.Д. Бурашев, А.У. Исабек, С.О. Садикалиева, М.М. Касенов, К.Т. Султанкулова

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

ҚҰС ТҰМАУ ВИРУСЫНЫҢ РЕКОМБИНАНТТЫ АҚУЫЗДАРЫН ТАЗАЛАУ ӘДІСІН ТАҢДАП ЖӘНЕ ОНЫҢ ТИІМДІ ШАРТТАРЫН АНЫҚТАУ

Аннотация. Соңғы жылдары органикалық қосылыстардың гетероатомдарының металл иондарына әр түрлі жақындығына негізделген металлаффинділік хроматографиясы қарқынды дамуда. Бұл мақалада құс тұмауы вирусының гемагглютиниінің беткі ақуызын тазарту нәтижелері келтірілген. Тазалығы 95 %-дан кем емес ақуыздарды алу үшін гельді фильтрация, ионалмасу және аффинді хроматография әдістері қолданылды. Оңтайлы нәтижелер адсорбент ретінде Co^{2+} иондарымен аффиниттік хроматография әдісімен жұмыс барысында алынды.

Түйін сөздер: тұмау вирусы, ақуыз, тазарту, гельфильтрация, хроматография.

Y.D. Burashev, A.U. Isabek, S.O. Sadikalieva, M.M. Kassenov, K.T. Sultankulova

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

CHOICE OF METHOD AND OPTIMIZATION OF THE CONDITIONS FOR PURIFICATION OF RECOMBINANT PROTEINS OF THE AVIAN INFLUENZA VIRUS

Abstract. In recent years, metalaffinity chromatography has undergone intensive development, which is based on the different affinity of heteroatoms of organic compounds for metal ions. This article presents the

results of purification of the surface protein of the avian influenza virus hemagglutinin. To obtain proteins with a purity of at least 95 %, methods of gel filtration, ion-exchange and affinity chromatography were used. The most optimal indicators were obtained when working out by the method of affinity chromatography with Co²⁺ ions as an adsorbent.

Key words: influenza virus, protein, purification, gel filtration, chromatography.

Введение. Грипп птиц – высококонтагиозная вирусная инфекция, которая может поражать все виды пернатых. Наиболее чувствительными из домашних видов являются индюки и куры. Дикие виды птиц могут служить переносчиками инфекции. В силу естественной резистентности они сами, как правило, при этом не заболевают и могут преодолевать в процессе миграции значительные расстояния [1, 2].

Возбудитель инфекции принадлежит к вирусам гриппа типа А семейства *Orthomyxoviridae*. Существует несколько подтипов возбудителя, которые определяются в зависимости от особенностей антигенной структуры гемагглютинина (H) и нейраминидазы (N). В настоящее время известно 18 подтипов H (H1-H18) и 11 подтипов нейраминидазы (N1-N11), которые могут реассортировать в различных комбинациях. Четыре из них (H3 N8, H1N1, H2N2, H3N2) явились возбудителями гриппозных пандемий среди людей в XX столетии, другие – вызывают заболевания среди млекопитающих и птиц [3]. Среди наиболее патогенных для домашних птиц выделяются вирусы с антигенной формулой H7N7 (вирус «куриной чумы») и H5N1, способные вызывать поголовную гибель кур. Высоко патогенные варианты вируса гриппа H7N7 вызвали в 2003 году повсеместное поражение фермерских куриных хозяйств в Нидерландах, тогда как вирусы H5N1 явились причиной гибели миллионов птиц в странах Юго-Восточной Азии, начиная с 1997 года [4].

Учитывая высокую изменчивость вируса гриппа возникает постоянная необходимость разработки средств специфической профилактики. При разработке вакцинных либо диагностических препаратов основным требованием является высокая степень чистоты вирусных и белковых препаратов.

В вирусологической практике в настоящее время существуют множество методов очистки, рекомбинантные белки, используемые для диагностических препаратов, должны обладать высокой степенью чистоты, что требует нескольких хроматографических шагов. Для очистки белков чаще всего используется система FPLC (Fast Protein Liquid Chromatography). Одним из наиболее популярных инструментов для очистки белков в современной кристаллографической лаборатории является FPLC АКТА. Эта высокоавтоматизированная система позволяет не только оперировать несколькими хроматографическими колонками одновременно, но и обладает большим количеством датчиков, записывающих все параметры данных шагов очистки [5].

Материалы и методы исследований. В качестве объекта исследований в работе были использованы рекомбинантные первые субъединицы гемагглютинина вирусов гриппа птиц А/Н5 следующих штаммов: 1 – А/лебедь шипун/Мангистау/3/06 (H5N1); 2 – А/курица/СКО/ 5/05 (H5N1); 3 – А/мартын/Костанай/7/07 (H5N1).

Получение очищенных белковых препаратов. Для очистки рекомбинантного белка осадок клеток ресуспендировали в буфере (100 мМ Трис НСl рН 8.0, 150 мМ NaCl, 1 % тритон X-100, 1 % ДОХ) из расчета 15 мл на 1 г сырого клеточного осадка. К полученной суспензии добавляли лизоцим до конечной концентрации 1 мг/мл. Лизис клеток осуществляли путём двукратного замораживания (-70 °С) – оттаивания (+37 °С) суспензии. Фракцию растворимых белков получали центрифугированием лизата клеток при 10000× g в течение 20 мин. Очистку белка проводили методом металло-аффинной хроматографии с использованием HisPur™ Cobalt Superflow Agarose (Thermo Scientific, США) в нативных условиях, согласно рекомендациям производителя [6]. Для солиubilизации белка использовали буфер NBB [50 мМ NaH₂PO₄, 300 мМ NaCl, 8М мочевины, рН 7,4]. Проводили трехкратную отмывку агарозы буфером NWB [20 мМ NaH₂PO₄, 300 мМ NaCl, 15 мМ имидазол, рН 7,4]. Белки элюировали буфером NEB [20 мМ NaH₂PO₄, 300 мМ NaCl, 500 мМ имидазол, рН 7,4]. Электрофоретическое разделение белков проводили в ДСН-ПААГ в денатурирующих редуцирующих условиях по Laemmli [7, 8]. Для визуализации белков использовали окрашивание Coomassie G-250.

Основные результаты исследований. *Выбор метода очистки рекомбинантных белков.* Выбор метода очистки белка является ключевым моментом наших работ. Основными критериями при выборе метода служили: степень чистоты не менее 95 %; максимально возможный выход белка; минимизирование физического воздействия на целевой белок. В целях получения чистого белка были проведены работы по очистке белков несколькими методами.

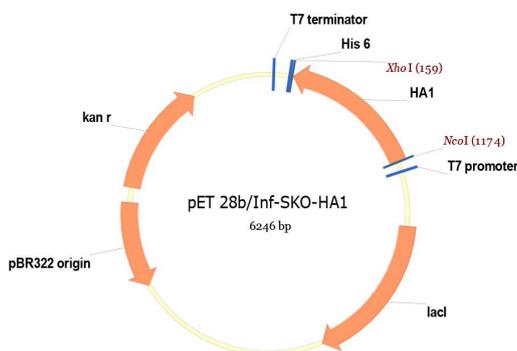
Нами были проведены работы по очистке белка методом гельфильтрации. С помощью метода гельфильтрации можно быстро разделить макромолекулы в соответствии с их размерами. Носителем для хроматографии является гель, который состоит из поперечно-сшитой трехмерной молекулярной сетки, сформированной в виде шариков (гранул) для удобства наполнения колонок. Нами в качестве геля был использован биогель Р-60 Bio-Rad, сополимер акриламида с бисакриламидом. Набухание геля водой длилось в течение 8 часов. Область разделения белком использованного нами биогеля составляет от 30 до 70 кДа, масса синтезируемого нами белка теоретически составляет 45 кДа. Элюирование белка проводили буферным раствором. В результате проведения данных работ установили, что итоговый выход

белка не обладает требуемой для дальнейшей кристаллизации чистотой. Было определено, что через гель проходят и другие сопутствующие белки. Таким образом, было установлено, что, белок полученный методом гель-фильтрации не подходит для дальнейшей кристаллизации белка [9].

В целях увеличения степени чистоты белка использовали метод разделения белков путем адсорбции. В качестве адсорбентов использовали ДЭАЭ-целлюлозу (ионообменники) и ионы Co^{2+} (аффинная хроматография). При адсорбции белка ДЭАЭ-целлюлозой использовали 20 мМ трис-буфер pH 8,0. Элюировали белок 10 М NaCl, при такой ионной силе элюируются практически все белки. В результате очистки белка ДЭАЭ-целлюлозой наблюдали лишь частичную адсорбцию белка, для полноценной адсорбции требовалось понижение pH до 5,5, что является нежелательным. Резюмируя, вышеописанное установили, что использование в качестве адсорбента ДЭАЭ-целлюлозы является не эффективным.

Также в качестве адсорбента использовали ионы Co^{2+} . В настоящий момент наиболее эффективным и самым широко распространенным методом очистки белков является метод аффинной хроматографии.

Металл-аффинная хроматография является высокоспецифичным и надежным методом очистки рекомбинантных белков вследствие относительно высокого сродства и специфичности некоторых металлов к эпитопу, содержащему шесть или более остатков гистидина. При создании генетической конструкции для экспрессии целевого гена в состав нуклеотидной последовательности нами были включены участки, кодирующие гексагистидиновые таги (рисунок 1). Это позволит использовать для очистки целевого белка метод металл-аффинной хроматографии.



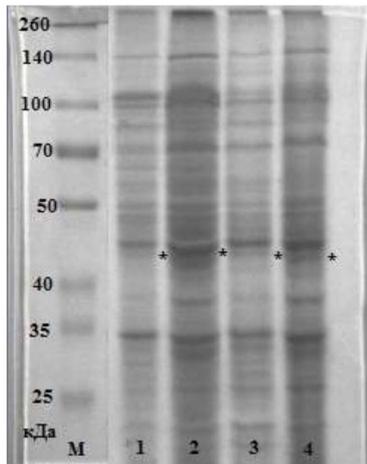
pBR322 origin- сайт начала репликации, kan r - ген устойчивости к канамицину, lacI-ген репрессора лактозного оперона, T7 promoter – промотор фага T7, T7 terminator – терминатор транскрипции фага T7, HA1 – встроенный рекомбинантный ген HA1, His6 – последовательность кодирующая гексагистидиновый таг

Рисунок 1 – Карта плазмиды pET28/Inf-SKO-HA1

Очистка белков, содержащих в своей структуре таги, достаточно проста, и можно сэкономить много времени благодаря высокой специфичности метки рекомбинантного белка и лиганда иммобилизованного на хроматографическом сорбенте. Чистота выделенного с помощью аффинной хроматографии белка может достигать 95 %. Конечно же, дальнейшая очистка рекомбинантного белка необходима, если требуется большая степень чистоты, но применение аффинной метки (или тага) позволяет уже на первом этапе очистки избавиться от большинства примесных белков, облегчает и дальнейшую очистку [10].

При очистке белка методом металл-аффинной хроматографии были получены белки с чистотой не менее 95 %, также в ходе процесса не было наблюдалось воздействие на белок жестких условий. Таким образом, нами был выбран метод металл-аффинной хроматографии для очистки белка. В качестве адсорбента использовали ионы Co^{2+} .

Оптимизация условий очистки рекомбинантных белков. Связывание белка на металл-хелатном сорбенте обычно происходит в интервале pH 5.5-8.5 (зависит от сорбента), но оно сильнее при щелочном pH. Рекомендуемые буфера – ацетат натрия (50 мМ) и фосфат натрия (10-200 мМ), Tris-HCl (20-50 мМ), HEPES (20 мМ). В образце, наносимом на колонку, не должны присутствовать такие хелатирующие агенты, как EDTA или цитрат. Необходимо добавлять в образец NaCl до концентрации 0.15-0.5 М для того, чтобы увеличить ионную силу раствора белка и минимизировать неспецифические ионные взаимодействия с аффинной матрицей. Присутствие детергентов и денатурирующих агентов обычно не влияет на сорбцию белков.



M – маркер молекулярного веса белков; 1 – адсорбция буфером при pH 5,5; 2 - адсорбция буфером при pH 6,5; 3- адсорбция буфером при pH 7,5; 4 - адсорбция буфером при pH 8,5

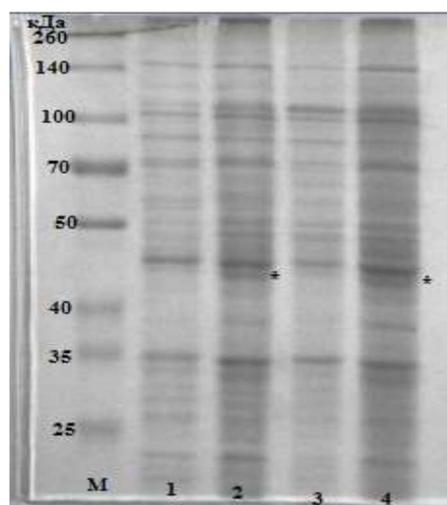
Рисунок 2 – Результаты оптимизации условий очистки белка

Нами было протестировано связывание белка в натрий-фосфатном буфере (50 мМ) и в Tris-HCl (20 мМ) буфере. В итоге установили, что использование натрий- фосфатного буфера является более эффективным. Также были апробированы натрий-фосфатные буферы с разным значением pH (5,5; 6,5; 7,5; 8,5). В результате апробации было установлено, что pH 7,5

является оптимальным значением (рисунок 2). Чем интенсивнее бэнд на геле, тем хуже прошло связывание белка.

Обсуждение полученных данных. Получение очищенных белковых препаратов. Решение о том, следует ли очищать 6xHis-меченные белки в нативных или денатурирующих условиях зависит от местоположения и растворимости белка, доступности метки 6xHis, последующее применение и необходимость сохранения биологической активности. Поскольку взаимодействие между сорбентом и меткой 6xHis рекомбинантного белка не зависит от третичной структуры, белки могут быть очищены либо в нативной, либо в денатурирующей форме условия. Чтобы установить наилучшую стратегию очистки, важно определить, является ли белок растворимым в цитоплазме или находится в цитоплазматических тельцах включения. Многие белки образуют тельца включения, когда они экспрессируются в высокий уровень бактерий, в то время как другие хорошо переносятся клеткой и остаются в цитоплазме в их родной конфигурации. Белки, которые содержат соответствующий лидерный пептид в последовательности могут секретироваться в периплазматическое пространство, но это зависит от клетки-хозяина и о природе как лидерного пептида, так и рекомбинантного белка.

С целью выбора условий очистки рекомбинантного белка HA1 определили его растворимость при экспрессии в клетках *E. coli*.



М – маркер молекулярного веса белков; 1 - лизат клеток до индукции экспрессии; 2 - лизат клеток после индукции экспрессии; 3- нерастворимая фракция белков (включения); 4 - растворимая фракция белков

Рисунок 3 – Определение растворимости рекомбинантного белка (HA1) штамма вируса гриппа А/лебедь шипун/Мангистау/3/06 (H5N1)

М – маркер молекулярного веса белков; 1 - лизат клеток до индукции экспрессии (штамм А/курица/СКО/5/05 (H5N1)); 2- растворимая фракция белков ((штамм А/курица/СКО/5/05 (H5N1)); 3 - нерастворимая фракция белков (включения) (штамм А/курица/СКО/5/05 (H5N1)); 4 - лизат клеток до индукции экспрессии (штамм А/мартын/Костанай/7/07 (H5N1)); 5 - растворимая фракция белков ((штамм А/мартын/Костанай/7/07 (H5N1)); 6 - нерастворимая фракция белков (включения) (штамм А/мартын/Костанай/7/07 (H5N1))

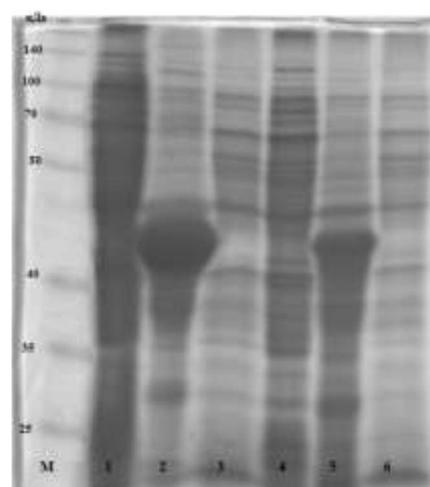
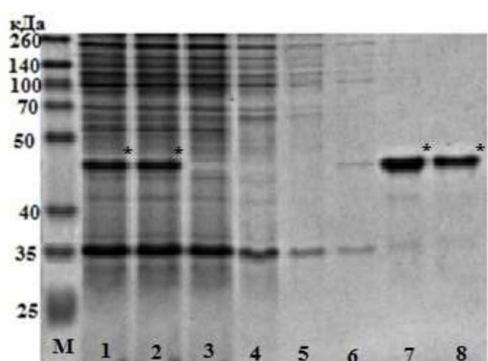


Рисунок 4 – Определение растворимости рекомбинантных белков (HA1) штаммов вируса гриппа А/мартын/Костанай/7/07 (H5N1) и А/курица/СКО/5/05 (H5N1)

Как видно из рисунков 3 и 4, целевой белок накапливается в клетке в растворимой форме, следовательно, очистку белка проводили в нативных условиях. Приблизительный размер белков составил 45 кДа.

Эндогенные белки с остатками гистидина, которые взаимодействуют с группами сорбента, могут быть удалены путем снижения pH промывочного буфера до 6,3 или путем добавления имидазола в концентрации 10-50 мМ. В бактериальных системах экспрессии рекомбинантные белки обычно экспрессируются на высоких уровнях, а уровень загрязняющие белки относительно низкий. Поэтому, как правило, нет необходимости промывать связанный 6xHis-меченный белок в очень жестких условиях. Нами не проводились процедуры промывки белков при пониженной концентрации буфера так как, в результате промывки буфером при pH 7,4 уровень загрязнения сопутствующими белками был почти нулевой.



М – маркер молекулярного веса белков; 1 - клеточный лизат; 2 – клеточный лизат после фильтрации; 3 – пропуск через колонку; 4-6 - промывки; 7-8 - элюирование белка

Рисунок 5 – Электрофоретический анализ белковых фракций в процессе очистки целевого белка HA1 штамм А/лебедь шипун/Мангистау/3/06 (H5N1)

М – маркер молекулярного веса белков; 1 - клеточный лизат; 2 – проскок через колонку; 3-5 - промывки; 6-7 - элюирование белка

Рисунок 6 – Электрофоретический анализ белковых фракций в процессе очистки целевого белка HA1 штамм А/мартын/Костанай/7/07 (H5N1)

Из рисунков 5-7 видно, что использованный метод очистки позволил получить препараты рекомбинантных белков с чистотой не менее 95 %. При снижении рН (рН 4,5–5,3) 6xHis-тегированный белок больше не может связываться с ионами кобальта и будет диссоциировать от смолы.

М – маркер молекулярного веса белков; 1 – общий пул клеток; 2 – клеточный лизат до фильтрации; 3 – клеточный лизат после фильтрации; 4 – проскок через колонку; 5-7 - промывки; 8-11 - элюирование белка

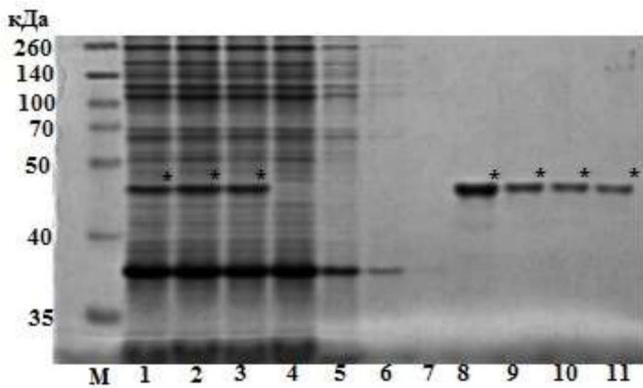


Рисунок 7 – Электрофоретический анализ белковых фракций в процессе очистки целевого белка HA1 штамм А/курица/СКО/5/05 (H5N1)

Аналогично, если концентрация имидазола увеличивается до 100-250 мМ, 6xHis-тегированный белки также будут диссоциировать, потому что они больше не могут конкурировать за сайты связывания на смоле. Условия элюирования являются высоко воспроизводимыми, но должны быть определены для каждого 6xHis-тегированного белка. Мономеры обычно элюируются при рН примерно 5,9, тогда как агрегаты и белки, которые содержат более одной

метки 6xHis, элюируются при рН приблизительно 4,5. Реагенты, такие как EDTA или EGTA, хелатируют ионы кобальта и удаляют их из NTA группы. Это приводит к тому, что 6xHis-меченный белок элюируется в виде белково-металлического комплекса. При элюировании белков нами был использован буфер с содержанием 500 мМ имидазола и рН 7,4.

Очищенный рекомбинантный белок содержит значительные количества низкомолекулярных примесей, прежде всего солей. Избавиться от них можно диализом препарата. Раствор белка помещают в диализный мешок либо диализную кассету, стенки которого представляют собой полупроницаемую целлюлозную мембрану, не пропускающую молекулы размером более 15-20 кДа. Низкомолекулярные вещества в результате осмоса могут проходить через мембрану в буфер. Обессоленный раствор белка, молекулы которого имеют размер больше чем 20 кДа, остается в диализном мешке.

Заключение. Как известно, что основными критериями при выборе метода служили степень чистоты не менее 95 %, максимально возможный выход белка, минимизирование физического воздействия на целевой белок и в этой связи были проведены работы по очистке белков несколькими методами, среди которых был выбрана металл-аффинная хроматография для очистки рекомбинантных белков, являющийся наиболее высокоспецифичным и надежным вследствие относительно высокого сродства и специфичности некоторых металлов к эпитопу, содержащему шесть или более остатков гистидина.

В целях увеличения степени чистоты белка использовали метод разделения белков путем адсорбции. В качестве адсорбентов использовали ДЭАЭ-целлюлозу и ионы Co^{2+} . В результате очистки белка ДЭАЭ-целлюлозой наблюдали лишь частичную адсорбцию белка, для полноценной адсорбции требовалось понижение рН до 5,5, что является нежелательным. Резюмируя, вышеописанное установили, что использование в качестве адсорбента ДЭАЭ-целлюлозы является не эффективным. Однако при очистке белка методом металл-аффинной хроматографии были получены белки с чистотой не менее 95 %, также в ходе процесса не было наблюдалось воздействие на белок жёстких условий. Таким образом, нами был выбран метод металл-аффинной хроматографии для очистки белка. В качестве адсорбента использовали ионы Co^{2+} .

Рекомендованным рН при связывании белка на металл-хелатном сорбенте обычно происходит в интервале 5.5-8.5, но в результате исследований было установлено, что оно сильнее при щелочном рН., с

использованием буферов как: ацетат натрия (50 мМ) и фосфат натрия (10-200 мМ), Tris-HCl (20-50 мМ), HEPES (20 мМ). Также было определено, что необходимо добавлять в образец NaCl до концентрации 0.15–0.5 М для того, чтобы увеличить ионную силу раствора белка и минимизировать неспецифические ионные взаимодействия с аффинной матрицей.

Нами было протестировано связывание белка в натрий-фосфатном буфере (50 мМ) и в Tris-HCl (20 мМ) буфере. В итоге установили, что использование натрий-фосфатного буфера является более эффективным. Также были апробированы натрий-фосфатные буферы с разным значением рН (5,5; 6,5; 7,5; 8,5). В результате апробации было установлено, что рН 7,5 является оптимальным значением.

Резюмируя вышеизложенные данные можно заключить, что выбранный метод металл-аффинной хроматографии для очистки рекомбинантных белков, является наиболее высокоспецифичным и надежным вследствие относительно высокого сродства и специфичности некоторых металлов к эпитопу, содержащему шесть или более остатков гистидина;

Получены очищенные белковые препараты с чистотой не менее 95 % и определена специфичность синтезируемого белка методом иммунодетекции.

ЛИТЕРАТУРА

1 Онищенко Г.Г. Изучение высокопатогенного H5N1 вируса гриппа, выделенного от больных и погибших птиц в Западной Сибири.

2 Львов Д.К. Вирусы гриппа: события и прогнозы электронный ресурс // vivovoco. rsl.ru.

3 Horimoto T., Kawaoka Y. Pandemic threat posed by avian influenza A viruses // Clin Microbiol Rev. – 2001. – Vol. 14 (1). – P. 129-149.

4 Sang Heui Seo, Robert G. Webster Cross-reactive, cell-mediated immunity and protection of chickens from lethal H5N1 influenza virus infection in Hong Kong poultry markets // Journal of Virology. – 2001. – Vol. 75, N 6. – P. 2516-2525.

5 Jody K. Dybing, Stacey Schultz-Cherry, David E. Swayne, David L. Suarez, Michael L. Perdue distinct pathogenesis of Hong Kong-Origin H5N1 viruses in mice compared to that of other highly pathogenic H5 avian Influenza viruses // Journal of Virology. – 2000. – Vol. 74, N 3. – P. 1443-1450.

6 Hochuli E., Bannwarth W., Dobeli H., Gentz R., Stuber D. Genetic approach to facilitate purification of recombinant proteins with a novel metal chelate adsorbent // Biotechnology. – 1988. – Vol. 6. – P. 1321-1325.

7 Пат. 1834289 Российская Федерация, Способ концентрирования вирусов / Бахуташвили Т.О., Гусев А.А., Дудников А.И., Михалишин В.В., Шипилов В.И. - 2002.

8 Исмагамбетов Б.М., Кошематов Ж.К., Богданова М.И., Наханова Г.Д., Нурабаев С.Ш., Сейсенбаева М.С., Сансызбай А.Р., Касенов М.М. Получение диагностических препаратов к подтипам вируса гриппа типа А // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. Сер. Биол. науки. – 2017. - N 10. – С. 260-264.

9 Кызин А.А., Загидуллин Н.В., Гелич Л.В., Тимербаева Р.Х., Исрафилов А.Г. Очистка и концентрирование вируса гриппа методом микро- и ультрафильтрации // Вестн. Башкир. ун-та. – 2014. - N 19 (4). – С. 1223-1227.

10 Пат. 2130069 Способ концентрирования вируса / Лозинский В.И., Плиева Ф.М., Исаева Е.И., Зубов А.Л. – 2013. <http://www.findpatent.ru/patent/213/2130069.html>.

УДК 633.1

А.Д. Мауленбай, А.С. Рсалиев

РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Казахстан
E-mail: maulenbay.id@gmail.com

ВИРУЛЕНТНОСТЬ ИЗОЛЯТОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ СЕПТОРИОЗА К СОРТАМ ПШЕНИЦЫ

Аннотация. На основе фитопатологических подходов была изучена вирулентность изолятов возбудителя септориоза листьев к сортам пшеницы, в том числе с генами устойчивости *Stb*. Изучение вирулентности изолятов *Zymoseptoria tritici* из различных регионов Казахстана показало, что патоген отличается значительным разнообразием по признакам вирулентности в зависимости от региона и изолята гриба. Высокой устойчивостью к септориозу листьев в фазе проростков отличались сорта с пирамидой генов: Salamouni (*Stb13, Stb14*), Целинная Юбилейная (*Stb1, Stb7*), Лютесценс 363/96-4 (*Stb5, Stb7*), Дельта (*Stb1, Stb7*) и Лира (*Stb5, Stb7*).

Ключевые слова: пшеница, сорт, септориоз, гены, вирулентность, изоляты.

А.Д. Мауленбай, А.С. Рсалиев

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

СЕПТОРИОЗ ҚОЗДЫРҒЫШЫ ИЗОЛЯТТАРЫНЫҢ БИДАЙ СОРТТАРЫНА ВИРУЛЕНТТІЛІГІ

Фитопатологиялық тәсілдер негізінде септориоз қоздырғышы изоляттарының бидай сорттарына, соның ішінде *Stb* төзімділік гені бар формаларға вируленттілігі зерттелді. Қазақстанның түрлі аймақтарынан бөлініп алынған *Zymoseptoria tritici* изоляттарының вируленттілігін зерттеу барысында, шыққан аймағына және саңырауқұлақ изолятына байланысты патогеннің вируленттілік қасиеттері әртүрлі болып сипатталды. Өскіндік фазада гендер пирамидасы бар Salamouni (*Stb13, Stb14*), Целинная Юбилейная (*Stb1, Stb7*), Лютесценс 363/96-4 (*Stb5, Stb7*), Дельта (*Stb1, Stb7*) және Лира (*Stb5, Stb7*) сорттары жапырақ септориозына жоғары төзімділік танытты.

Түйін сөздер: бидай, сорт, септориоз, гендер, вируленттілік, изоляттар.

A.D. Maulenbay, A.S. Rsaliyev

RSE «Research institute for biological safety problems» SC MES RK, pgt. Gvardeisky, Kazakhstan

VIRULENCE OF SEPTORIA PATHOGEN ISOLATES TO WHEAT VARIETIES

Abstract. Based on phytopathological approaches, the virulence of isolates of septoria leaf spot pathogen to wheat varieties, including those with *Stb* resistance genes, was studied. The study of *Zymoseptoria tritici* isolates virulence from different Kazakhstan regions showed distinguishing of the pathogen by significant diversity in terms of virulence, depending on the area and the isolate of the fungus. Varieties with a gene pyramid: Salamouni (*Stb13, Stb14*), Tselinnaya Yubileynaya (*Stb1, Stb7*), Lutescens 363/96-4 (*Stb5, Stb7*), Delta (*Stb1, Stb7*) and Lyra (*Stb5, Stb7*) were differed by high resistance to septoria leaf spot in the seedling phase.

Key words: wheat, variety, septoria, genes, virulence, isolates.

Введение

Наиболее вредоносными заболеваниями пшеницы во многих странах мира, в том числе в Казахстане являются септориозные пятнистости колосковых пленок и листьев, вызываемые *Parastagonospora nodorum*, а также септориоз листьев, вызываемая *Zymoseptoria tritici* [1, 2]. В 2018-2019 годы развитие септориоза часто отмечено как на севере и востоке, так и на юге и юго-востоке республики [3], что указывает на расширение ареала этого патогена, поскольку ранее считалось, что основным ареалом развития этой болезни являются северные регионы Казахстана [1, 2]. Причинами развития болезни в Казахстане являются минимальная обработка почвы с сохранением стерни, монокультура пшеницы и возделывание неустойчивых к патогену сортов [2, 4].

Известно, что вредоносность болезней зависит от многих факторов, в том числе от вирулентности

патогена и сортовых особенностей культуры. В связи с этим нами проведены исследования по изучению вирулентности казахстанских изолятов септориоза к сортам пшеницы в период проростков.

Материалы и методы. Для выполнения экспериментов были подобраны 20 сортов/линий озимой и яровой пшеницы: Salamouni, Акмола 2, Астана, Саратовская 29, Карабалыкская 92, Асыл Сапа, Августина, Омская 36, Целинная Юбилейная, Лютесценс 363/96-4, Стекловидная 24, Безостая 1, Алмалы, Нуреке, Ак Дан, Жалын, Жетысу, Мереке, Дельта и Лира. Среди них по литературным данным 5 сортов являются носителями определенных генов устойчивости к септориозу, в частности, сорт Salamouni содержит гены *Stb13*, *Stb14*, Целинная Юбилейная – *Stb1*, *Stb7*, Дельта – *Stb1*, *Stb7*, Лира – *Stb5*, *Stb7*, и Лютесценс 363/96-4 – *Stb5*, *Stb7*, соответственно [5-7]. В качестве инфекционного материала были использованы 10 изолятов возбудителя *Zymoseptoria tritici*, выделенных из образцов популяции гриба, собранных в Жамбылской, Костанайской и Акмолинской областях в 2018 и 2019 годы. При этом получение моноконидиальных изолятов *Z. tritici* и приготовление инокулюма гриба проводили согласно методике Коломиец и другие [8].

Растения выращивали в пластиковых вазонах ёмкостью 20 см³ по 10 семян одного сорта в трехкратной повторности. Для заражения использовали первый, полностью развернувшийся лист. Из верхней части листа вырезали участки длиной 3,5-4 см. В кювету раскладывали фильтровальную бумагу (2-3 слоя), смоченную 0,004 % водным раствором бензимидазола. Затем на бумаге располагали отрезки листьев по 10-15 штук в каждом ряду. На отрезки листьев наносили 1 мл инокулюма из расчета 10⁷ спор/мл и плотно закрывали крышкой [9].

После инокуляции кювету в течение суток выдерживали в темноте, а затем помещали в светоустановку под люминесцентный свет интенсивностью 8-10 кПк, при 20-22 °С и фотопериодом - 16 ч – день, 8 часов – ночь [9-11]. Описание симптомов проводили на 10-14-е сутки. Оценку типов реакции сортов на заражение проводили по следующей шкале [9]: 0 - симптомов нет; 1 – мелкие темные точечные некрозы (1-2 мм); 2 – темно-бурые разрастающиеся, четко ограниченные пятна без хлороза; ткань листа остаётся зелёной; 3 – светло-бурые или бурые разрастающиеся пятна, окружённые хлорозом; 4 – светло-бурые, быстро разрастающиеся пятна без четкой ограниченности (наблюдается образование пикнид). Изоляты, поразившие растения на 3-4 балла, относили к вирулентным, на 0-2 балла – к авирулентным.

Основные результаты исследований. В результате все тестируемые изоляты патогена, собранные в трех регионах Казахстана, были вирулентными к широко возделываемым коммерческим сортам пшеницы Саратовская 29, Карабалыкская 92, Августина и Стекловидная 24 (таблица 1). Почти половина изолятов (40-50 % от числа испытанных) проявили вирулентность к сортам Асыл Сапа, Алмалы, Нуреке, Ак Дан и Мереке. Все использованные изоляты в данном эксперименте проявили авирулентность к сортам с несколькими генами устойчивости: Salamouni (*Stb13*, *Stb14*), Целинная Юбилейная (*Stb1*, *Stb7*), Лютесценс 363/96-4 (*Stb5*, *Stb7*), Дельта (*Stb1*, *Stb7*) и Лира (*Stb5*, *Stb7*).

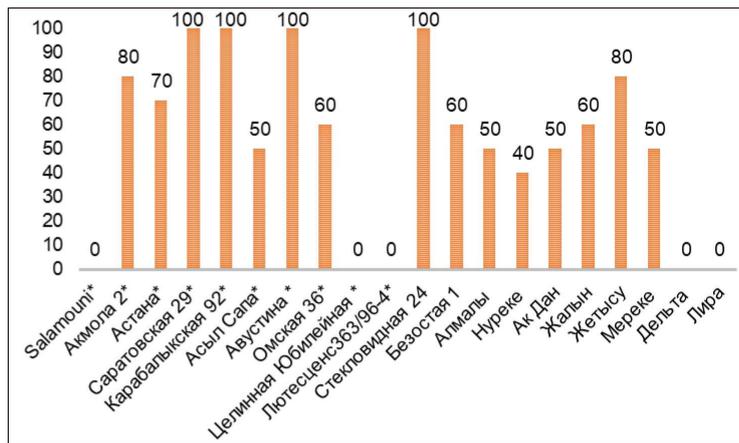
Таблица 1 – Вирулентность изолятов возбудителя септориоза листьев к сортам пшеницы

Сорта пшеницы	Тип реакции к изолятам <i>Zymoseptoria tritici</i> , балл									
	жамбылские изоляты			костанайские изоляты			акмолинские изоляты			
	Zm1	Zm2	Zm3	Kt1	Kt2	Kt3	Ak1	Ak2	Ak3	Ak4
Salamouni*	0	0	1	2	1	2	1	0	1	2
Акмола 2*	3	3	2	3	3	3	3	2	3	3
Астана*	2	3	3	3	3	2	3	3	3	2
Саратовская 29*	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Карабалыкская 92*	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Асыл Сапа*	3	2	2	2	2	3	3	3	2	3
Августина *	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Омская 36*	2	2	3	3	3	2	2	3	3	3
Целинная Юбилейная *	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Лютесценс 363/96-4*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Стекловидная 24	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Безостая 1	3	2	2	2	3	3	3	3	2	3
Алмалы	2	2	2	3	2	3	3	3	3	2
Нуреке	2	2	2	2	2	3	3	2	3	3
Ак Дан	2	2	2	3	3	2	3	3	3	2
Жалын	2	3	2	3	3	2	2	3	3	3
Жетысу	2	3	3	2	3	3	3	3	3	3
Мереке	2	3	2	3	2	3	2	2	3	3
Дельта	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1
Лира	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0

Примечание – *Звездочкой отмечены яровые сорта, в остальных случаях – озимые

Кроме того, большинство изученных изолятов гриба во всех регионах проявили высокую вирулентность

(доля вирулентных изолятов 60-80 %) к сортам Акмола 2, Астана, Омская 36, Безостая 1, Жалын и Жетысу (рисунок 1).



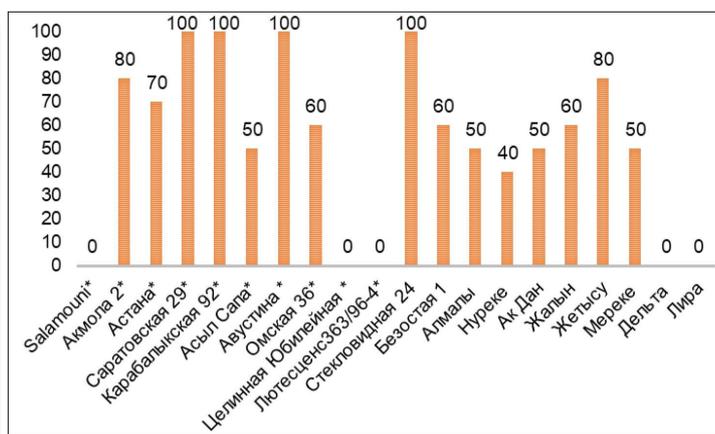
*Звездочкой отмечены яровые сорта, в остальных случаях – озимые

Рисунок – 1 Доля вирулентных изолятов *Zymoseptoria tritici* к сортам пшеницы

В ходе исследований выявлены различия в вирулентности между изолятами в зависимости от происхождения. При этом костанайские и акмолинские изоляты являются наиболее вирулентными по сравнению с жамбылскими. Сложность вирулентности изученных изолятов (то есть количество сортов, к которым изоляты были вирулентными) варьировала от 7 до 13 (рисунок 2).

Рисунок – 2 Сложность вирулентности изолятов *Zymoseptoria tritici*

Среди использованных изолятов возбудителя септориоза к подобранным сортам пшеницы наиболее вирулентным был изолят Ak3, который преодолевал устойчивость 13 сортов из 20 изученных. Изоляты Zm1 и Zm3 показали наименьшую вирулентность (сложность вирулентности равна 7), а изоляты Zm2 и Kt3 имеют среднюю вирулентность к сортам пшеницы.



Обсуждение полученных данных.

Данные многих исследований указывают на то, что вирулентность возбудителя *Z. tritici* в различных эколого-географических регионах сильно различается. Например, по данным ВНИИ фитопатологии, при изучении изолятов патогена из различных регионов России, выявлена высокая частота вирулентности в отношении сортов с генами *Stb1*, *Stb5* и *Stb7* во всех популяциях *Z. tritici* [12]. Согласно исследованиям [7], против изолятов *Z. tritici* из Центрально-Черноземного района эффективностью обладали гены *Stb1*, *Stb4*, *Stb5*, *Stb7*, гены *Stb2*, *Stb3* были менее эффективны. В нашем случае особой вирулентностью характеризовался изолят Ak3 (происхождение Акмолинская область), обладающий 65 % вирулентностью по отношению к подобранным сортам пшеницы. Изоляты *Z. tritici*, поражающие от 9 до 11 генотипов из 20, т.е. обладающие вирулентностью 45-55 %, мы относили к средневирулентным. Отдельные изоляты *Z. tritici* (Zm1 и Zm3) продемонстрировали слабую вирулентность по отношению к использованным сортам пшеницы.

В результате исследований многие сорта с несколькими генами *Stb* проявили наиболее сильную защиту против изолятов в период проростков, хотя отечественные сорта (Саратовская 29, Карабалыкская 92, Августина и Стекловидная 24) без гена(ов) были восприимчивыми ко многим изолятам гриба. У устойчивых сортов пшеницы ранее были идентифицированы в основном гены *Stb1*, *Stb5*, *Stb7*, *Stb13* и *Stb14* по отдельности и в разных сочетаниях [5-7]. Как выше отмечено [12], гены *Stb1*, *Stb5* и *Stb7*, имеющиеся в отдельных исследуемых сортах, не являются эффективными, так как они по отдельности не обеспечивают наиболее прочную устойчивость к септориозу листьев. Данный случай контроля генов устойчивости в сортах со слабой или промежуточной эффективностью, по-видимому, является результатом кумулятивного эффекта их взаимодействия. Кумулятивный эффект проявляется в том, что два или более генов в совокупности обеспечивают более высокую устойчивость, чем каждый из генов по отдельности. Следовательно, для конструирования более длительной устойчивости можно использовать пирамидирование в одном сорте нескольких качественных и количественных генов резистентности [13].

Заключение. Таким образом, на основе фитопатологических подходов была изучена вирулентность изолятов возбудителя септориоза к сортам пшеницы, в том числе с генами устойчивости *Stb*. Изучение вирулентности изолятов *Z. tritici* из различных регионов Казахстана показало, что патоген отличается значительным разнообразием по признакам вирулентности в зависимости от региона и изолята гриба. Высокой устойчивостью к септориозу листьев в фазе проростков отличались сорта с пирамидой генов: Salamouni (*Stb13*, *Stb14*), Целинная Юбилейная (*Stb1*, *Stb7*), Лютесценс 363/96-4 (*Stb5*, *Stb7*), Дельта (*Stb1*, *Stb7*) и Лира (*Stb5*, *Stb7*).

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан в рамках программно-целевого финансирования на 2018-2020 годы (ИРН BR0649329).

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Койшибаев М. Болезни зерновых культур. – Алматы: Бастау, 2002. – 368 с.
- 2 Койшыбаев М. Болезни пшеницы. – Анкара: ФАО. – 2018. – 366 с.
- 3 Рсалиев А.С., Рсалиев Ш.С. Устойчивость пшеницы к болезням. – Алматы: Асыл кітап, 2020. – 382 с.
- 4 Suleimenov M.K., Kiyas A.A., Kaskarbayev Z.A. Long-term continuous spring wheat productivity in semi-arid steppe of North Kazakhstan // International journal of agricultural policy and research. – 2014. – Vol. 2 (8). – P. 296-300.
- 5 Бакулина А.В., Харина А.В., Широких А.А. Септориоз листьев колоса пшеницы: генетический контроль устойчивости хозяина (обзор) // Теоритические проблемы экологии. – 2020. – N 2. – С. 26-35.
- 6 Babkenova S.A., Babkenov A.T., Kolomiets T.M. Skolotneva E.S., Divashuk M.G. Molecular genetic tagging of wheat resistance genes resistant to *Septoria tritici* in northern Kazakhstan // International Journal of Green Pharmacy. – 2017. – Vol. 11 (3). – P. 430-437.
- 7 Зеленева Ю.В. Обоснование генетической защиты пшеницы от вредоносных болезней в условиях Центрально-чернозёмного региона: дис. ... докт. биол. наук / Всероссийский научно-исследовательский институт защиты растений. – Пушкин - Санкт-Петербург, 2019. – 473 с.
- 8 Коломиец Т.М., Пахолкова Е.В., Дубова Л.П. Отбор исходного материала для создания сортов пшеницы с длительной устойчивостью к септориозу // Методическая рекомендация. – Москва, 2017. – 56 с.
- 9 Пыжикова Г.В., Карасева Е.В. Методика изучения возбудителей септориоза на изолированных листьях пшеницы // Сельскохозяйственная биология. – 1985. – N 12. – С. 112-114.
- 10 Санина А.А., Анциферова Л.В. Определение патогенных свойств изолятов *Septoria nodorum* Berk. и *Septoria tritici* Rob. et. Desm. на пшенице // Микология и фитопатология. – 1991. – Том. 25, вып. 2. – С. 155-160.
- 11 Судникова В.П., Зеленева Ю.В., Плахотник В.В. Устойчивость сортообразцов яровой пшеницы к возбудителю *Septoria tritici* в Центрально-Чернозёмном регионе // Культурные растения для устойчивого сельского хозяйства в XXI веке (иммунитет, селекция, интродукция) – Москва: Россельхозакадемия, 2011. – Том 4, вып 1. – 660 с.
- 12 Pakholkova E.V., Salnikova N.N., Kurkova N.A. Genetic structure of regional populations of *Mycosphaerella graminicola* (*Septoria tritici*), the septoria leaf blotch agent of wheat // Сельскохозяйственная биология. – 2016. – Vol. 5. – P.722-730.
- 13 Yang N., McDonald M.C., Solomon P.S., Milgate A.W. Genetic mapping of *Stb19*, a new resistance gene to *Zymoseptoria tritici* in wheat // Theoretical and Applied Genetics. – 2018. – Vol. 131. – P. 2765-2773.

НАШИ ПРОДУКЦИИ, ГОТОВЫЕ К РЕАЛИЗАЦИИ

Тест-системы для лабораторной диагностики инфекционных болезней животных



1. Тест-системы [набора] для лабораторной диагностики нодулярного дерматита крупного рогатого скота методом иммуноферментного анализа согласно СТ 405-1919-04 ГП-097-2017.

Набор препаратов применяют для обнаружения специфического антигена вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота в пробах патологического материала от больных и павших животных, также в инфицированных культурах клеток.

2. Тест-система [набор] для лабораторной диагностики чумы мелких жвачных животных методом иммуноферментного анализа согласно СТ 405-1919-04 ГП-089-2015.

Набор препаратов применяют для обнаружения специфического антигена вируса чумы мелких жвачных животных в пробах патологического материала от больных и павших животных, также в инфицированных культурах клеток.

3. Тест-системы [набор] для выявления антител к вирусу чумы мелких жвачных животных методом ИФА согласно СТ 405-1919-04 ГП-088-2015.

Набор препаратов применяют для выявления антител к вирусу чумы мелких жвачных животных в пробах сыворотки крови от вакцинированных, Переболевших и гипериммунизированных животных.

4. Тест-система [набор] для лабораторной диагностики ящура типа А непрямым иммуноферментным методом согласно СТ 405-1919-04 ГП-083-2015.

Набор препаратов применяют для выявления антител к вирусу ящура типа А в пробах сыворотки крови от вакцинированных, Переболевших и гипериммунизированных животных.

5. Тест-система [набор] для лабораторной диагностики ящура типа О непрямым иммуноферментным методом согласно СТ 405-1919-04 ГП-083-2015.

Набор препаратов применяют для выявления антител к вирусу ящура типа О в пробах сыворотки крови от вакцинированных, Переболевших и гипериммунизированных животных.

6. Тест-система [набор] для выявления антител к вирусу нодулярного дерматита крупного рогатого скота методом иммуноферментного анализа, СТ 405-1919-04 ГП-122-2020.

Набор препаратов применяют для выявления антител к вирусу нодулярного дерматита крупного рогатого скота в пробах сыворотки крови от вакцинированных, Переболевших и гипериммунизированных животных.

По вопросам консультации и приобретения обращаться по адресу:

Республика Казахстан, Жамбылская область, Кордайский район, пгт Гвардейский.

РГП на ПХВ «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности КН МОН РК.

Заведующему лабораторией «Диагностика инфекционных заболеваний», доктору биологических наук, профессору Кошеметову Жумагали Каукарбаевичу, сот. тел.: +7701-662-61-12.

*Заместитель генерального директора НИИПБ
по производственной деятельности,
кандидат ветеринарных наук
Касенов М.М.*

ЖУРНАЛДА ЖАРИЯЛАУ ҮШІН ҒЫЛЫМИ МАҚАЛАЛАРҒА ҚОЙЫЛАТЫН ТАЛАПТАР

Журнал келесі ғылым бағыттары бойынша мақалаларды қабылдайды:

- Ветеринария;
- Медицина;
- Биотехнология;
- Биологиялық қауіпсіздік пен биологиялық қорғау;
- Молекулалық биология және гендік инженерия;
- Фитосанитария.

Мақаланың бастапқы бөлігіне қойылатын құрылымдық талаптар:

1. ОӘЖ
2. Автордың (-лардың) Т.А.Ә.
3. Автордың (-лардың) жұмыс орны
4. Мақала атауы
5. Жарияланушы материал мәтінінің тіліндегі аннотация (150 сөзден артпауы тиіс)
6. Түйін сөздер (150 сөз/сөз тіркесінен артпауы тиіс)

Мақаланың тарауларына қойылатын құрылымдық талаптар:

Мақалада келесі тараулар болуы тиіс:

1. Аннотация
2. Кіріспе
3. Зерттеу әдістемесі
4. Зерттеулерден алынған нәтижелер
5. ҒЗЖ нәтижелерін талқылау
6. Қорытынды (тұжырым)
7. Әдебиет

Аннотация жарияланатын материал тілінен ерекшеленетін басқа екі тілде болуы тиіс (150 сөзден артпауы тиіс). Аннотация – мақалаға тәуелді емес ақпарат көзі. Оны мақаланың негізгі мәтінімен жұмыс аяқталғаннан кейін жазады. Ол негізгі тақырыптың сипаттамасын, мәселелерді, нысанды, жұмыс мақсатын және оның нәтижелерін қамтиды. Аннотацияда осы құжаттың тақырыбы мен арнайы мақсаты бойынша басқа да мәнделес құжаттармен салыстыра отырып, осы құжаттың қандай жаңалық алып келетіні көрсетіледі. Аннотациялар халықаралық стандарттар бойынша ресімделуі және келесі сәттерді қамтуы тиіс:

1. Зерттеу тақырыбы бойынша алғысөз.
2. Ғылыми зерттеу мақсаты.
3. Жұмыстың ғылыми және тәжірибелік маңызын сипаттау.
4. Зерттеу әдістемесін сипаттау.
5. Зерттеу жұмыстарының негізгі нәтижелері, тұжырымдары.
6. Жүргізілген зерттеудің құндылығы (осы жұмыс тиесілі білім саласына қандай үлес қосты).
7. Жұмыс нәтижелерінің тәжірибелік мәні.

Аннотацияда мақаланың мәтіні, (мақаладан ұсыныстар алуға және оларды аннотацияға көшіруге болмайды), сондай-ақ оның атауы қайталанбауы тиіс. Онда сандар, кестелер, мәтін ішіндегі түсіндірме болмауы тиіс.

Аннотацияда зерттеу жұмысының нәтижелері мен қорытындыларының негізгі сәттері баяндалуы тиіс және мақалада жоқ материал болмауы тиіс.

Алғыс (Бұл бөлім, егер мақала грант шеңберінде дайындалса немесе жарияланатын жұмысқа жәрдемдескен, бірақ тең авторлардың қатарына кірмеген адамдарға алғыс білдіру үшін қажет). Әдетте жарияланымның соңында көрсетіледі.

Автордың (-лардың) аты-жөні әр адамның жұмыс орнымен индекстеледі. Мысалы, **С.С. Сеитов¹, А.А. Ахметов², Б.Б. Болатов³**

Автордың (-лардың) жұмыс орны. Мысалы: ¹Қазақ ұлттық аграрлық университеті, Алматы, Қазақстан; ²Ставрополь мемлекеттік аграрлық университеті, Ставрополь, Ресей; ³Жәңгір хан атындағы Батыс Қазақстан аграрлық-техникалық университеті, Орал, Қазақстан.

Мақаланың мазмұны туралы

Мақалада автор зерттеулерінің нәтижелерін көрсететін түпнұсқа материал ғана болуы тиіс. Мақаланың негізгі мазмұнын ашатын аннотацияда (50-ден 150-ге дейін сөз) және мақаланың қорытынды бөлімінде (50-ден 150-ге дейін сөз) зерттеу нәтижелерінің жаңалығын, олардың практикалық маңыздылығын көрсету қажет.

Ғылыми мақаланы рәсімдеудің негізгі талаптары.

Мақала қазақ, орыс немесе ағылшын тілдерінің бірінде 5-11 бет көлемінде (суреттер мен кестелерді қоса алғанда) болуы тиіс.

Мәтін Microsoft Word редакторында, Times New Roman шрифтімен, 12 өлшемде, бір интервалмен терілуі тиіс. Мәтін келесі жиектердің өлшемдерін сақтай отырып басылуы тиіс: жоғарғы және төменгі – 2 см, сол және оң – 2 см. Тегістелуі – енібойынша (тасымалды автоматты түрде жүргізу арқылы). Жоларалық интервалы – бір. Азат жол шегінісі – 1,25.

Парақтың жоғарғы сол жақ бұрышына ОӘЖ қойылады. Төменде, ортаға тегістеліп автордың (-лардың) аты-жөндерінің бірінші әріптері, фамилиялары, бір жол төменде ұйымның (-дардың) толық атауы, онан кейін, үтір қою арқылы қаланың атауы, елдің атауы (шет елдік авторлар үшін), онан кейін, бір жолдан кейін ортаға тегістеліп бас әріптермен мақала атауы көрсетілуі тиіс.

Тағы төменде, бір жолдан кейін, аннотация мәтіні (50-ден 150-ге дейінгі сөз) және жарияланатын материал мәтініндегі түйінді сөздер (10 сөзден/сөз тіркестерінен артпауы тиіс) болады. Одан әрі, бір жолдан кейін, мақаланың келесі бөлімдерден тұратын негізгі мәтіні орналастырылады:

Кіріспе. Бұл бөлім осы зерттеудің өзектілігін және автор тауып алған осы тақырып бойынша әдеби дереккөздерге (мақалалар, патенттер, есептер, Интернеттен алынған ақпараттар) шолу жасауды қамтиды. Сондай-ақ, бұл бөлімде зерттеудің мақсаттары мен міндеттері, болжанатын гипотезалар мен тұжырымдар көрсетіледі. Бұл бөлім әдетте мақаланың жалпы көлемінің 5-10 % құрайды.

Зерттеу әдістемесі. Бұл бөлімде ҒЗЖ-да пайдаланылған материалдар мен әдістер сипатталады. Егер бұл алғаш рет жарияланатын әдістеме болмаса, әдіснамалық ерекшеліктерді көрсетудің қажеті жоқ. Қажет болған жағдайда әдіснаманың негізгі сәттері сипатталады. Бұл бөлім әдетте мақаланың жалпы көлемінің 10-20 % құрайды.

Зерттеудің негізгі нәтижелері. Бұл бөлім көлемі бойынша ғылыми мақалада орталық орын алады. Бұл негізгі бөлім, оның мақсаты талдау, қорыту және деректерді түсіндіру арқылы жұмыс гипотезасын (гипотезаларын) дәлелдеу болып табылады. Нәтижелер қажет болған жағдайда бастапқы материалды немесе дәлелдемелерді тұжырылған түрде ұсынатын иллюстрациялармен - кестелермен, графиктермен, суреттермен расталады. *Суреттелген ақпарат мәтінді қайталамауы маңызды.* Мақалада ұсынылған нәтижелерді автордың және басқа зерттеушілердің осы саладағы алдыңғы жұмыстарымен салыстырылғаны дұрыс. Мұндай салыстыру жүргізілген жұмыстың жаңалығын қосымша ашады, оған объективтілік береді. Бұл бөлім әдетте мақаланың жалпы көлемінің 50-55 % құрайды.

Алынған деректерді талқылау және қорытынды. Мақаланың бұл бөліктері алынған мәліметтердің интерпретациясын қамтиды, анықталған заңдылықтар сипатталады, бір-бірін қайталамайтын кестелер мен суреттерді қамтиды. Нәтижелерді өткен уақытта баяндау ұсынылады. Талқылау зерттеу нәтижелерін сипаттауды қайталамауы тиіс. Қорытынды зерттеу нәтижелерінің қысқаша тұжырымын қамтиды. Бұл бөлімде алынған нәтижелерді жұмыстың басында белгіленген мақсатпен салыстыру қажет. Қорытындыда тақырыпты түсіну нәтижелері жинақталады, жұмыстан туындайтын қорытындылар, тұжырымдар мен ұсыныстар жасалады, олардың практикалық маңыздылығы көрсетіледі, сондай-ақ осы саладағы одан әрі зерттеу үшін негізгі бағыттар анықталады. Мақаланың қорытынды бөлігіне қаралған мәселелердің дамуын болжау әрекеттерін енгізу қажет. Мақала тақырыбындағы мәліметтер авторлық түйіндеме мәтінінде қайталанбауы тиіс. Ұсынылатын көлем – мақаланың жалпы көлемінен 10-15 %.

Әдебиет. Бұл бөлім дәйексөз келтірілетін, қаралатын немесе мақаланың мәтінінде айтылған, оны сәйкестендіру, іздеу және жалпы сипаттама үшін қажетті және жеткілікті басқа құжат туралы библиографиялық мәліметтер қамтылады. Жарияланғанына 5 жылдан асқан дереккөздерге сілтеме жасау ұсынылмайды. Жақында жарияланған мақалаларға сілтемелер беру, өз мақаласынан дәйек сөз алуға ең аз мөлшерде рұқсат етіледі. Мақала берілетін БҚПҒЗИ ғылыми-практикалық журналындағы мақалаларға сілтеме жасау міндетті. Мақалада біздің журналдарда бұрын шыққан мақалаларға міндетті түрде сілтеме жасау керек. Негізгі мәтіннен (немесе ескертулердің мәтінінен) төменірек ортаға тегістеу арқылы «**ӘДЕБИЕТ**» деген атау жазылады, онан бір жолдан кейін библиографиялық сипаттамаға қойылатын қолданыстағы талаптарға сәйкес мәтін бойынша сілтеме ретінде нөмірленген деректер тізбесі орналастырылады. Тізбенің бір тармағында тек бір ақпарат көзін көрсету керек. Ақпарат көздеріне сілтемелер төрт бұрышты жақша (мысалы, [1]) ішіндегі сандармен ресімделеді.

Библиографиялық сипаттама МЕМСТ 7.1-2003 сәйкес ресімделеді және мұқият тексеріледі. Егер ақпарат көзіне сілтеме мақала мәтінінде қайталанатын болса, онда қайта, шаршы жақшада оның тізімдегі нөмірі көрсетіледі (библиографиялық тізімде келесі реттік нөмірі мен «тағы да сонда» сілтемесі пайдаланылмай).

Бір көзден алынған әр түрлі материалдарға сілтеме жасалған жағдайда, шаршы жақшадағы беттің нөмірін әр жолы көрсету қажет. Мысалы, [1, 17] немесе [1, 28-29].

Мысал ретінде неғұрлым таралған сипаттамалар – мақалалар, кәтаптар, конференция материалдары, патенттер және электрондық қорлар беріледі, мысалы:

Автор фамилиясындағы кітап

1 Максимов Н.В., Партыка Т.Л., Попов И.И. Максимов, Н.В. ЭЕМ және есептеуіш жүйелердің архитектурасы: ЖОО-ларына арналған оқу құралы. - М.: Инфра - М, 2005.-512 б.

2 Душков Б.А., Королев А.В., Смирнов Б.А. Еңбектің, кәсіби, ақпараттық және ұйымдастырушылық қызметтің психологиясы: ЖОО-ларға арналған оқу құралы. - М: Академический проект, 2005.-848 б.

Атаулы кітап.

Егер, кітап төрт немесе одан көп авторлармен жазылған болса кітап сипаттамасы атауында беріледі. Атауында ұжымдық монографиялар, мақалалар жинағы және т.б. сипатталады.

1 Әлем көркем әдебиеті: 2 томда / Б.А. Эренграсс [және басқалары]. - М.: Высшая школа, 2005. - Т.2. - 511 б.

2 Экономикалық талдау бойынша бақылау тапсырмалары мен тестілерінің кешені [Мәтін]: ЖОО-ларға арналған оқу-әдістемелік құрал / А.А. Сливинская [және басқалары]. - Елец: Елецк мемлекеттік университетінің баспасы, 2003. - 73 б.

Заңнамалық материалдар

Ресей Федерациясының конституциясы [Мәтін]. - М.: Приор, 2001. - 32 б. РСФКР азаматтық процессуалдық кодексі [Мәтін]: [РСФКР алтыншы шақырылымдағы Жоғарғы Кеңесінің үшінші сессиясында 1964 жылы 11 маусымда қабылданған]: ресми мәтін: 2001 жылғы 15 қарашағағы жағдайы бойынша / Ресей Федерациясының Әділет министрлігі.- М.: Маркетинг, 2001. - 159 б.

Стандарттар

Радиоэлектронды тұрмыстық аппаратура. Кіріс және шығыс параметрлері мен байланыстыру типтері. Техникалық талаптар [Мәтін]: МЕМСТ Р517721 - 2001. - 2002-01 -01 енгізілген. - М.: Изд-во стандартов, 2001. - IV, 27 б.: ил.

Патенттік құжаттар

Қабылдаушы-беруші құрылғы [Мәтін]: пат. 2187888 Рес. Федерациясы: МПК Н 04 В 1/38, Н 04 J 13/00/ Чугаева В.И.; өтініш беруші мен патент иесі Воронеж, Байланысты ғылыми-зерттеу институты. - № 2000131736/09; өтініш берілген 18.12.00; жарияланған 20.08.02, Бюл. № 23 (II б.). - 3 б: ил.

Диссертациялар, диссертацилардың авторефераттары

Белозеров И.В. Алтын Орданың 13-14 ғасырлардағы Ресейдегі діни саясаты [Мәтін]: тарих ғылымдары кандидатының дис.: 07.00.02: қорғалды 22.01.02: бекітілді 15.07.02 /Белозеров Иван Валентинович. -М., 2002. -215 с. -Библиогр.: б. 202-213. -04200201565.

Internet желісінен алынған құжаттың библиографиялық сипаттамасы

1 Бычкова Л.С. Конструктивизм // 20 ғасырдағы культурология - «К». - (<http://www.philosophy.ru/edu/ref/enc/k.htm> 1).

2 Мән психологиясы: Д.А. Леонтьевтің табиғаты, құрылымы және серпіні – Бірінші басылым. - 1999. - (<http://www.smysl.ru/annot.php>).

Мақалалық әдебиетті ресімдеу кезінде жарияланымның авторларының толық тізімі берілуі тиіс (басқаларсыз).

Егер, мәтінде ескертулер бар болса, онда, негізгі мәтіннен кейін әдебиет көздерінің алдында, ортаға тегістелу арқылы «**Ескертпелер**» теріледі, және бір жолдан кейін, мәтін бойынша сілтеме ретінде жоғарғы индекс түрінде (мысалы, 1) санмен нөмірленген ескертулер мәтіні жазылады. Негізгі мәтіндегі ескертулерге сілтеме қалың емес қаріппен, жоғарғы индекс түріндегі санмен (мысалы, ... 1 үлгілі) ресімделеді.

Кестелер мәтін бойынша орналастырылады. Кестелердің нөмірленуі мәтін бойынша сілтемелер тәртібінде жүргізіледі. Кестенің нөмірлеу атауы қалың қаріппен, сол жаққа тегістеу арқылы жазылады (мысалы, **кесте 1**). Тақырыптық атау осы долда қалың емес қаріппен, сол жаққа тегістеу арқылы жазылады. Негізгі мәтінде кестеге сілтеме жақшада қалың қаріппен көрсетіледі – мысалы, (**Кесте 1 –**). Егер кесте үлкен көлемді болса, жеке бетте, ал ені үлкен болса - бейімі альбомдық бетте орналастырылуы мүмкін.

Суреттер мәтін бойынша орналастырылады. Суреттердің нөмірленуі мәтін бойынша сілтемелер тәртібінде жүргізіледі. Нөмірлеу атауы қалың қаріппен, сол жаққа тегістеу арқылы жазылады (мысалы, **сурет 1**). Тақырыптық атауы (бар болған жағдайда) осы жолда, нөмірлеу атаудан кейін жазылады (мысалы, **Сурет 1 – Тәуелділік...**).

Негізгі мәтінде суретке сілтеме жақшада қалың қаріппен жазылады – мысалы, (**сурет 1**). Егер сурет үлкен көлемді болса, жеке бетте, ал ені үлкен болса – бейімі альбомдық бетте орналастырылуы мүмкін. Суреттер түпнұсқадан скандау арқылы алынған (сұр түс градациясында 150 dpi) немесе компьютерлік

графика құралдары арқылы орындалған болуы мүмкін. Суреттерді электрондық нұсқаның жеке файлына орналастыруға рұқсат етіледі, ал, үлкен көлемді иллюстрациялар (файл) болған жағдайда құпталады. Суреттерге қол қою тікелей суреттің астында орындалуы тиіс.

Формулалар. Қарапайым жолішілік және бір жолдық формулалар арнайы редакторларды пайдаланбай символдармен терілуі тиіс (Symbol, Greek Math Symbols, Math-PS, Math A Mathematica қаріптерінен арнайы символдарды пайдалануға рұқсат етіледі). Күрделі және көп жолды формулалар Microsoft Equation 2.0, 3.0 формула редакторларында толық терілуі тиіс. Формуланың бір бөлігін символдармен, ал бір бөлігін формула редакторында теруге жол берілмейді.

Мақалаға қосымша беріледі:

- ілеспе хат (сыртқы ұйымдар үшін)

- кемінде екі сарапшының қорытындысы:

1) Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты сараптау комиссиясынан (*ішкі сараптау*);

2) бейіні сай келетін сыртқы ұйымдардың тәуелсіз сараптшыларынан (*сыртқы сараптау*);

3) ағылшын тіліндегі мақалалар үшін – БҚПҒЗИ «Биобезопасность и Биотехнология/Биоқауіпсіздік және Биотехнология» ғылыми-тәжірибелік журналының шетелдік редакторлық-сараптау кеңесінің ішінен бағыттар бойынша тәуелсіз сарапшыларынан.

- автор туралы мәліметтер: тегі, аты және әкесінің аты (толық), ғылыми дәрежесі, лауазымы, жұмыс орны, байланыс телефондары, хат алмасу деректері (e-mail).

Төлем сараптаудан өткеннен кейін және мақалаға рецензия алынғаннан кейін жүргізілуі тиіс. 1 мақаланы жариялауға төлеу қазақстандық ғалымдар мен ғылыми қызметкерлер үшін 2 АЕК-ті, ал, шетелдік авторлар үшін АҚШ 15 \$ құрайды.

Көрсетілген талаптарға сәйкес келмейтін мақалалар жариялауға қабылданбайды.

Біздің мекен-жайымыз:

080409, Жамбыл облысы, Қордай ауданы, Гвардейский қтк., Б. Момышұлы к-сі, 15.

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

Оқу ғылыми-білім беру орталығы (ОҒБО), тел. (726-36) 7-22-28, ішкі 112.

E-mail: unots@biosafety.kz

Жарияланым үшін төлем жүргізу деректері:

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

Бенефициара банкі: «Қазақстан халық банкі» АҚ-ы

Банк БСК-ы: HSBKZKX

ЖСК: KZ656010131000155334

ЖСК: KZ766010131000133020 (USD)

КБЕ: 16

ТМК: 859

Төлем мақсаты: «Биобезопасность и Биотехнология/Биоқауіпсіздік және Биотехнология» ғылыми-тәжірибелік журналында мақала жариялау.

ТРЕБОВАНИЯ К НАУЧНЫМ СТАТЬЯМ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В ЖУРНАЛЕ «БИОБЕЗОПАСНОСТЬ И БИОТЕХНОЛОГИЯ»

Журнал принимает статьи по следующим направлениям науки:

- Ветеринария;
- Медицина;
- Биотехнология;
- Биологическая безопасность и биозащита;
- Молекулярная биология и генная инженерия;
- Фитосанитария.

Структурные требования к начальной части статьи:

1. УДК (универсальная десятичная классификация)

В начале статьи, вверху слева следует указать УДК

2. Инициалы и фамилии автора (-ов)

Посередине страницы обычным жирным шрифтом (С.С. Сеитов¹, А.А. Ахметов², Б.Б. Болатов³)

3. Место работы автора (-ов)

Название организации (ий), в которой выполнена работа, рядом с фамилией автора индексом указать цифру организации, эту же цифру указать в названии организации, затем город, страну (¹Казахский национальный аграрный университет, Алматы, Казахстан, ²Ставропольский государственный аграрный университет, Ставрополь, Российская Федерация, ³Западно-Казахстанский аграрно-технический университет им. Жангир-хана, Уральск, Казахстан).

4. Адреса e-mail авторов

5. Название статьи

Название статьи прописными жирными буквами (около 30-40 символов)

6. Аннотация на языке текста публикуемого материала (не более 150 слов)

7. Ключевые слова (6-10 слов)

Структурные требования к разделам статьи:

Статья должна содержать следующие разделы:

1. Аннотация

2. Введение

3. Методика исследований

4. Полученные результаты исследований

5. Обсуждение результатов

6. Выводы (заключение)

7. Литература

Аннотация должна быть на двух других языках, отличающихся от языка публикуемого материала (не более 150 слов). Аннотация – это не зависимый от статьи источник информации. Ее пишут после завершения работы над основным текстом статьи. Она включает характеристику основной темы, проблемы, объекта, цели работы и ее результаты. В ней указывают, что нового несет в себе данный документ в сравнении с другими, родственными по тематике и целевому назначению. Аннотации должны быть оформлены по международным стандартам и включать следующие моменты:

1. Вступление по теме исследования.

2. Цель научного исследования.

3. Описание научной и практической значимости работы.

4. Описание методологии исследования.

5. Основные результаты, выводы исследовательской работы.

6. Ценность проведенного исследования (какой вклад данная работа внесла в соответствующую область знаний).

7. Практическое значение итогов работы.

В аннотации не должен повторяться текст самой статьи (нельзя брать предложения из статьи и переносить их в аннотацию), а также ее название. В ней не должно быть цифр, таблиц, внутри – текстовых сносок.

В аннотации должны излагаться основные моменты результатов и заключения исследовательской работы, и не должно содержать материал, который отсутствует в самой статье.

Введение включает актуальность данного исследования и обзор найденных автором литературных источников (статей, патентов, отчетов, информации из Интернета) по этой теме. Также, в этом разделе указывается цели и задачи исследования, предполагаемые гипотезы и формулировки. Этот раздел обычно составляет 5-10 % от общего объема статьи.

Методика исследований. В этом разделе описываются материалы и методы, использованные в НИР.

Нет необходимости указывать методологические особенности, если это не впервые публикуемая методика. При необходимости, описываются ключевые моменты методологии. Этот раздел обычно составляет 10-20 % от общего объема статьи.

Основные результаты исследований. По объему этот раздел занимает центральное место в научной статье. Это основной раздел, цель которого заключается в том, чтобы при помощи анализа, обобщения и разъяснения данных доказать рабочую гипотезу (гипотезы). Результаты при необходимости подтверждаются иллюстрациями - таблицами, графиками, рисунками, которые представляют исходный материал или доказательства в свернутом виде. *Важно, чтобы проиллюстрированная информация не дублировала текст.* Представленные в статье результаты желательно сопоставить с предыдущими работами в этой области как автора, так и других исследователей. Такое сравнение дополнительно раскроет новизну проведенной работы, придаст ей объективности. Эта часть обычно составляет 50-55 % от общего объема статьи.

Обсуждение полученных данных. Этот раздел содержит интерпретацию полученных данных, описываются выявленные закономерности, включать таблицы и рисунки не дублирующие друг друга. Результаты рекомендуется излагать в прошедшем времени. Обсуждение не должно повторять описание результатов исследования.

Заключение. Заключение содержит краткую формулировку результатов исследования. В этом разделе необходимо сопоставить полученные результаты с обозначенной в начале работы целью. В заключении суммируются результаты осмысления темы, делаются выводы, обобщения и рекомендации, которые вытекают из работы, подчеркивается их практическая значимость, а также определяются основные направления для дальнейшего исследования в этой области. В заключительную часть статьи желательно включить попытки прогноза развития рассмотренных вопросов.

Сведения, содержащиеся в заглавии статьи, не должны повторяться в тексте авторского резюме. Рекомендуемый объем – 10-15 % от общего объема статьи.

Если в тексте есть примечания, то после основного текста перед списком литературы набирается по центру заглавие «**Примечания**», и через строку помещается текст примечаний, пронумерованные числом в виде верхнего индекса (например, 1) в порядке ссылок по тексту. Ссылка на примечания в основном тексте оформляется не жирным шрифтом, числом в виде верхнего индекса (например, ... модели 1).

Таблицы помещаются по тексту. Нумерация таблиц производится в порядке ссылок по тексту. Нумерационный заголовок таблицы набирается нежирным шрифтом с выравниванием по центру (например, Таблица 1 – название таблицы). Тематический заголовок (если имеется) набирается на этой же строке нежирным шрифтом с выравниванием по центру. Ссылка на таблицу в основном тексте оформляется нежирным шрифтом в скобках - например, (таблица 1). Если таблица имеет большой объем, она может быть помещена на отдельной странице, а в том случае, когда она имеет значительную ширину – на странице с альбомной ориентацией.

Рисунки размещаются по тексту. Нумерация рисунков производится в порядке ссылок по тексту. Нумерационный заголовок набирается нежирным шрифтом с выравниванием по центру (например, Рисунок 1 – название рисунка). Ссылка на рисунок в основном тексте оформляется нежирным шрифтом в скобках - например, (рисунок 1). Если рисунок имеет большой формат, он должен быть помещен на отдельной странице, а в том случае, когда он имеет значительную ширину – на странице с альбомной ориентацией. Рисунки могут быть сканированными с оригинала (150 dpi в градациях серого) или выполнены средствами компьютерной графики. Допускается, а в случае с иллюстрациями большого объема (файла), приветствуется, размещение рисунков в отдельном файле электронной версии. Подписи к рисункам должны быть выполнены непосредственно под рисунком.

Формулы. Простые внутри строчные и однострочные формулы должны быть набраны символами без использования специальных редакторов (допускается использование специальных символов из шрифтов Symbol, Greek Math Symbols, Math-PS, Math A Mathematica BTT). Сложные и многострочные формулы должны быть целиком набраны в редакторе формул Microsoft Equation 2.0, 3.0. Не допускается набор – часть формулы символами, а часть – в редакторе формул.

Литература. Этот раздел содержит библиографические сведения о цитируемом, рассматриваемом, или упоминаемом в тексте статьи другом документе, необходимые и достаточные для его идентификации, поиска и общей характеристики. Не рекомендуется ссылаться на источники, которым более 5 лет. Ссылки давать на недавно опубликованные статьи, самоцитирование допускается в минимальном количестве. Ниже основного текста (или текстов примечаний) печатается по центру заглавие «**ЛИТЕРАТУРА**», затем, через строку, помещается пронумерованный перечень источников в порядке ссылок по тексту, в соответствии с действующими требованиями к библиографическому описанию. В одном пункте перечня следует указывать только один источник информации. Ссылки на источники информации оформляются числами, заключенными в квадратные скобки (например, [1]).

Библиографические описания оформляются в соответствии с ГОСТ 7.1-2003 и тщательно проверяются. Если ссылка на источник информации в тексте статьи повторяется, то, повторно, в квадратных скобках указывается его номер из списка (без использования в библиографическом списке следующего порядкового номера и ссылки «Там же»). В случае ссылки на различные материалы из одного источника, необходимо

каждый раз указать еще и номер страницы в квадратных скобках. Например, [1, 17] или [1, 28-29].

В качестве примера приводятся наиболее распространенные описания – статьи, книги, материалы конференций, патенты и электронные ресурсы, например:

Книга под фамилией автора

1 Максимов Н.В., Партыка Т.Л., Попов И.И. Архитектура ЭВМ и вычислительных систем: учеб. для вузов. - М.: Инфра, 2005.-512 с.

2 Душков Б.А., Королев А.В., Смирнов Б.А. Психология труда, профессиональной, информационной и организационной деятельности: учеб. пособие для вузов. - М.: Академический проект, 2005. – 848с.

Книга под заглавием

Описание книги дается на заглавие, если книга написана четырьмя и более авторами. На заглавие описываются коллективные монографии, сборники статей и т.п.

1 Мировая художественная культура: в 2-х т. / Б.А. Эренгросс [и др.]. - М.: Высшая школа, 2005. - Т.2. - 511 с.

2 Комплекс контрольных заданий и тестов по экономическому анализу: учеб-метод, пособие для вузов / А.А. Сливинская [и др.]. - Елец: Изд-во Елецкого гос. ун-та, 2003. - 73 с.

Законодательные материалы

1 Конституция Российской Федерации. - М.: Приор, 2001. - 32 с. Гражданский процессуальный кодекс РСФСР [Текст]: [принят третьей сес. Верхов. Совета РСФСР шестого созыва 11 июня 1964 г.]: офиц. текст: по состоянию на 15 нояб. 2001 г. / М-во юстиции Рос. Федерации.- М.: Маркетинг, 2001. - 159 с.

Стандарты

1 Аппаратура радиоэлектронная бытовая. Входные и выходные параметры и типы соединений. Технические требования: ГОСТ Р 517721 - 2001. - Введ. 2002-01 -01. - М.: Изд-во стандартов, 2001. - IV, 27 с.: ил.

Патентные документы

1 Приемопередающее устройство: пат. 2187888 Рос. Федерация: МПК Н 04 В 1/38, Н 04 J 13/00/ Чугаева В.И.; заявитель и патентообладатель Воронеж, науч. - исслед. ин-т связи. - № 2000131736/09; заявл. 18.12.2000; опубл. 20.08.2002, Бюл. № 23 (II ч.). - 3 с: ил.

Диссертации, авторефераты диссертаций

1 Белозеров И.В. Религиозная политика Золотой Орды на Руси в 13-14 вв.: дис... канд. ист. наук: 07.00.02: защищена 22.01.2002: утв.15.07.2002 /Белозеров Иван Валентинович. -М., 2002. -215 с. -Библиогр.: с. 202-213. -04200201565.

Библиографическое описание документа из Internet

1 Бычкова Л.С. Конструктивизм // Культурология 20 век - «К». - (<http://www.philosophy.ru/edu/ref/enc/k.htm> 1).

2 Психология смысла: природа, строение и динамика Леонтьева Д.А. -Первое изд. - 1999. - (<http://www.smysl.ru/annot.php>).

Основные требования к оформлению научной статьи.

Статья должна быть объемом 5-11 страниц (включая рисунки и таблицы) на одном из языков: казахском, русском или английском.

Текст должен быть набран в редакторе Microsoft Word, шрифт Times New Roman размера 12, одинарный интервал. Текст следует печатать, соблюдая следующие размеры полей: верхнее и нижнее – 2 см, левое и правое – 2 см. Выравнивание – по ширине (с автоматической расстановкой переносов). Межстрочный интервал – одинарный. Абзацный отступ – 1,2 .

К СВЕДЕНИЮ АВТОРОВ

К статье прилагаются:

- сопроводительное письмо (для сторонних организаций)

- заключения не менее двух экспертов:

1) от экспертной комиссии Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности (*внутренняя экспертиза*);

2) от независимых экспертов сторонних профильных организаций (*внешняя экспертиза*);

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

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

Вид рецензирования – двойное «слепое» рецензирование, то есть и автор, и рецензент остаются анонимными. Рукопись направляется на отзыв члену редколлегии и рецензенту; в спорных случаях по усмотрению редколлегии привлекаются дополнительные рецензенты; на основании экспертных заключений редколлегия определяет дальнейшую судьбу рукописи: принятие к публикации в представленном виде,

необходимость доработки или отклонение. В случае необходимости рукопись направляется авторам на доработку по замечаниям рецензентов и редакторов, после чего она повторно рецензируется, и редколлегия вновь решает вопрос о приемлемости рукописи для публикации. Переработанная рукопись должна быть возвращена в редакцию в течение месяца после получения авторами отзывов; в противном случае рукопись рассматривается как вновь поступившая. Рукопись, получившая недостаточно высокие оценки при рецензировании, отклоняется как не соответствующая уровню или профилю публикаций журнала.

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

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

Наш адрес:

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

РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК

Учебный научно-образовательный центр (УНОЦ), тел. (726-36) 7-22-28, вн. 112.

E-mail: unots@biosafety.kz

ОПЛАТА ЗА ПУБЛИКАЦИЮ СТАТЕЙ

Оплата производится после одобрения статьи и включения в номер журнала. Автору высылается письмо с реквизитами об оплате. Если оплату производит организация, необходимо нам отправить реквизиты организации для составления договора.

Размер оплаты за публикацию 1 статьи для казахстанских ученых и научных сотрудников составляет 2 МРП, авторам из зарубежных стран – 15 \$ США.

Реквизиты для оплаты публикации:

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

Банк бенефициара: АО «Народный банк Казахстана»

БИК банка: HSBKZZKX

ИИК: KZ656010131000155334

ИИК: KZ766010131000133020 (USD)

КБЕ: 16

КНП: 859

Назначение платежа: Публикация статьи в научно-практическом журнале «Биоқауіпсіздік және Биотехнология/Биобезопасность и Биотехнология».

AUTHOR INSTRUCTIONS TO THE JOURNAL

The journal accepts articles in the following areas of science:

- Veterinary medicine;
- Medicine;
- Biotechnology;
- Biological safety and biosecurity;
- Molecular biology and genetic engineering;
- Phytosanitary.

Structural requirements for the initial part of the article:

- 1 DOI
- 2 Name, surname of the author (s)
- 3 Place of work of the author (s)
- 4 Title of article
- 5 An annotation in the language of the text of the published material (not more than 150 words)
- 6 Keywords (no more than 10 words/phrases)

Structural requirements for sections of the article:

The article should contain the following sections:

1. Abstract
2. Introduction
3. Research methodology
4. The obtained research results
5. Discussion of the results of research
6. Conclusions (conclusion)
7. References

The abstract should be in two other languages that differ from the language of the published material (no more than 150 words). The abstract is a source of information independent of the article. It is written after completion of the main text of the article. It includes a description of the main topic, problem, object, purpose of the work and its results. It indicates what the new document bears in itself in comparison with others related to the subject and purpose. Abstracts should be formatted according to international standards and include the following points:

- 1 Introduction to the research topic.
- 2 The purpose of scientific research.
- 3 Description of the scientific and practical significance of the work.
- 4 Description of the research methodology.
- 5 The main results, conclusions of the research work.
- 6 The value of the study (what contribution this work made to the relevant knowledge field).
- 7 The practical significance of the results of the work.

The abstract should not repeat the text of the article itself (you cannot take sentences from the article and transfer them to the abstract), as well as its title. It should not contain numbers, tables, intra-text footnotes.

The abstract should set out the main points of the results and conclusions of the research work, and should not contain material that is not in the article itself.

Acknowledgements (this section is needed if the article was prepared as part of a grant, or to express gratitude to those who contributed to the published work, but were not included in the number of co-authors). It is usually indicated at the end of the publication.

Full name of the author (s) are indexed with the workplaces of each. *For example, (S.S. Seitov¹, A.A. Akhmetov², B.B. Bolatov³)*

Place of work of the author (s). For example: ¹Kazakh National Agrarian University, Almaty, Kazakhstan; ²Stavropol State Agrarian University, Stavropol, Russia; ³Western Kazakhstan Agrarian Technical University named after Zhangir Khan, Oral, Kazakhstan.

On the content of the article

The article should contain only original material reflecting the results of research by the author. In the abstract (from 50 to 150 words), revealing the main content of the article, and in the final part (conclusions, from 50 to 150 words) of the article, it is necessary to reflect the novelty of the research results, their practical significance.

Basic requirements for the execution of a scientific article.

The article should be 5-11 pages long (including figures and tables) in one of the languages: Kazakh, Russian or English.

The text should be typed in the Microsoft Word editor, font Times New Roman size 12, single spacing. The text should be printed, observing the following margins: top and bottom – 2 cm, left and right – 2 cm. Justification - breadthwise (with automatic hyphenation). Line spacing is single. Indention – 1.25.

The **DOI** is affixed in the upper left corner of the sheet. Below, after one interval center alignment - in italics, initials, surnames of the author (s), a line below the full name of the organization (s), then, separated by a comma, it is necessary to indicate the city, the name of the country (for foreign authors), then center alignment – in capital letters the name of the article. Even lower, through the line, follows the text of the abstract (from 50 to 150 words) and keywords in the language of the text of the published material (no more than 10 words/phrases). Next, through the line, the main text of the article is placed, consisting of the following sections:

Introduction. This section includes the relevance of this study and a review of literature found by the author (articles, patents, reports, information from the Internet) on this topic. Also, this section indicates the goals and objectives of the study, hypotheses and statements. This section usually accounts for 5-10 % of the total article.

Research methodology. This section describes the materials and methods used in research. There is no need to indicate methodological features if this is not the first published methodology. If necessary, the key points of the methodology are described. This section usually accounts for 10-20 % of the total article.

Key research findings. By volume, this section is takes central place in the scientific article. This is the main section, the purpose of which is to use the analysis, synthesis and explanation of the data to prove the working hypothesis (hypotheses). The results, if necessary, are confirmed by illustrations - tables, graphs, figures, which represent the source material or evidence in folded form. It is important that the illustrated information does not duplicate the text. It is desirable to compare the results presented in the article with previous works in this area by both the author and other researchers. Such a comparison will additionally reveal the novelty of the work done, give it objectivity. This part usually accounts for 50-55 % of the total article volume.

Discussion of the obtained data. These parts of the article contain an interpretation of the data obtained, describe the revealed patterns, include tables and figures not duplicating each other. Results are recommended to be stated in the past tense. The discussion should not repeat the description of the study results.

Conclusion. The conclusion contains a brief statement of the results of the study. In this section, it is necessary to compare the results obtained with the goal indicated at the beginning of the work. In conclusion, the results of comprehension of the topic are summarized, conclusions, generalizations and recommendations that arise from the work are made, their practical significance is emphasized, and the main directions for further research in this area are determined. In the final part of the article, it is desirable to include attempts to forecast the development of the issues addressed. The information contained in the title of the article should not be repeated in the text of the author's summary. The recommended volume is 10-15 % of the total volume of the article.

References. This section contains bibliographic information about another document cited, considered, or referred to in the text of the article, necessary and sufficient for its identification, search, and general characteristics. It is not recommended to refer to sources that are more than 5 years old. Links to recently published articles, self-citation is allowed in a minimal amount. Required links to articles from the scientific and practical journal RIBSP, in which the article is submitted. The article must refer to previously published articles in our journals. Below the main text (or texts of notes), the title “**REFERENCES**” is printed in the center, then, through a line, a numbered list of sources is placed in the order of references in the text, in accordance with the current requirements for bibliographic description. Only one source of information should be indicated in one list item. References to information sources are drawn up in numbers enclosed in square brackets (for example, [1]).

Bibliographic descriptions are drawn up in accordance with GOST 7.1-2003 and carefully verified. If the link to the source of information in the text of the article is repeated, then, repeatedly, in square brackets indicate its number from the list (without using the following serial number and the link “Ibid” in the bibliographic list). In the case of links to various materials from the same source, you must also indicate each time the page number in square brackets. For example, [1, 17] or [1, 28-29].

The most common descriptions – articles, books, conference proceedings, patents and electronic resources are given as an example, for example:

Book under the name of the author

1 Maximov N.V., Partyka T.L., Popov I.I. Architecture of computers and computing systems: Textbook for universities. - M.: Infra - M, 2005.-512 p.

2 Dushkov B.A., Korolev A.V., Smirnov B.A. Psychology of labor, professional, informational and organizational activities: Textbook for universities. - M: Academic project, 2005.-848 p.

Book under the title.

The description of the book is given in the title if the book is written by four or more authors. The title describes collective monographs, collections of articles, etc.

1 World art culture: in 2 volumes / B.A. Erengross [et al.]. - M.: Higher School, 2005. - Vol.2. - 511 p.
2 A set of control tasks and tests for economic analysis: a training method, a manual for universities / A.A. Slivinskaya [et al.]. - Yelets: Publishing house of the Yelets state University, 2003.- 73 p.

Legislative materials

The Constitution of the Russian Federation . - M.: Prior, 2001 .-- 32 p. The Code of Civil Procedure of the RSFSR: [adopted on the third session of the Supreme Council of the RSFSR of the sixth convocation on June 11, 1964]: offic. text: as of Nov 15 2001 / Ministry of Justice of RF. - M.: Marketing, 2001. - 159 p.

Standards

Household electronic equipment. Input and output parameters and connection types. Technical requirements [Text]: GOST R 517721 - 2001. - Introduction. 2002-01-01. - M .: Publishing house of standards, 2001. - IV, 27 p.: Ill.

Patent documents

Transceiver: Pat. 2187888 Russ. Federation: IPC H 04 B 1/38, H 04 J 13/00 / Chugayeva V.I .; applicant and patent holder Voronezh, scientific – research Institute of Communication. - No. 2000131736/09; declared 12/18/00; publ. 08/20/02, Bull. No. 23 (II hour). - 3 s: ill.

Dissertations, abstracts of dissertations

Belozеров I.V. The religious policy of the Golden Horde in Russia in the 13-14 centuries: cand. of Hist. Sciences: 07.00.02: defended 01.22.02: approved. July 15, 02 / Belozеров Ivan Valentinovich. -M., 2002.215 s. -Bibliogr.: p. 202-213. -04200201565.

Bibliographic Description of a Document from the Internet

1 Bychkova L.S. Constructivism // Cultural Studies 20th Century - “K”. - ([http // www.philosophy.ru / edu / ref / enc / k.htm](http://www.philosophy.ru/edu/ref/enc/k.htm) 1).

2 The psychology of meaning: nature, structure and dynamics Leontieva D.A. -First ed. - 1999. - ([http // www.smysl.ru / annot.php](http://www.smysl.ru/annot.php)).

When preparing article literature, it is necessary to provide a complete list of authors of the publication (without etc.).

If there are notes in the text, then after the main text the heading “**Notes**” is typed in the center, and the text of the notes, numbered by a number in the form of a superscript (for example 1) in the order of links in the text, is placed in a line. The link to the notes in the main text is drawn up not in bold, but as a superscript (for example, ... of model 1).

Tables are placed on the text. The numbering of the tables is carried out in the order of links in the text. The numbering heading of the table is typed in bold with left justification (for example, Table 1). The thematic title (if any) is typed on the same line in bold with left justification. The link to the table in the main text is made in bold in brackets - for example, (table 1). If the table has a large volume, it can be placed on a separate page, and in the case when it has a significant width - on a page with landscape orientation.

Figures are placed on the text. Numbering of figures is made in the order of links in the text. The numbering heading is typed in bold and centered (for example, Figure 1). Thematic title (if available).

- in the same line immediately after the numbering line (for example, Figure 1 – Dependence).

The link to the figure in the main text is made in bold in brackets - for example (Figure 1). If the picture has a large format, it should be placed on a separate page, and in the case when it has a significant width - on a page with landscape orientation. Pictures can be scanned from the original (150 spi in grayscale) or executed by computer graphics. It is allowed, and in the case of illustrations of a large volume (file), the placement of figures in a separate file of the electronic version is welcome. Captions for drawings should be made directly below the drawing.

Attached to the article:

- cover letter (for third-party organizations)

- conclusions of at least two experts:

1) from the expert commission of the Research Institute for Biological Safety Problems (internal expertise);

2) from independent experts of third-party specialized organizations (external expertise);

3) for articles in English - from an independent expert in areas from among the foreign editorial and expert council of the scientific and practical journal of RIBSP “**Биоқауіпсіздік және Биотехнология/Биобезопасность и Биотехнология**”.

- information about the author: surname, name and patronymic (in full), academic degree, position, place of work, contact phones, address for correspondence (e-mail).

Payment should be made after passing the examination and receiving a review of the article. The payment for the publication of 1 article for Kazakhstani scientists and researchers is 2 monthly calculation indexes, for authors from foreign countries – \$15 US.

Articles that do not meet the specified requirements are not accepted for publication.

Our address:

15, B. Momysuly Street, Gvardeyskiy, Korday, Zhambyl oblast, 080409.

RSE “Research Institute for Biological Safety Problems” SC MES RK

Scientific and Educational Training Center (SETC), tel. (726-36) 7-22-28, int. 112.

E-mail: unots@biosafety.kz

Details for payment of publication:

Beneficiary: RSE at REM “Scientific Research Institute of Biological Safety Problems” of the Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan

BIC of bank: HSBKKZKX

IC: KZ656010131000155334

IC: KZ766010131000133020 (USD)

BC: 16

PPC: 859

Payment destination: Publication of an article in a scientific and practical journal «Биоқауіпсіздік және Биотехнология/Биобезопасность и Биотехнология».



МАЗМҰНЫ

ВЕТЕРИНАРИЯ

Абеуов Х.Б., Кошеметов Ж.К., Закарья К.Д., Сейсенбаева М.С., Оразымбетова Н.К., Қожамқұлов Е.М., Маткеримова К.Ғ. ЖАНУАРЛАР ХЛАМИДИОЗЫН БАЛАУ ҮШІН ИММУНДЫ ФЕРМЕНТТІК ТАЛДАУ ӘДІСІН ОҢТАЙЛАНДЫРУ	5
Акылбаева К.К., Нурпейсова А.С., Джекебеков К.К., Абитаев Р.Т., Қалимолда Э.Ж., Шораева К.А., Касенов М.М., Асанжанова Н.Н., Кыдырбаев Ж. К., Закарья К.	
Н5 ЖӘНЕ Н9 СУБТИПТЕРІНДЕГІ ҚҰС ТҰМАУЫНА ҚАРСЫ ИНАКТИВТЕНДІРІЛГЕН ЭМУЛЬГИРЛЕНГЕН ВАКЦИНАНЫҢ ТӘЖІРИБЕЛІК-ӨНДІРІСТІК СЕРИЯСЫНЫҢ САПАСЫН БАҚЫЛАУ	10
Алпысбаева Г.Е., Барахов Б.Б., Малдыбаева А.А., Қалан Қ., Шамгунов Н.А.	
СҮТ ФЕРМАЛАРЫНДА ДЕЗИНФЕКЦИЯ ШАРАЛАРЫНЫҢ ТИІМДІЛІГІ	14
Байдуллаев Ж., Омарбекова У.Ж.	
ТҮРКІСТАН ОБЛЫСЫ САЙРАМ АУДАНЫНЫҢ АУМАҒЫНДАҒЫ ТОПАЛАҢ ҚОРЫМДАРЫНА ИНДЕТТАНУЛЫҚ ТАЛДАУ	17
Барахов Б.Б., Алпысбаева Г.Е., Малдыбаева А.А., Шарапова У.А., Асқар А.	
САУЫН СИЫРЛАРДЫҢ ЖЕЛІН ҮРПСІН ВЕТЕРИНАРИЯЛЫҚ ӨНДЕУ ТИІМДІЛІГІНІҢ НӘТИЖЕЛЕРІ	20
Джапашева А.С., Абсатова Ж.С., Кенжебаева М.К., Азанбекова М.А., Жугунисов К.Д., Өмуртай Ә.Д., Мамбеталиев М., Килыбаев С.С.	
ТҮЙЕ ШЕШЕГІ ВИРУСЫНЫҢ ВАКЦИНАЛЫҚ ШТАМЫНА ҚОРҒАНЫС ОРТАСЫН ТАҢДАУ ЖӘНЕ ШТАМ ҮЛГІЛЕРІНІҢ ӨРТҮРЛІ ТЕМПЕРАТУРАЛЫҚ-МЕРЗІМДІК РЕЖИМДЕРДЕ САҚТАЛУЫН ЗЕРТТЕУ	24
Жаппарова Г.А., Мырзахметова Б.Ш., Наханов А.К., Жолдыбаева Б.М., Иманкулова А.Б., Терейбай А.А.	
ҚОЙ ЭМБРИОНЫНЫҢ ТЕРІ ЖАСУШАЛАРЫНЫҢ (ҚЭТ) БАСТАПҚЫ ӨСІНДІСІН БӨЛІП АЛУ ЖӘНЕ ӨСІРУ ӘДІСІ	30
Наханова Г.Д., Кыдырбаев Ж., Орынбаев М.Б., Нурабаев С.Ш., Кошеметов Ж.К.	
ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНЫҢ АУМАҒЫНДА ТҰМАУ БОЙЫНША ЭПИДЕМИОЛОГИЯЛЫҚ ЖӘНЕ ЭПИЗООТОЛОГИЯЛЫҚ МОНИТОРИНГ	34
Сармыкова М.К., Еспембетов Б.А., Зинина Н.Н., Серикбай Е.Б., Исабеков С.С., Ахажанова И.А., Абдураимов Е.О., Закарья К.Д.	
ЭПИЗООТИЯЛЫҚ БРУЦЕЛЛА ӨСІНДІЛЕРІНІҢ ЛИОФИЛИЗАЦИЯДАН КЕЙІНГІ БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАСИЕТТЕРІНІҢ ТҮРАҚТЫЛЫҒЫ	41
Шаяхметов Е.А., Далбаев Н.К., Қондыбаева Ж.Б., Аманова Ж.Т., Саметова Ж.Ж., Ершебулов З.Д., Булатов Е.А.	
БҚПҒЗИ-ДА ӨЗІРЛЕНГЕН АУЫЛ ШАРУАШЫЛЫҚ ЖӘНЕ ҮЙ ЖАНУАРЛАРЫНЫҢ ҚҰТЫРЫҒЫНА ҚАРСЫ ИНАКТИВ-ТЕНДІРІЛГЕН ВАКЦИНА	46

БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАУІПСІЗДІК ПЕН БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚОРҒАУ

Амирханова Н.Т., Таболдиев Д.Р., Уланқызы А., Джалдыбаева А.Е., Килибаев С.С.	
БҚПҒЗИ-ДА I-IV ТОПТАҒЫ ПАТОГЕНДІ МИКРООРГАНИЗМДЕРМЕН ЖҰМЫС ІСТЕУДІҢ БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАУІПСІЗДІГІ	52

МОЛЕКУЛАЛЫҚ БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ГЕНДІК ИНЖЕНЕРИЯ

Алмежанова М.Д., Султанқұлова К.Т.	
ПОЛИМЕРАЗДЫ ТІЗБЕКТІ РЕАКЦИЯ КӨМЕГІМЕН ІРІ ҚАРА МАЛДЫҢ ТҮЙІНДІ ДЕРМАТИТ ВИРУСЫН АЙҚЫНДАУ ҮШІН ДНҚ БӨЛҮДІҢ ОҢТАЙЛЫ ӘДІСІН ТАҢДАУ	58
Бурашев Е.Д., Исабек А.Ұ., Садикалиева С.О., Касенов М.М., Султанқұлова К.Т.	
ҚҰС ТҰМАУ ВИРУСЫНЫҢ РЕКОМБИНАНТТЫ АҚУЫЗДАРЫН ТАЗАЛАУ ӘДІСІН ТАҢДАП ЖӘНЕ ОНЫҢ ТИІМДІ ШАРТТАРЫН АНЫҚТАУ	62

ФИТОСАНИТАРИЯ

Мауленбай А.Д., Рсалиев А.С.	
СЕПТОРИОЗ ҚОЗДЫРҒЫШЫ ИЗОЛЯТТАРЫНЫҢ БИДАЙ СОРТТАРЫНА ВИРУЛЕНТТІЛІГІ	68
Касенов М.М., БҚПҒЗИ бас директорының өндірістік қызмет жөніндегі орынбасары, в.ғ.к.	
САТУҒА ДАЙЫН БІЗДІҢ ӨНІМДЕРІМІЗ	72
ЖУРНАЛДА ЖАРИЯЛАУ ҮШІН ҒЫЛЫМИ МАҚАЛАЛАРҒА ҚОЙЫЛАТЫН ТАЛАПТАР	73

СОДЕРЖАНИЕ

ВЕТЕРИНАРИЯ

Абеуов Х.Б., Кошеметов Ж.К., Закарья К.Д., Сейсенбаева М.С., Оразымбетова Н.К., Кожамкулов Е.М., Маткеримова К.Г. ОПТИМИЗАЦИЯ ИММУНОФЕРМЕТНОГО АНАЛИЗА ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ ХЛАМИДИОЗА ЖИВОТНЫХ	5
Акылбаева К.К., Нурпейсова А.С., Джекебеков К.К., Абитаев Р.Т., Қалимолда Э.Ж., Шораева К.А., Касенов М.М., Асанжанова Н.Н., Кыдырбаев Ж.К., Закарья К. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ОПЫТНО-ПРОИЗВОДСТВЕННОЙ СЕРИИ ИНАКТИВИРОВАННОЙ ЭМУЛЬГИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ГРИППА ПТИЦ СУБТИПОВ H5 И H9	10
Алпысбаева Г.Е., Барахов Б.Б., Малдыбаева А.А., Қалан Қ., Шамгунов Н.А. ЭФФЕКТИВНОСТЬ ДЕЗИНФЕКЦИОННЫХ МЕРОПРИЯТИЙ В МОЛОЧНЫХ ХОЗЯЙСТВАХ	14
Байдуллаев Ж., Омарбекова У.Ж. ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЗАХОРОНЕНИЙ СИБИРСКОЙ ЯЗВЫ НА ТЕРРИТОРИИ САЙРАМСКОГО РАЙОНА ТУРКЕСТАНСКОЙ ОБЛАСТИ	17
Барахов Б.Б., Алпысбаева Г.Е., Малдыбаева А.А., Шарапова У.А., Асқар А. РЕЗУЛЬТАТЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ ВЕТЕРИНАРНОЙ ОБРАБОТКИ СОСКОВ ВЫМЕНИ У ДОЙНЫХ КОРОВ 20 Джапашева А.С., Абсатова Ж.С., Кенжебаева М.К., Азанбекова М.А., Жугунисов К.Д., Өмуртай Ә.Д., Мамбеталиев М., Килыбаев С.С. ВЫБОР ЗАЩИТНОЙ СРЕДЫ К ВАКЦИННОМУ ШТАММУ ВИРУСА ОСПЫ ВЕРБЛЮДОВ И СОБЛЮДЕНИЕ ОБРАЗЦОВ ШТАММОВ В РАЗЛИЧНЫХ ТЕМПЕРАТУРНО-ВРЕМЕННЫХ РЕЖИМАХ	24
Жаппарова Г.А., Мырзахметова Б.Ш., Наханов А.К., Жолдыбаева Б.М., Иманкулова А.Б., Терейбай А.А. МЕТОДИКА ПОЛУЧЕНИЯ И КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПЕРВИЧНОЙ КУЛЬТУРЫ КОЖИ ЭМБРИОНА ОВЦЫ	30
Наханова Г.Д., Кыдырбаев Ж., Орынбаев М.Б., Нурабаев С.Ш., Кошеметов Ж.К. ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЙ И ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ ПО ГРИППУ НА ТЕРРИТОРИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН	34
Сармыкова М.К., Еспембетов Б.А., Зинина Н.Н., Серикбай Е.Б., Исабеков С.С., Ахажанова И.А., Абдураимов Е.О., Закарья К.Д. СТАБИЛЬНОСТЬ БИОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ЭПИЗООТИЧЕСКИХ КУЛЬТУР БРУЦЕЛЛ ПОСЛЕ ЛИОФИЛИЗАЦИИ ...	41
Шаяхметов Е.А., Далбаев Н.К., Кондибаева Ж.Б., Аманова Ж.Т., Саметова Ж.Ж., Ершебулов З.Д., Булатов Е.А. ИНАКТИВИРОВАННАЯ ВАКЦИНА ПРОТИВ БЕШЕНСТВА ДЛЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ И ДОМАШНИХ ЖИВОТНЫХ, РАЗРАБОТАННАЯ В НИИПББ	46

БИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ И БИОЗАЩИТА

Амирханова Н.Т., Таболдиев Д.Р., Уланкызы А., Джалдыбаева А.Е., Килибаев С.С. БИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ РАБОТЫ С МИКРООРГАНИЗМАМИ I-IV ГРУПП ПАТОГЕННОСТИ В НИИПББ	52
--	----

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

Алмежанова М.Д., Султанкулова К.Т. ПОДБОР ОПТИМАЛЬНОГО МЕТОДА ВЫДЕЛЕНИЯ ДНК ДЛЯ ВЫЯВЛЕНИЯ ВИРУСА НОДУЛЯРНОГО ДЕРМАТИТА КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА МЕТОДОМ ПОЛИМЕРАЗНОЙ ЦЕПНОЙ РЕАКЦИИ	58
Бурашев Е.Д., Исабек А.У., Садикалиева С.О., Касенов М.М., Султанкулова К.Т. ВЫБОР МЕТОДА И ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ ОЧИСТКИ РЕКОМБИНАНТНЫХ БЕЛКОВ ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ ...	62

ФИТОСАНИТАРИЯ

Мауленбай А.Д., Рсалиев А.С. ВИРУЛЕНТНОСТЬ ИЗОЛЯТОВ ВОЗБУДИТЕЛЯ СЕПТОРИОЗА К СОРТАМ ПШЕНИЦЫ	68
--	----

Касенов М.М., заместитель генерального директора НИИПББ по производственной деятельности, к.в.н. НАШИ ПРОДУКЦИИ, ГОТОВЫЕ К РЕАЛИЗАЦИИ	72
--	----

ТРЕБОВАНИЯ К АВТОРАМ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В ЖУРНАЛЕ	73
---	----

CONTENTS

VETERINARY MEDICINE

Abeuov Kh.B., Koshemetov Zh.K., Zakarya K.D., Seisenbayeva M.S., Orazymbetova N.K., Kozhamkulov Ye.M., Matkerimova K.G. DEVELOPMENT OF ELISA FOR DIAGNOSIS OF CHLAMYDIOSIS ANIMALS	5
Akylbayeva K.K., Nurpeisova A.S., Zhekebekov K.K., Abitayev R.T., Kalimolda E.Zh., Shorayeva K.A., Kassenov M.M., Assanzhanova N.N., Kydyrbaev Zh.K., Zakarya K. QUALITY CONTROL OF THE EXPERIMENTAL PRODUCTION SERIES INACTIVATED EMULSIFIED VACCINE AGAINST AVIAN INFLUENZA SUBTYPES H5 AND H9	10
Alpysbayeva G.E., Barakhov B.B., Maldybayeva A.A., Kalan K., Shamgunov N.A. EFFICIENCY OF DISINFECTION MEASURES IN DAIRY FARMS	14
Baidullayev Zh., Omarbekova U.Zh. EPIDEMIOLOGICAL ANALYSIS OF ANTHRAX BURIALS ON THE TERRITORY OF SAIRAM DISTRICT OF TURKESTAN REGION	17
Barakhov B.B., Alpysbayeva G.E., Maldybayeva A.A., Sharapova U.A., Askar A. RESULTS OF EFFECTIVENESS OF VETERINARY TREATMENT OF UDDER TEATS IN DAIRY COWS	20
Dzhasheva A.S., Absatova Zh.S., Kenzhebayeva M.K., Azanbekova M.A., Zhugunisov K.D., Omurtai O.D., Mambetaliyev M., Kilybayev S.S. SELECTION OF PROTECTIVE MEDIUM TO VACCINE STRAIN OF CAMELPOX VIRUS AND COMPLIANCE WITH SAMPLES OF STRAINS IN DIFFERENT TEMPERATURE AND TIME MODES	24
Zhapparova G.A., Myrzakmetova B.Sh., Nakhanov A.K., Zholdybayeva B.M., Imankulova A.B., Terebai A.A. METHOD OF OBTAINING AND CULTIVATION OF PRIMARY CULTURE OF SHEEP EMBRYO SKIN	30
Nahanova G.D., Kydyrbaev Zh., Orynbaev M.B., Nurabayev S.Sh., Koshemetov Zh.K. EPIDEMIOLOGY AND EPIZOOTOLOGICAL MONITORING ON FLU ON TERRITORY OF REPUBLIC OF KAZAKHSTAN 34	
Sarmyikova M.K., Yespembetov B.A., Zinina N.N., Isabekov S.S., Serikbay Ye.B., Akhazhanova I.A., Abduraimov E.O., Zakarya K.D. STABILITY OF BIOLOGICAL PROPERTIES OF EPIZOOTIC BRUCELLA CULTURES AFTER LYOPHILIZATION	41
Shayakhmetov E., Dalbayev N., Kondybayeva Zh., Amanova Zh., Sametova Zh., Yershebulov Z., Bulatov Ye. INACTIVATED RABIES VACCINE FOR FARM ANIMALS AND PETS, DEVELOPED IN RIBSP	46

BIOLOGICAL SAFETY AND BIOSECURITY

Amirkhanova N.T., Taboldiyev D.R., Ulankyzy A., Dzhaldybayeva A.E., Kilibayev S.S. BIOLOGICAL SAFETY OF WORK MICROORGANISMS I-IV PATHOGENIC GROUPS IN RIBSP	52
---	----

MOLECULAR BIOLOGY AND GENETIC ENGINEERING

Almezhanova M.D., Sultankulova K.T. SELECTION OF AN OPTIMAL DNA EXTRACTION METHOD FOR THE DETECTION OF CATTLE LUMPY SKIN DISEASE VIRUS BY POLYMERASE CHAIN REACTION	58
Burashev Y.D., Isabek A.U., Sadikalieva S.O., Kassenov M.M., Sultankulova K.T. CHOICE OF METHOD AND OPTIMIZATION OF THE CONDITIONS FOR PURIFICATION OF RECOMBINANT PROTEINS OF THE AVIAN INFLUENZA VIRUS	62

PHYTOSANITARY

Maulenbay A.D., Rsaliyev A.S. VIRULENCE OF SEPTORIA PATHOGEN ISOLATES TO WHEAT VARIETIES	68
--	----

Kassenov M.M., Acting Deputy Director General for Production Activity, candidate of veterinary Sciences OUR PRODUCTION FOR REALIZATION	72
AUTHOR INSTRUCTIONS TO THE JOURNAL	73