ISSN 2707-7241

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

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

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

2020 ЖЫЛДАН ШЫҒА БАСТАҒАН
ИЗДАЕТСЯ С 2020 ГОДА
PUBLISHED SINCE 2020

2021 • 5

Бас редакторы
б. ғ. д., профессор, ҚР ҰҒА 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)
Бурашев Е.Д. PhD (Қазақстан)
Герилович А.П. в. ғ. д., проф. (Украина)
Risatti G. PhD, проф. (Америка құрама штаттары)
Еспембетов Б.А. в. ғ. к., проф. (Қазақстан)
Жугунисов К.Д. PhD (Қазақстан)
Касенов М.М. в. ғ. к. (Қазақстан)
Kock R. PhD, проф. (Ұлыбритания)
Кошеметов Ж.К. б. ғ. д., проф. (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. PhD (Қазақстан)
Орынбаев М.Б. в. ғ. к., проф., ҚР ҰҒА корр.-мүшесі (Қазақстан)
Рсалиев А.С. а-ш. ғ. к., проф. (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., проф. (Қазақстан)

Корректор: 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
Тиражы: 200 дана

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

© Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты, 2021

Главный редактор
д-р биол. наук, 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
Бурашев Е.Д. PhD (Казахстан)
Герилович А.П. д-р вет. наук, проф. (Украина)
Risatti G. PhD, проф. (США)
Еспембетов Б.А. канд. вет. наук, проф. (Казахстан)
Жугунисов К.Д. PhD (Казахстан)
Касенов М.М. канд. вет. наук (Казахстан)
Kock R. PhD, проф. (Великобритания)
Кошеметов Ж.К. д-р биол. наук, проф. (Казахстан)
Кутумбетов Л.Б. д-рвет. наук, ассоц. проф. (Казахстан)
Кыдырбаев Ж.К. канд. вет. наук, проф. (Казахстан)
Мамбеталиев М. канд. вет. наук, ассоц. проф. (Казахстан)
Мырзахметова Б.Ш. канд. биол. наук (Казахстан)
Наханов А.К. канд. биол. наук (Казахстан)
Нургазиев Р.З. д-р вет. наук, проф. (Кыргызстан)
Нурпейсова А.С. PhD (Казахстан)
Орынбаев М.Б. канд. вет. наук, проф., член-корр. НАН РК. (Казахстан)
Рсалиев А.С. канд. с.-х. наук, проф. (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, проф. (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: unots@biosafety.kz

© Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, 2021

Editor in chief
Doctor of Biology Sciences, 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)
Burashev Ye.D. PhD (Kazakhstan)
Gerilovich A.P. Doc. Vet., Prof. (Ukraine)
Risatti G. PhD., Prof. (USA)
Espembetov B.A. Cand. Vet., Prof. (Kazakhstan)
Kassenov M.M. Cand. Vet. (Kazakhstan)
Kock R. PhD., Prof. (United Kingdom)
Koshemetov Zh.K. Doc. Biol., Prof. (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. PhD (Kazakhstan)
Orynbayev M.B. Cand. Vet., Prof., Corresponding member NAS RK (Kazakhstan)
Rsaliyev A.S. Cand. Agri., Prof. (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., Prof. (Kazakhstan)
Zhugunisov K.D. PhD (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 Mnistry of Information and Social Development of the Republic of Kazakhstan **# KZ33V00017380**, issued 20.11.2019.

Periodicity: 4 times a year
Circulation: 200 copies

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

© Research Institute for Biological Safety Problems, 2021

МАЗМҰНЫ

ШОЛУ МАҚАЛА

Туысқанова М.С., Өмуртай Ә.Д., Жүгінісов Қ.Д.

КОРОНАВИРУСТАРҒА БЕЙІМ БИОЛОГИЯЛЫҚ МОДЕЛЬДЕР: ҒЫЛЫМИ ӘДЕБИЕТТЕРГЕ ШОЛУ..... 6

ВЕТЕРИНАРИЯ

Абсатова Ж.С., Мамбеталиев М., Қыдырбаев Ж.Қ., Азанбекова М.А., Кенжебаева М.К., Өмуртай Ә.Д., Джапашева А.С., Жүгінісов Қ.Д.

ҚҰС ТҰМАУЫ ВИРУСЫНЫҢ ЗАРДАПТЫЛЫҒЫ ЖОҒАРЫ ШТАМЫНЫҢ ИНФЕКЦИЯЛЫҚ ЖӘНЕ ЗАРДАПТЫЛЫҚ БЕЛСЕНДІЛІГІНІҢ САҚТАЛУЫН ЗЕРТТЕУ 17

Кулбеков Е.К., Кыдырбаев Ж., Рыскельдинова Ш.Ж., Кожамкулов Е.М., Нурпейсова А.С., Асанжанова Н.Н., Закарья К.Д.

ТҰМАУ ВИРУСЫНЫҢ A/HONG KONG/308/2014өA/PR/8/34 [R] (6+2) H9N2 (SJ008) РЕКОМБИНАНТТЫ ШТАММЫН ӨСІРУ ЖАҒДАЙЛАРЫН ОҢТАЙЛАНДЫРУ..... 25

Наханова Г.Д., Кошеметов Ж.К., Сейсенбаева М.С., Оразымбетова Н.К., Умуралиев Б.К.

КЛОСТРИДИОЗ КЕЗІНДЕ ЗЕРТХАНАЛЫҚ ТЕСТ-ЖҮЙЕЛЕР ҮШІН ТӘНДІ ҚАН САРЫСУЛАРЫН АЛУ..... 31

Саметова Ж.Ж., Мараховская Л.Г., Ершебулов З.Д., Аманова Ж.Т., Шаяхметов Е.А., Кыргызбаева А.С., Наханов А.К., Булатов Е.А.

ВНК 21/С13 ТОРШАЛАР ЖҮЙЕСІНІҢ СУСПЕНЗИЯЛЫҚ ӨСІРУДІҢ ОҢТАЙЛЫ ПАРАМЕТРЛЕРІН АНЫҚТАУ 37

БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАУІПСІЗДІК ПЕН БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚОРҒАУ

Ұланқызы А., Таболдиев Д.Р., Килибаев С.С., Амирханова Н.Т., Джалдыбаева А.Е., Тургын М.Б.

ТЫНЫС АЛУ ОРГАНДАРЫН ҚОРҒАУ ҚҰРАЛДАРЫ ТИІМДІЛІГІНІҢ НЕГІЗГІ ФАКТОРЛАРЫ РЕТІНДЕ РЕСПИРАТОРЛАРДЫ БЕТТІҢ ФОРМАСЫНА САЙ САПАЛЫ КИЮ ЖӘНЕ ТАҢДАУ..... 42

№5
2021

МОЛЕКУЛАЛЫҚ БИОЛОГИЯ ЖӘНЕ ГЕНДІК ИНЖЕНЕРИЯ

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

ОМР19 РЕКОМБИНАНТТЫ АҚУЫЗЫН АЛУ ЖӘНЕ ОНЫҢ СИППАТТАМАЛАРЫ..... 48

ФИТОСАНИТАРИЯ

Молдажанова Р.А., Чудинов В.А., Мәуленбай А.Д., Рсалиев А.С.

ЖАЗДЫҚ ЖҰМСАҚ БИДАЙДЫҢ СЕЛЕКЦИЯЛЫҚ ЖАҢА ЛИНИЯЛАРЫНЫҢ PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS ҚОЗДЫРҒЫШ ИЗОЛЯТТАРЫНА ӨСКІНДІК ТӨЗІМДІЛІГІ..... 57

ЖУРНАЛДА ЖАРИЯЛАУ ҮШІН ҒЫЛЫМИ МАҚАЛАЛАРҒА ҚОЙЫЛАТЫН ТАЛАПТАР..... 63

СОДЕРЖАНИЕ

ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

Туысканова М.С., Өмуртай Ә.Д., Жугинисов К.Д.

ВОСПРИИМЧИВЫЕ К КОРОНАВИРУСАМ БИОЛОГИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ: ОБЗОР НАУЧНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ 6

ВЕТЕРИНАРИЯ

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

ИЗУЧЕНИЕ СОХРАНЯЕМОСТИ ПРИ ХРАНЕНИИ ИНФЕКЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ И ПАТОГЕННОСТИ ВЫСОКОПАТОГЕННОГО ШТАММА ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ 17

Кулбеков Е.К., Кыдырбаев Ж., Рыскельдинова Ш.Ж., Кожамкулов Е.М., Нурпейсова А.С., Асанжанова Н.Н., Закарья К.Д.

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА A/HONG KONG/308/2014ΘA/PR/8/34 [R] (6+2) H9N2 (SJ008) ВИРУСА ГРИППА 25

Наханова Г.Д., Кошеметов Ж.К., Сейсенбаева М.С., Оразымбетова Н.К., Умуралиев Б.К.

ПОЛУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ СЫВОРОТОК ДЛЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ ПРИ КЛОСТРИДИОЗЕ 31

Саметова Ж.Ж., Мараховская Л.Г., Ершебулов З.Д., Аманова Ж.Т., Шаяхметов Е.А., Кыргызбаева А.С., Наханов А.К., Булатов Е.А.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ СУСПЕНЗИОННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛИНИИ КЛЕТОК ВНК 21/c13 37

БИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ И БИОЗАЩИТА

Уланкызы А., Таболдиев Д.Р., Килибаев С.С., Амирханова Н.Т., Джалдыбаева А.Е., Тургын М.Б.

КАЧЕСТВО ПРИЛЕГАНИЯ И ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ ПОДБОР РЕСПИРАТОРОВ КАК КЛЮЧЕВЫЕ ФАКТОРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ СРЕДСТВА ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ 42

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

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

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА OMP19 BRUCELLA SPP 48

ФИТОСАНИТАРИЯ

Молдажанова Р.А., Чудинов В.А., Мауленбай А.Д., Рсалиев А.С.

ПРОРОСТКОВАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ НОВЫХ СЕЛЕКЦИОННЫХ ЛИНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ К ИЗОЛЯТАМ ВОЗБУДИТЕЛЯ PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS 57

ТРЕБОВАНИЯ К АВТОРАМ ДЛЯ ПУБЛИКАЦИИ В ЖУРНАЛЕ 63

CONTENTS

REVIEW ARTICLE

Tuyskanova M.S., Omurtai A.D., Zhuginisov K.D.

CORONAVIRUS-SUSCEPTIBLE BIOLOGICAL MODELS: REVIEW OF SCIENTIFIC LITERATURE 6

VETERINARY MEDICINE

Absatova Zh., Mambetaliyev M., Kydyrbayev Zh., Azanbekova M., Kenzhebayeva M., Omurtay A., Dzhapasheva A., Zhugunissov K.

STUDY OF PRESERVATION OF INFECTIOUS AND PATHOGENIC ACTIVITY OF HIGHLY PATHOGENIC STRAIN OF BIRD INFLUENZA VIRUS DURING STORAGE 17

Kulbekov E.K., Kydyrbaev Zh., Ryskeldinova Sh.Zh., Kozhamkulov E.M., Nurpeisova A.S., Asanzhanova N.N., Zakarya K.D.

OPTIMIZATION OF CULTIVATION CONDITIONS OF THE RECOMBINANT STRAIN A/HONG KONG/308/2014ɵA/PR/8/34 [R] (6+2) H9N2 (SJ008) OF THE INFLUENZA VIRUS 25

Nakhanova G.D., Koshemetov Zh.K., Seisenbayeva M.S., Orazymbetova N.K., Umuraliyev B.K.

PREPARATION OF SPECIFIC SERA FOR LABORATORY TEST-SYSTEMS IN CLOSTRIDIOSIS 31

Sametova Zh.Zh., Marakhovskaya L.G., Ershebulov Z.D., Amanova Zh.T., Shayakhmetov E.A., Kyrghyzbaeva A.S., Nakhanov A.K., Bulatov E.A.

DETERMINATION OF OPTIMAL PARAMETERS OF SUSPENSION CULTURE OF THE BHK 21/c13 CELL LINE 37

BIOLOGICAL SAFETY AND BIOSECURITY

Ulankyzy A., Taboldiyev D., Kilibayev S., Amirkhanova N., Dzhaldybayeva A., Turgyn M.

FIT QUALITY AND INDIVIDUAL SELECTION OF RESPIRATORS AS KEY FACTORS OF THE EFFICIENCY OF THE PERSONAL RESPIRATORY PROTECTION 42

MOLECULAR BIOLOGY AND GENETIC ENGINEERING

Abubakirova A.K., Tailakova E.T., Sadikalieva S.O., Shynybekova G.O., Isabek A.U., Sultankulova K.T., Chervyakova O.V.

CONSTRUCTION, EXPRESSION, PURIFICATION AND ANTIGENICITY OF RECOMBINANT OUTER MEMBRANE PROTEIN OMP19 BRUCELLA SPP 48

PHYTOSANITARY

Moldazhanova R.A., Chudinov V.A., Maulenbay A.D., Rsaliyev A.S.

SEEDLING RESISTANCE OF NEW SPRING BREAD WHEAT LINES TO ISOLATES OF THE PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS 57

AUTHOR INSTRUCTIONS TO THE JOURNAL 63

ОБЗОРНАЯ СТАТЬЯ

ӘОЖ 578:59.084:619

М.С. Туысқанова[1], Ә.Д. Өмуртай[2], Қ.Д. Жүгінісов[2]

[1] Әл-фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті, Алматы, Қазақстан
[2] ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМК, Гвардейский қтп., Қазақстан

КОРОНАВИРУСТАРҒА БЕЙІМ БИОЛОГИЯЛЫҚ МОДЕЛЬДЕР: ҒЫЛЫМИ ӘДЕБИЕТТЕРГЕ ШОЛУ

Аннотация. 2019 жылдың желтоқсан айында адамзат коронавирустар тудырған жаңа эпидемиялық ахуалға тап болды. Жағдай Қытай Халық Республикасында Хубей провинциясында көрініс тапты. Қазіргі таңда әлемнің көп мемлекеттерінің қатаң эпидемиологиялық шараларды іске асыра алмауынан, бұл індет толыққанды бүкіләлемдік пандемияға айналды.

Пандемияның барлық әлемге экономикалық зардабы көп тиюде, аурудың патогендігін жіті анықтау мақсатында биологиялық модель алу проблемасы туындауда. Сонымен қатар көптеген мемлекеттер вакцина шығаруды қолға алып отыр. Вакциналарды клиникалық сынау мақсатында да биологиялық модель табу қажеттілігі өте жоғары. Осы шолу мақаласында коронавирустық инфекцияға қарсы биологиялық модель іздеу бойынша әр түрлі ғалымдардың жұмыстары талданған.

Түйін сөздер: вакцина, клиникалық сынау, коронавирустық инфекция, биологиялық модель.

М.С. Туысканова[1], Ә.Д. Өмуртай[2], К.Д. Жугинисов[2]

[1] Казахский национальный университет им. Аль-Фараби, Алматы, Казахстан
[2] РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Казахстан

ВОСПРИИМЧИВЫЕ К КОРОНАВИРУСАМ БИОЛОГИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ: ОБЗОР НАУЧНОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

Аннотация. В декабре 2019 года человечество столкнулось с новой эпидемией, вызванной коронавирусами. Событие развивалось в провинции Хубэй Китайской Народной Республики. Из-за неспособности многих стран мира применять строгие эпидемиологические меры, это превратилось в полноценную пандемию.

Экономическое влияние пандемии на весь мир велико, существует проблема получения биологической модели для анализа возбудителя в зоне распространения болезни.

Также многие страны начали работы по разработке вакцин против данной болезни, и встает вопрос о подходящей биологической модели для клинических испытаний разработанных вакцин. В данной обзорной статье анализируются работы разных ученых по поиску биологической модели против коронавирусной инфекции.

Ключевые слова: вакцина, клинические испытания, коронавирусная инфекция, биологическая модель.

M.S. Tuyskanova[1], A.D. Omurtai[2], K.D. Zhuginisov[2]

[1] Al-Farabi Kazakh National University, Almaty, Kazakhstan
[2] RSE "Research Institute for Biological Safety Problems" SC MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan

CORONAVIRUS-SUSCEPTIBLE BIOLOGICAL MODELS: REVIEW OF SCIENTIFIC LITERATURE

Abstract. In December 2019, humanity faced a new epidemic caused by coronaviruses. The event developed in the Hubei Province of the People's Republic of China. Because of the failure of many countries around the world to apply strict epidemiological measures, this has turned into a full-blown pandemic.

The economic impact of the pandemic on the whole world is great, there is a problem of obtaining a biological model to analyze the pathogen in the area of spread of the disease. Also, many countries have begun work on developing vaccines against the disease, and there is a question of a suitable biological model for clinical trials of the developed vaccines. This review article analyzes the work of various scientists to find a biological model against coronavirus infection.

Key words: vaccine, clinical test, coronavirus infection, biological model.

Кіріспе. Коронавирустарды зерттеу тарихы американдық ветеринарлардың «жаңа респираторлық ауруды» сиппаттауларынан бастау алды [1]. Бұл аурудың этиологиялық агенті қазіргі таңда құс коронавирусы деп аталады (ACoV – *Avian Coronavirus*) [2].

2002 жылы Қытай Халық Республикасының (ҚХР) оңтүстік провинцияларында адамдар популяциясында ауыр жедел респираторлық синдром (severe acute respiratory syndrome, SARS) өршіді, ол кездегі жағдай бойынша ауру таралғандардың ішінде өлім көрсеткіші 9,6% көрсетті [3, 4]. Бұл аурудың этиологиялық агенті коронавирус (Betacoronavirus, Sarbecovirus) екені дәлелденді [5]. Осы кезден бастап коронавирустардың зерттелуі жаңа жолға қойылды. Вирусологтар аталған аурудың таралу себебі ретінде осы елді мекеннің тамақтану ерекшелігін қарастырды. Себебі, ҚХР оңтүстік өңірлерінде осы вирустың аралық иесі ретінде қарастырылған гималай циветтерін (Paguma larvata), үй мысықтарын (Felis catus) тағы сол сияқты жануарларды тағамға пайдаланған. Бұл мемлекеттің нарығында осы тағам өнімдерін сататын арнайы базарлар бар. Кейіннен «атипиялық пневмония» деп аталған бұл аурудың белгілері алғаш рет базар қызметкерлері мен тұтынушыларының арасында тіркелген [6].

Коронавирустар тудыратын бұл – «ауыр жедел респираторлық синдром» екінші рет Таяу Шығыста 2012 жылы көрініс берді. Сол жылы Сауд Арабиясы тұрғынынан «Таяу Шығыс респираторлық синдромы» (*Middle East respiratory syndrome*, MERS-CoV) бөлініп алынды, кейіннен тағы 20 мемлекетте осы вирус тудырған жағдайлар тіркелді. MERS-CoV

туғызған эпидемия кезінде ауру таралған адамдар ішінде өлім көрсеткіші 36%-ға жетті [7]. MERS-CoV вирусының табиғи резервуары жарқанаттар деп танылып, адамдарға аралық иелері арқылы жұғатыны анықталды. Соңғы зерттеу нәтижелері бойынша адамның түйемен байланысы кезінде адамға өтеді деп сараланды [8]. Бірақ, жарқанаттар мен түйлердің арасында вирус қалай тасымалданатыны нақтыланбады.

2019 жылдың желтоқсан айында адамзат коронавирустар тудырған жаңа эпидемиялық ахуалға тап болды. Бұл жолғы жағдай да ҚХР-ның Хубей провинциясында көрініс тапты. Жаңа коронавирустар адамдарда ауыр вирустық пневмония тудырып, алғаш рет 08.12.2019 жылы тіркелді [9]. 2020 жылдың қаңтар айында бұл вирустың этиологиялық агенті бөліп алынып, *Coronaviridae* өкілі екені анықталды, артынша оған 2019-nCoV (novel coronavirus 2019) уақытша атау берілді [10]. Ғалымдар 2019-nCoV геномын зерттей келе оның MERS-CoV-ға 50%, SARS-CoV – 79%, BtRsCov – 88%- ға ұқсас екені анықталды. Осы зерттеулер нәтижесінде оның аты ауыр жедел респираторлық синдромның екінші типі (SARS-CoV-2) деп ауыстырылды [11]. Қазіргі таңда әлемнің көп мемлекеттерінің қатаң эпидемиологиялық шараларды іске асыра алмауынан, бұл індет толыққанды бүкіләлемдік пандемияға айналды.

Пандемияның барлық әлемге экономикалық зардабы көп тиюде, аурудың патогендігін жіті анықтау мақсатында биологиялық модель алу проблемасы туындауда. Сонымен қатар көптеген мемлекеттер вакцина шығаруды қолға алып отыр [4]. Вакциналарды клиникалық сынау мақсатында да биологиялық модель табу қажеттілігі өте жоғары.

Адамдардың коронавирустық инфекцияларының патогенезін имитациялау үшін биологилық модельге үміткерлікке зертханалы жануарлардың сан алуан түрі қарастырылды. Бірақ нақты патогенезді қайталай алатын жануарлар модельдері өте шектеулі. Мәселе адамның коронавирустарының спайк гликопротеидтері жануарларға сезімталдығының төмендігінде.

Бұрынғы зерттеулер бойынша SARS-CoV вирусы нысана ретінде ангиотензинге айналдырушы фермент 2 (*Angiotensin converting enzyme 2*, ACE-2) қолданатыны белгілі [12]. Сондықтан, биологиялық модель іздеу барысында кандитат модель мен адамның ферментінің нуклеотидтерінің барынша ұқсас болғаны дұрыс. Қазіргі таңда SARS-CoV-2 коронавирустық вирусқа биологиялық модель іздеу жұмыстары жалғасуда. Бұл мақалада осы күнде адам коронавирустарына зерттеліп жүрген биологиялық модельдерге шолу жүргізілді.

Адамда қоронавирустық аурулардың клиникасы

SARS-CoV, MERS-CoV және SARS-CoV-2 вирустарын жұқтырған адамдарда ауру бастапқы біркелкі көрініс береді. Оларға респираторлық симптомдар (жөтелу, ауыр демалу), қызба, миалгия, температураның қалыптан тыс көтерілуі жатады. Кеуде қуысының рентгенограмасы барлық жағдайда дерлік өкпе патологиясын көрсетіп отыр. Патология гиалинді мембраналардың түзілуімен, интерстициальды қабыну инфильтрациясымен және вена ішілік қан кетулермен, сонымен қатар көп ядролы алып клеткалардың байқалуымен сипатталды [13, 14, 15].

Жануар модельдері

Приматтар

Адамға физиологиялық және анатомиялық тұрғыдан ең жақын және қол жетімді зертханалық жануарларды – приматтарды SARS-CoV вирусымен эксперименттік жұқтыру барысында, ең көп мәліметтер резус макакаларын (*Macaca mulatta*), африкалық жасыл маймылдарды (*Chlorocebus sabaeus*) және краб жейтін макакаларды (*Macaca fascicularis*) зерттеу кезінде алынды. Ауқымды зерттеу [16] жоғарыда аталған приматтардың барлық үш түрін қолданумен жүргізілді. Инфекция екі жолмен жұқтырылды – интраназальды және

интратрахеальды – *Urbani* штаммы 1 мл $10^{6,0}$ $TCID_{50}$/ml. Жануарлардың жағдайын бақылау кезінде вирустың өкпе тінінде репликациялануы мүмкін екенін көрсетті. Мақала авторларының деректеріне сай маймылдардың ешқайсысында қызбамен (*Fever*) сипатталатын тыныс алу ауруының белгілері байқалмады. Бір қызығы, тыныс алу жолдарының жоғарғы және төменгі бөліктеріндегі вирустың репликация деңгейі африкалық жасыл маймылдарда ең жоғары болса, ал резус макакаларында ең аз болды [16].

Зерттеушілердің тағы бір тобы биомодельді таңдауды тек краб жейтін макакалармен шектеді. Маймылдарды *Urbani* штаммымен эксперименталды жұқтыру кезінде патогенді ағзаға енгізудің бірнеше әдісі таңдалды. Бірінші топтағы Жануарлар интраназальды және интрабронхиальды, екіншісі интраназальды және конъюнктивалық, үшінші топқа вирус қантамыр арқылы енгізілді. Алғашқы екі топтың жануарлары жеңіл және орташа ауырлықтағы аурудың клиникалық белгілерін көрсетіп, антиденелердің түзілуін байқатты. Бұл зерттеуде ерекше көңіл аударатын жағдай – маймылдарда пневмонияның байқалуын рентгенография әдісімен анықтады, бірақ, алдыңғы зерттеудегідей, приматтарда SARS инфекциясының негізгі симптомы саналатын қызба байқалмады. Үшінші топтағы маймылдарда клиникалық белгілер байқалмады [17].

MERS-CoV үшін жасалған алғашқы жануарлар моделі резус макакалары болды. Бұл кезде 6-12 жас аралығындағы жануарларға вирусты $7x10^6$ $TCID_{50}$ дозада интраназальды, интратрахеальды, конъюнктивалық әдістермен және ауыз қуысына жұқтырды [18, 19]. Тәбеттің төмендеуі, қалтырау, тыныс алудың жоғарылауы, жөтел сияқты клиникалық белгілері барлық жануарларда 24 сағат ішінде дамып, 4 күнге созылды. Тығыз, ісінген, ашық немесе қою қызыл қан ошақтары түріндегі зақымданулар тек өкпеде дамыды. Сондай-ақ, өкпеден жұқпалы вирус бөлініп, MERS-CoV РНҚ-сы жоғарғы және төменгі тыныс жолдарының кейбір тіндерінде табылды. MERS-CoV РНҚ-сы мұрын, ауыз қуыстарының жағындыларында, бронхоальвеолярлық шайындылардан анықталды.

Қытайлық зерттеушілер резус макакаларында MERS-CoV инфекциясына қарсы нақты антиденелердің түзілуі жұқтырғаннан кейін 7-ші күннен басталады және уақыт өте келе антиденелер титрі артады деп пайымдайды. Сонымен қатар, өндірілген вирусты бейтараптандыратын антиденелер резус макакаларын қайта жұқтырған кезде инфекцияның дамуына жол бермей, қорғауды қамтамасыз етті [20].

COVID-19 инфекциясын имитациялауда приматтар таңдау әдеттегі олардың стандартты түрлерімен шектеледі: краб жейтін макака, резус макака және жаңа қарапайым мармот.

Жынысы мен жасы приматтарда COVID-19 дамуы мен клиникалық көріністеріне әсер етпеді [21], бұл егде жастағы адамдар арасындағы жоғары өлімнің себебі, қатар жүретін аурулардың болуы деген нұсқаны растайды. Инфекциядан кейін катарриндерде дене температурасының жоғарылауын байқады, мысалы, резус макакаларында ол 40,9 °С дейін көтерілді, ал краб жейтін макакалар мен «ойыншы» маймылдардың үштен бірінде дене температурасы аздап көтерілді. Ауру дене салмағының төмендеуімен бірге жүреді: резус макакаларында – 6-9%, ал краб жейтін макакаларда – 2-11% [21]. Вирусты инокуляциялаудан кейінгі 10-шы күннен бастап катарриндерде сәулелік диагностика әдістерімен зерттеулер кезінде өкпе патологиясы тіркелді. Вирустың инокуляциясынан кейінгі 2-ші күні шайындылар үлгілерінде вирустық РНҚ-ның жоғары деңгейі байқалады, ал ол инфекциядан кейінгі 6-8-ші күні шыңына жетеді және инокуляциядан кейінгі 14-ші күнге дейін анықталуы мүмкін [21]. Катарриндерден айырмашылығы, жаңа әлем приматтарында инфекциядан кейін 2 апта ішінде шайындыларда вирустық РНҚ-ның төмен деңгейі анықталады.

Катарриндердегі гистопатологиялық өзгерістер өкпе тініндегі ауқымды қан кетулерден [21] мультифокальды интерстициальды пневмонияға дейін [22]. Бронхопульмональды және медиастинальды лимфа түйіндерінің ісінуі, экссудативті перикардит және

мезентериялық лимфа түйіндерінің қабынуы патогистологиялық көріністі толықтырады.

Приматтарды қолдануда бабуиндар анағұрлым қолайлы модель болып табылады, өйткені оларда дамып келе жатқан патология ауқымды және резус макакаларына қарағанда жиі кездесетін ауыр қабыну процесстерімен бірге жүреді [22]. Сонымен қатар, қарапайым мармотты қолдану, кем дегенде, иррационалды, өйткені. олармен рұқсат етілген бақылау процедураларының саны шектеулі, аурудың клиникалық белгілері байқалмайды, ал некропсия кезінде алынған тіндердің үлгілерінде вирустық РНҚ анықталмайды [21].

Жоғарыда айтылғандарға байланысты приматтар модельдерінің пайдасы сөзсіз жоғары, бірақ көрсетілген клиникалық белгілер адамдардағы коронавирустық аурулардың патогендік немесе иммуногендік қасиеттерін зерттеу үшін приматтарды қолдануға шектеулер қояды.

Тышқандар

Тышқандарды SARS-CoV вирусымен интраназальды жұқтырғанда бірнеше инбредті тышқандарда (BALB/c, c57bl6 және 129s) вирустың репликациясы байқалды, бірақ бұл зерттеулерде 129S тышқандары BALB/c тышқандарына қарағанда ауруға сезімтал болды [23, 24, 25]. Сонымен қатар, жас инбредті тышқандарда ересектеріне қарағанда вирустың репликациясы өте жоғары болса да аурудың клиникалық белгілері байқалмады [23, 25]. Адамдардағы сияқты SARS-CoV жұқтырған тышқандардың жас екершеліктері де ауруға сезімталдықта маңызды рөл атқарады. Он екі айлық BALB/c тышқандарында ауру жас тышқандарға қарағанда ауыр болды [26, 27]. Интраназальды жұқтырылған егде тышқандарда салмақ жоғалту, жүндерінің үрпіюі және дегидратация (сусыздану) байқалды [26].

Жас тышқандарда инфекция клиникалық көріністерсіз тез өтіп кеткендіктен, оларда аурудың клиникалық белгілерін жақсарту үшін екі тәсіл қолданылды: адамның ACE2 (hACE2) рецепторын білдіретін трансгенді тышқандарды қолдану және SARS-CoV-ты тышқандарға бейімдеу. Mc. Cray et al. зерттеулерінде k18 промоторының бақылауындағы hACE2 экспрессиясы SARS-CoV инфекциясының тышқандардың өліміне әкелетінін көрсетті [28]. Трансгендік тышқандарға (AC70 және AC63) SARS-CoV жұқтырғаннан кейін вирустың көбеюі, ауру жалпы клиникасы және тіндердің патологиясы байқалды [29]. Тышқандардың өлімге ұшырамайтын AC63 линиясына қарағанда тышқандардың аурудың әсерінен өлімге ұшыраушы AC70 линиясында аурудың клиникалық көріністері кеңінен байқалған. Трансгенді тышқандар аурудың патогенезін зерттеуде және вакциналар мен басқа да терапевтік агенттерді бағалау үшін кеңінен пайдаланылды [30, 31].

Тышқанға бейімделген SARS-CoV вирусының үш штамы тышқандардың тыныс жолдарында SARS-CoV (*Urbani* штаммы) сериялық пассаждан өткізу арқылы дербес жасалды [30, 32, 33]. SARS-CoV вирусының тышқандарға бейімделген MA15, MA20 және v163 штамдары тышқандарда патологиялық өзгерістерді туындатумен, вирустың өкпеден тыс жерлерге кеңінен таралуымен және өлген тышқандардың өкпесінде өте жоғары титрде көбеюімен сипатталды. Тышқандарда байқалған аурудың клиникалық белгілері SARS-тың асқынған түрімен ауырған адамдардағы белгілермен ұқсас болды [30, 32, 33]. Вирустың MA15 штамы ересек тышқандарда аурудың клиникалық белгілерін туындатып, әсіресе адамдардағы жедел респираторлық дистресс синдромын (ARDS) имитациялайды [33].

Тышқандардың тағы бір ерекшелігі – SARS-CoV инфекциясына сезімтал болғанымен табиғи жағдайда MERS-CoV инфекциясына аса сезімтал емес, өйткені MERS-CoV ақуызымен әрекеттесетін адамның (hDPP4) рецепторы тышқанның dpp4 рецептерінен ерекшеленеді [34]. Трансдукцияланған Ad5-hDPP4 егде тышқандар салмағын жоғалтты, бірақ өлім байқалмады. Agrawal et al. жасаған зерттеу жұмыстарында SARS трансгендік тышқандарын жасау үшін қолданылатын CAG промоутерінің бақылауымен hDPP4-ті трансгендік тышқандар моделі жасалды [35]. hDPP4 тышқандары MERS-CoV инфекциясына толығымен сезімтал болды, ауыр респираторлық және аурудың жалпы клиникасы тұрақты

көрініс берді, репликацияны қолдады, бірнеше күн ішінде инфекция өлімге алып келді. Вирустың жоғары титрлері көптеген органдарда пайда болды, ал патологиялық өзгерістер ауқымды қабынуға әкеп соқтырды.

Трансгендік тышқандардың SARS-CoV-2 вирусына сезімталдығын анықтау үшін оларды 4×10^5 $TCID_{50}$ дозада интраназальды жұқтырылды. Айта кету керек, 4-5 апталық жас тышқандар ғана емес, сонымен қатар 30 апталық егде тышқандарда да жұқтырылған. Патогенді жұқтырғаннан кейін 3-ші күннен бастап егде тышқандар жалпы дене салмағының 10% жоғалтты, бірақ артынша қалпына келе бастады, ал SARS-CoV-2 инфекциясының өршуінің айқын клиникалық белгілері жануарлардың ешқайсында байқалмады. Вирустық РНҚ-ның тұрақты репликациясы жасына қарамастан өкпеде, трахеяда және ми тіндерінде hACE2-тышқандарда табылды, алайда егде тышқандардың нәжісінде вирустық РНҚ көп мөлшерде анықталса да ($2,9 \times 10^5$ дана/г) вирустық РНҚ көкбауырда, бүйректе, бауырда, қан сарысуында және ішекте анықталмады. Нәжістегі РНҚ-ны анықтау SARS-CoV-2 инфекциясынан кейін асқазан-ішек белгілері бар науқастар туралы мәліметтерге сәйкес келді [36, 37].

Гистологиялық зерттеу қабынған жасушаларының инфильтрациясымен, альвеолярлы септумның қалыңдатылуымен және тамыр жүйесінің зақымдалуымен сипатталатын жасқа тәуелсіз интерстициальды пневмонияның болуын көрсетті. Сонымен қатар, егде жастағы тышқандарда альвеолярлы эпителий жасушалары мен фокальды қан кетулер, сонымен қатар нейтрофилдер мен макрофагтардың тіндердің инфильтрациясының жоғарылауы байқалды, ал өкпеде макрофагтардың тікелей инфекциясы айтарлықтай апоптозға әкелді [38]. Бұл COVID-19 зардап шеккен пациенттердің көпшілігіндегі клиникалық белгілерді қайталайды.

Тышқан модельдері вирустың патогенезін бағалау және вакциналар мен вирусқа қарсы препараттарды сынау үшін қолдануға қолайлы. Тышқандар құны төмен, мөлшері кішкентай және қол жетімділігі үшін тиімді. Оларды генетикалық деңгейде басқаруға болады және вирустық патогенезді зерттеу үшін иммунологиялық реагенттер бар.

Күзендер

Күзендер көбінесе адамдардың респираторлық вирустарын зерттеу үшін модель ретінде көп қолданылады. Алайда, күзендерді SARS-CoV вирусымен жұқтырған кезде қарама – қайшы мәліметтер алынды [39, 40]; бір топта аурудың клиникалық белгілері байқалса [39], ал екінші топта ешқандай өзгерістер тіркелмеген [40]. Осы қарама-қайшы нәтижелерді шешу үшін күзен моделі одан әрі сипатталды. Оларда температураның көтерілуі және түшкіру, жоғарғы тыныс жолдарында анықталған вирустың титрі жоғары болуымен және лимфогистиоциттік бронхоинтерстициальды пневмониямен сипатталатын өкпенің гистологиялық өзгерістерімен байланысты болды деп пайымдалды [41].

Күзендер SARS-CoV вирусына, сондай-ақ басқа да респираторлық инфекцияларға салыстырмалы сезімталдықты көрсеткенін ескеріп, оларды MERS-CoV патогенезін зерттеуде қолдануға тырысты. Алайда, 10^6 $TCID_{50}$ дозада MERS-CoV күзендердің интраназальды және интратрахеальды инфекциясы сероконверсияны тудырмады, ал жануарларда жұқпалы вирустың өзі анықталған жоқ [42].

Бүгінгі таңда күзендерді COVID-19 вирусымен жұқтыру туралы бірнеше хабарламалар жарияланды [43, 44]. Kim Y.I. [43] жасаған биомодель жақсы нәтиже көрсетті, бірақ ол да өлімге әкелмейді. Ол COVID-19 жұқтырған алдыңғы модельдерінен клиникасы қызба, мезгіл-мезгіл жөтелмен, дене салмағының тұрақты төмендеуімен және патогеннің интраназальды инокуляциясынан кейін 4-6 күн ішінде белсенділіктің төмендеуімен ерекшеленеді. SARS-CoV-2 жұқтырған күзендер вирусты енгізгеннен кейін 8 күн ішінде мұрын секрециясы, сілекей, зәр және нәжіспен вирусты қоршаған ортаға бөліп шығарды, ал оның ең жоғары репликациясы мұрын, трахея, өкпе, бүйрек және ішекте болды [43].

1 кесте – SARS-CoV, MERS-CoV және SARS-CoV2 вирустарын жануарларға эксперименталды жұқтырудағы клиникалық белгілер мен патологиялық өзгерістер

Жануар	Клиникалық белгілері мен патологиялық өзгерістері		
	SARS-CoV	MERS-CoV	SARS-CoV2
Приматтар	Резус макакалары, яваки макакалары, африкалық жасыл маймылдар және қарапайым маймылдар инфекцияға бейім. Вирустың клиникалық белгілері, репликациясы және патологиясы маймылдың түрлеріне байланысты	Резус макакаларында вирус орташа деңгейде репликацияланады және өкпеде патологияны туындатады. Кәдімгі маймылдарда вирустық титрі жоғары және өкпеде ауыр патологияны тудырады. Бұл модельде өлім көрсеткіштері де бар	Резус макакалары, яваки макакалары, африкалық жасыл маймылдар және қарапайым маймылдар инфекцияға бейім. Вирустың клиникалық белгілері, репликациясы және патологиясы түрлеріне байланысты
Тышқандар	Жас инбредті тышқандар (BALB/c, C57BL6, 129s) вирустың репликациясын қолдайды, бірақ аурудың клиникалық белгілерін көрсетпейді. Егде инбредті тышқандар (BALB/c) және трансгенді тышқандар (K18-hACE2, A70-hACE2) жалпыланған ауруды, вирустың тұрақты өсуін және пневмониямен және өкпенің зақымдалуымен сәйкес келетін өкпенің ауыр патологиясын дамытады. K18-hACE 2 трансгенді тышқандарында адамдарға тән емес орталық жүйке жүйесінің ауруы дамиды	Инбредті тышқандар табиғи инфекцияға сезімтал емес. Трансдукцияланған тышқандар (Ad5-hDPP4) клиникалық белгілерді дамытады және вирустың интерстициальды пневмониямен және өкпеде кездесетін вирустық антигенмен көбеюін қолдайды. Трансгенді тышқандар (cd26 / DPP 4) жоғары вирустық титрлермен және өкпенің кеңейтілген қабынуымен тұрақты тыныс алу және жалпыланған ауруды дамытады. Бұл модельде өлім көрсеткіші байқалды	Жас инбредті тышқандар (BALB/c, C57BL6, 129s) вирустың репликациясын қолдайды, төменгі тыныс алу жүйесін зақымдайды. Трансгенді тышқандар (K18-hACE2, A70-hACE2) жалпыланған ауруды, вирустың тұрақты өсуін, пневмониямен және өкпенің зақымдалуымен сәйкес келетін өкпенің патологиясын дамытады. Төменгі тыныс алу жүйесі зақымдалады
Күзендер	Клиникалық ауру (қалтырау және түшкіру) вирустың репликациясымен және өкпедегі гистологиялық өзгерістермен бірге жүреді. Өкпенің төменгі және жоғарғы бөліктері зақымданған	Күзендерде вирустың репликациясы жүрмейді	Клиникалық ауру (қалтырау және түшкіру) вирустың репликациясымен және өкпедегі гистологиялық өзгерістермен бірге жүреді. Өкпенің төменгі бөлігі зақымданған
Атжалмандар	Клиникалық ауру (жаттығу дөңгелегіндегі белсенділіктің төмендеуімен өлшенеді) вирустың репликациясымен және қабыну, пневмонит және өкпенің тығыздалуы сияқты айқын гистопатологиялық өзгерістермен бірге жүреді. Өкпенің төменгі және жоғарғы бөліктері зақымданған	Атжалмандарда вирустың репликациясы болмайды	Клиникалық ауру респираторлық дистресс пайда болуымен, салмақ жоғалтумен сипатталады. Вирустың репликациясы және қабыну, пневмонит және өкпенің тығыздалуы сияқты айқын гистопатологиялық өзгерістер бар. Өкпенің төменгі бөлігі зақымданған

Атжалмандар

Сириялық алтын атжалмандар SARS-CoV үшін керемет модель болды, өйткені вирус өкпеде жоғары титрларға дейін репликацияланады, сонымен қатар тиісті патологияны көрсетті. SARS-CoV интраназальды инокуляциясынан кейін вирустың репликациясы жоғарғы және төменгі тыныс жолдарында, инфекциядан үш күн өткен соң репликация байқалды. Вирус жұқтырғаннан кейін жеті-он күн ішінде ағзадан жойылды [44]. Вирустың репликациясы өкпеде айқын гистопатологиялық өзгерістермен, соның ішінде интерстициальды қабынумен, пневмонитпен және тығызданумен көрініс тапты. Атжалмандарда клиникалық аурудың сыртқы белгілері болмағандықтан, олардың белсенділігін өлшеу үшін жаттығу дөңгелектері қолданылды; бұл белсенділік дөңгелектері SARS-CoV жұқтырған атжалмандардың инфекциядан кейінгі екінші-жетінші күннен бастап аз белсенді екенін көрсетті [44, 45]. Бастапқы инфекция антиденелерді, яғни бейтараптандыратын реакция тудырды, бұл кейінгі инфекциялардан қорғауды қамтамасыз етті [44]. Атжалмандар иммунопрофилактика мен емдеуді зерттеуге қолайлы болды, өйткені объективті клиникалық белгілер жоғары вирустық титрлермен және өкпе гистопатологиясымен бірге жүрді [46].

MERS-CoV вирусымен атжалмандарды тәжірибелік жолмен жұқтыру әрекеттері сәтсіз аяқталды [47].

SARS-CoV ұқсастығына сүйене отырып, Сириялық алтын атжалмандарды COVID-19 ауруын тудыратын вирус үшін үшін модель ретінде қарастырды. Көптеген зерттеулер патогенезді көрсету үшін клиникалық изолятты жұқтырған жануардан сау атжалмандарға берілу жолдарын зерттеу үшін жүргізілді [48-50]. Вирусты интраназальды енгізу [51] және конъюнктивикалық әдіспен біріктіру [40] тиімді болды. Барлық жарияланған нәтижелерде COVID-19 клиникалық белгілерінің көрінісі шартты, ауру көбінесе дене салмағының аздап жоғалуымен жүреді – 10-15%, негізінен егде жастағы атжалмандарда. Дене салмағының біртіндеп қалпына келуі 7 күн ішінде жүреді. Жоғарғы тыныс жолдарындағы инфекциялық вирустық жүктеме инфекциялаудан кейінгі 2-3-ші күні шыңына жетті, содан кейін оның тез төмендеуі байқалды [48], ал вирустың клиренсі 7-ші күні жүзеге асты. Сонымен қатар, вирустық РНҚ патогенді инокуляциядан кейін 2-7-ші күнге дейін жиналған нәжістің үлгілерінде анықталды [48].

Гистологиялық зерттеулер жұқтырылған жануарлардың өкпе тінінде COVID-19 ағымының жеңіл түріне тән қабыну инфильтраттарының болуын көрсетті [49].

Алғаш жұқтырған атжалмандарда вирустық РНҚ мұрын қуысынан 10-14 күн ішінде шығарылса да, сау жануарларды аэрозольді жолдарымен жұқтыру мүмкіндігі патогенді егуден кейінгі алғашқы 3 күнде ғана сақталды [48].

Дозаға тәуелді әсерді зерттеу вирустық бөлшектердің көп мөлшерін алған жануарларда ертерек тыныс алу жүйесінің төменгі бөліктерінде кең жарақаттардың пайда болуын көрсетті, дегенмен инфекциядан кейінгі 6-шы күні зақымдану мөлшері орташа дозаны алған жануарлармен бірдей болды [51].

Қорытынды. SARS-CoV, MERS-CoV және SARS-CoV2 вирустарының зерттеулері жануарлардың бір түрі барлық коронавирустар үшін модель бола алмайтындығын көрсетті (1 кесте). Клиникалық ауруды, вирустың репликациясы мен патологиясын тудыруы вирустық рецептордың көрінісіне, жануардың түріне және демографиялық сипаттамаларына байланысты. Дегенмен көптеген зерттеулер COVID-19 инфекциясына сириялық атжалманның басқа зертханалық жануарларға қарағанда биологиялық модель болуға жарамды екенін көрсетіп отыр.

ӘДЕБИЕТ

1 Schalk A.F., Hawn M.C. An apparently new respiratory disease of baby chicks // J. Am. Vet. Med. Assoc. – 1931. – Vol. 78. – P. 19.
2 Cavanagh D. A nomenclature for avian coronavirus isolates and the question of species status // Avian Pathol. – 2001. – Vol. 30, No. 2. – P. 109-115. doi: 10.1080/03079450120044506
3 Чучалин А.Г. Тяжелый острый респираторный синдром // Архив патологии. – 2004. – № 3. – С. 5-11.
4 World Health Organization. Summary of probable SARS cases with onset of illness from 1 November 2002 to 31 July 2003 (based on data as of the 31 December 2003). https://www.who.int/csr/sars/country/table2004_04_21/en (29.02.2020).
5 Щелканов М.Ю., Колобухина Л.В., Львов Д.К. Коронавирусы человека (Nidovirales, Coronaviridae): возросший уровень эпидемической опасности // Лечащий врач. – 2013. – № 10. – С. 49-54.
6 Нагорных А.М., Тюменцев А.И., Тюменцева М.А., Акимкин В.Г. SARS, снова SARS и MERS. Обзор животных моделей респираторных синдромов человека, вызываемых коронавирусными инфекциями // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2020. – 97 (5). – С. 431-444. https://doi.org/10.36233/0372-9311-2020-97-5-6
7 Li K., Wohlford-Lenane C.L., Channappanavar R., Park J.E., Earnest J.T., Bair T.B., et al. Mouse-adapted MERS coronavirus causes lethal lung disease in human DPP4 knock in mice // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2017. – 114 (15). – P. 3119-3128. https://doi.org/10.1073/pnas.1619109114
8 Corman V.M., Jores J., Meyer B., Younan M., Liljander A., Said M.Y., Gluecks I., Lattwein E., Bosch B.J., Drexler J.F., Bornstein S., Drosten C., Muller M.A. Antibodies against MERS coronavirus in dromedary camels, Kenya, 1992-2013 // Emerg. Infect. Dis. – 2014. – Vol. 20, No. 8. – P. 1319-1322. doi: 10.3201/eid2008.140596
9 Ryu S., Chun B.C. An interim review of the epidemiological characteristics of 2019 novel coronavirus // Epid. Health. – 2020. – Vol. 42. doi: 10.4178/epih.e2020006
10 Wu F., Zhao S., Yu B., Chen Y.M., Wang W., Song Z.G., Hu Y., Tao Z.W., Tian J.H., Pei Y.Y., Yuan M.L., Zhang Y.L., Dai F.H., Liu Y., Wang Q.M., Zheng J.J., Xu L., Holmes E.C., Zhang Y.Z. A new coronavirus associated with human respiratory disease in China // Nature. – 2020. doi: 10.1038/s41586-020-2008-3
11 Gorbalenya A.E., Baker S.C., Baric R.S., de Groot R.J., Drosten C., Gulyaeva A.A., Haagmans B.L., Lauber C., Leontovich A.M., Neuman B.W., Penzar D., Perlman S., Poon L.L.M., Samborskiy D., Sidorov I.A., Sola I., Ziebuhr J. Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: the species and its viruses – a statement of the Coronavirus Study Group // bioRxiv. – 2020. doi: 10.1101/2020.02.07.937862
12 Li W., Zhang C., Sui J., Kuhn J.H., Moore M.J., Luo S., et al. Receptor and viral determinants of SARS-coronavirus adaptation to human ACE2 // EMBO J. – 2005. – 24 (8). – P. 1634-1643. https://doi.org/10.1038/sj.emboj.7600640
13 Ksiazek T.G., Erdman D., Goldsmith C.S., Zaki S.R., Peret T., Emery S., Tong S., Urbani C., Comer J.A., Lim W. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. N Engl J Med. 2003;348:1953–1966.
14 Bermingham A., Chand M.A., Brown C.S., Aarons E., Tong C., Langrish C., Hoschler K., Brown K., Galiano M., Myers R. Severe respiratory illness caused by a novel coronavirus, in a patient transferred to the United Kingdom from the Middle East, September 2012 // Euro Surveill. – 2012. – 17. – 20290.
15 WHO. Novel Coronavirus (2019-nCoV). Available at: https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/situation-reports
16 McAuliffe J., Vogel L., Roberts A., Fahle G., Fischer S., Shieh W.J., et al. Replication of SARS coronavirus administered into the respiratory tract of African Green, rhesus and cynomolgus monkeys // Virology. – 2004. – 330 (1). – P. 8-15. https://doi.org/10.1016/j.virol.2004.09.030
17 Lawler JV, Endy T.P., Hensley L.E., Garrison A., Fritz E.A., Lesar M., et al. Cynomolgus macaque as an animal model for severe acute respiratory syndrome // PLoS Med. – 2006. – 3 (5). – P. 149. https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030149

18 Munster V.J., de Wit E., Feldmann H. Pneumonia from human coronavirus in a macaque model // N. Engl. J. Med. – 2013. – 368 (16). – 15602. https://doi.org/10.1056/NEJMc1215691
19 de Wit E., Rasmussen A.L., Falzarano D., Bushmaker T., Feld-mann F., Brining D.L., et al. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) causes transient lower respiratory tract infection in rhesus macaques // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2013. – 110 (41). – P. 16598-16603. https://doi.org/10.1073/pnas.1310744110
20 Yao Y., Bao L., Deng W., Xu L., Li F., Lv Q. et al. An animal model of MERS produced by infection of rhesus macaques with MERS coronavirus // J. Infect. Dis. – 2013. – 209 (2). – P. 236-42. https://doi.org/10.1093/infdis/jit590
21 Lu S., Zhao Y., Yu W., Yang Y, Gao J., Wang J. et al. Comparison of SARS-CoV-2 infections among 3 species of non-human primates // bioRxiv. – 2020. https://doi.org/10.1101/2020.04.08.031807
22 Singh D.K., Ganatra S.R., Singh B., Cole J., Alfson K.J., Clem-mons E. et al. SARS-CoV-2 infection leads to acute infection with dynamic cellular and inflammatory flux in the lung that varies across nonhuman primate species // bioRxiv. – 2020. https://doi.org/10.1101/2020.06.05.136481
23 Glass W.G., Subbarao K., Murphy B., Murphy P.M. Mechanisms of host defense following severe acute respiratory syndrome-coronavirus (SARS-CoV) pulmonary infection of mice // J. Immunol. – 2004. – 173. – P. 4030-4039.
24 Hogan R.J., Gao G., Rowe T., Bell P., Flieder D., Paragas J., Kobinger G.P., Wivel N.A., Crystal R.G., Boyer J. Resolution of primary severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus infection requires Stat1 // J. Virol. – 2004. – 78. – P. 11416-11421.
25 Subbarao K., McAuliffe J., Vogel L., Fahle G., Fischer S., Tatti K., Packard M., Shieh W.J., Zaki S., Murphy B. Prior infection and passive transfer of neutralizing antibody prevent replication of severe acute respiratory syndrome coronavirus in the respiratory tract of mice // J. Virol. – 2004. – 78. – P. 3572-3577.
26 Roberts A., Paddock C., Vogel L., Butler E., Zaki S., Subbarao K. Aged BALB/c mice as a model for increased severity of severe acute respiratory syndrome in elderly humans // J. Virol. – 2005. – 79. – P. 5833-5838.
27 Chen J., Lau Y.F., Lamirande E.W., Paddock C.D., Bartlett J.H., Zaki S.R., Subbarao K. Cellular immune responses to severe acute respiratory syndrome coronavirus (SARS-CoV) infection in senescent BALB/c mice: CD4+ T cells are important in control of SARS-CoV infection // J. Virol. – 2010. – 84. – P. 1289-1301.
28 McCray P.B., Jr., Pewe L., Wohlford-Lenane C., Hickey M., Manzel L., Shi L., Netland J., Jia H.P., Halabi C., Sigmund C.D. Lethal infection of K18-hACE2 mice infected with severe acute respiratory syndrome coronavirus // J. Virol. – 2007. – 81. – P. 813-821.
29 Tseng C.T., Huang C., Newman P., Wang N., Narayanan K., Watts D.M., Makino S., Packard M.M., Zaki S.R., Chan T.S. Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection of mice transgenic for the human Angiotensin-converting enzyme 2 virus receptor // J. Virol. – 2007. – 81. – P. 1162-1173.
30 Day C.W., Baric R., Cai S.X., Frieman M., Kumaki Y., Morrey J.D., Smee D.F., Barnard D.L. A new mouse-adapted strain of SARS-CoV as a lethal model for evaluating antiviral agents in vitro and in vivo // Virology. – 2009. – 395. – P. 210-222.
31 Netland J., Zhao D.M., Fett J., Alvarez C., Nieto-Torres E., Enjuanes J.L., Perlman L.S. Immunization with an attenuated severe acute respiratory syndrome coronavirus deleted in E protein protects against lethal respiratory disease // Virology. – 2010. – 399. – P. 120-128.
32 Roberts A., Deming D., Paddock C.D., Cheng A., Yount B., Vogel L., Herman B.D., Sheahan T., Heise M., Genrich G.L. A mouse-adapted SARS-coronavirus causes disease and mortality in BALB/c mice // PLoS Pathog. – 2007. – 3. – 5.
33 Frieman M., Yount B., Agnihothram S., Page C., Donaldson E., Roberts A., Vogel L., Woodruff B., Scorpio D., Subbarao K. Molecular determinants of severe acute respiratory syndrome coronavirus pathogenesis and virulence in young and aged mouse models of human disease// J. Virol. – 2012. – 86. – P. 884-897.
34 Cockrell A.S., Peck K.M., Yount B.L., Agnihothram S.S., Scobey T., Curnes N.R., Baric R.S., Heise M.T. Mouse dipeptidyl peptidase 4 is not a functional receptor for Middle East respiratory syndrome coronavirus infection // J. Virol. – 2014. – 88. – P. 5195-5199.

35 Agrawal A.S., Garron T., Tao X., Peng B.H., Wakamiya M., Chan T.S., Couch R.B., Tseng C.T. Generation of transgenic mouse model of Middle East respiratory syndrome-coronavirus infection and disease // J. Virol. – 2015. – 89. – P. 3659-3670.
36 Ng S.C., Tilg H. COVID-19 and the gastrointestinal tract: more than meets the eye // Gut. – 2020. – 69 (6). – P. 973-974. https://doi.org/10.1136/gutjnl-2020-321195
37 Xu Y., Li X., Zhu B., Liang H., Fang C., Gong Y., et al. Characteristics of pediatric SARS-CoV-2 infection and potential evi-dence for persistent fecal viral shedding // Nat. Med. – 2020. – 26 (4). – P. 502-505. https://doi.org/10.1038/s41591-020-0817-4
38 Sun S.H., Chen Q., Gu H.J., Yang G., Wang Y.X., Huang X.Y., et al. A mouse model of SARS-CoV-2 infection and pathogenesis // Cell Host Microbe. – 2020. – 28 (1). – P. 124-133. https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.05.020
39 Martina B.E., Haagmans B.L., Kuiken T., Fouchier R.A., Rimmelzwaan G.F., Van Amerongen G., Peiris J.S., Lim W., Osterhaus A.D. Virology: SARS virus infection of cats and ferrets // Nature. – 2003. – 425. – 915.
40 Weingartl H., Czub M., Czub S., Neufeld J., Marszal P., Gren J., Smith G., Jones S., Proulx R., Deschambault Y. Immunization with modified vaccinia virus Ankara-based recombinant vaccine against severe acute respiratory syndrome is associated with enhanced hepatitis in ferrets // J. Virol. – 2004. – 78. – P. 12672-12676.
41 Chu Y.K., Ali G.D., Jia F., Li Q., Kelvin D., Couch R.C., Harrod K.S., Hutt J.A., Cameron C., Weiss S.R. The SARS-CoV ferret model in an infection-challenge study // Virology. – 2008. – 374. – P. 151-163.
42 Raj V.S., Smits S.L., Provacia L.B., van den Brand J.M., Wiersma L., Ouwendijk W.J., et al. Adenosine deaminase acts as a natural antagonist for dipeptidyl peptidase 4-mediated entry of the middle east respiratory syndrome coronavirus // J. Virol. – 2013. – 88 (3). – P. 1834-1838. https://doi.org/10.1128/JVI.02935-13
43 Kim Y.I., Kim S.G., Kim S.M., Kim E.H., Park S.J., Yu K.M., et al. Infection and rapid transmission of SARS-CoV-2 in ferrets // Cell Host Microbe. – 2020. – 27 (5). – P. 704-709. https://doi.org/10.1016/j.chom.2020.03.023
44 Roberts A., Vogel L., Guarner J., Hayes N., Murphy B., Zaki S., Subbarao K. Severe acute respiratory syndrome coronavirus infection of golden Syrian hamsters // J. Virol. – 2005. – 79. – P. 503-511.
45 Lamirande E.W., DeDiego M.L., Roberts A., Jackson J.P., Alvarez E., Sheahan T., Shieh W.J., Zaki S.R., Baric R., Enjuanes L. A live attenuated severe acute respiratory syndrome coronavirus is immunogenic and efficacious in golden Syrian hamsters // J. Virol. – 2008. – 82. – P. 7721-7724.
46 Roberts A., Thomas W.D., Guarner J., Lamirande E.W., Babcock G.J., Greenough T.C., Vogel L., Hayes N., Sullivan J.L., Zaki S. Therapy with a severe acute respiratory syndrome-associated coronavirus-neutralizing human monoclonal antibody reduces disease severity and viral burden in golden Syrian hamsters // J. Infect. Dis. – 2006. 193. – P. 685-692.
47 de Wit E., Prescott J., Baseler L., Bushmaker T., Thomas T., Lackemeyer M.G., Martellaro C., Milne-Price S., Haddock E., Haagmans B.L. The Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV) does not replicate in Syrian hamsters // PLoS One. – 2013. – 8. – 69127.
48 Sia S.F., Yan L.M., Chin A.W.H., Fung K., Choy K.T., Wong A.Y.L., et al. Pathogenesis and transmission of SARSCoV-2 in golden hamsters // Nature. – 2020. – 583 (7818). – P. 834-838. https://doi.org/10.1038/s41586-020-2342-5
49 Chan J.F., Zhang A.J., Yuan S., Poon V.K., Chan C.C., Lee A.C., et al. Simulation of the clinical and pathological manifestations of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) in golden Syrian hamster model: implications for disease pathogenesis and transmissibility // Clin. Infect. Dis. – 2020. https://doi.org/10.1093/cid/ciaa325
50 Lau S.Y, Wang P., Mok B.W., Zhang A.J., Chu H., Lee A.C. et al. Attenuated SARS-COV-2 variants with deletions at the S1/S2 junction // Emerg. Microbes Infect. – 2020. – 9 (1). – P. 837-842. https://doi.org/10.1080/22221751.2020.1756700
51 Imai M., Iwatsuki-Horimoto K., Hatta M., Loeber S., Halfmann P. J., Nakajima N., et al. Syrian hamsters as a small animal model for SARS-CoV-2 infection and countermeasure development // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2020. – 117 (28). – P. 16587-165695. https://doi.org/10.1073/pnas.2009799117

ВЕТЕРИНАРИЯ

УДК 619:616.98:578.831.31

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

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

ИЗУЧЕНИЕ СОХРАНЯЕМОСТИ ПРИ ХРАНЕНИИ ИНФЕКЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ И ПАТОГЕННОСТИ ВЫСОКОПАТОГЕННОГО ШТАММА ВИРУСА ГРИППА ПТИЦ

Аннотация. Основной задачей коллекцией микроорганизмов является депонирование, сохранение и поддержание в биологически активном состоянии штаммов микроорганизмов, необходимых для обеспечения научно-исследовательской, диагностической и производственной деятельности. В связи с этим в данной статье представлены результаты исследования по определению сохраняемости биологической и патогенной активности штамма А/домашний гусь/Павлодар/1/05 (H5N1) вируса гриппа птиц (ВГП), который длительное время хранится в коллекции микроорганизмов. Установлено, что после длительного хранения инфекционная активность штамма существенно снизилась ($P \leqslant 0,05$), тогда как гемагглютинирующая активность и патогенность вируса оставалась почти на исходном уровне ($P \geqslant 0,05$) по сравнению с исходными данными.

Ключевые слова: сохраняемость, штамм, вирус, грипп птиц.

Ж.С. Абсатова, М. Мамбеталиев, Ж.Қ. Қыдырбаев, М.А. Азанбекова, М.К. Кенжебаева, Ә.Д. Өмуртай, А.С. Джапашева, Қ.Д. Жүгінісов

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

ҚҰС ТҰМАУЫ ВИРУСЫНЫҢ ЗАРДАПТЫЛЫҒЫ ЖОҒАРЫ ШТАМЫНЫҢ ИНФЕКЦИЯЛЫҚ ЖӘНЕ ЗАРДАПТЫЛЫҚ БЕЛСЕНДІЛІГІНІҢ САҚТАЛУЫН ЗЕРТТЕУ

Аннотация. Микроорганизмдердің республикалық коллекцияларының алдында тұрған негізгі міндеттердің бірі – зерттеу, диагностикалық және өндірістік саланы қамтамасыз ету үшін қажетті микроорганизмдер штамдарының биологиялық белсенді күйінде ұстау,

сақтау және сергіту болып табылады. Осыған байланысты, бұл мақалада микроорганизмдер коллекциясында ұзақ уақыт сақталған тұмау вирусының А/үй қазы/Павлодар/1/05 (H5N1) штаммының биологиялық және патогендік белсенділігінің тұрақтылығын анықтауға арналған зерттеу нәтижелері көрсетілген. Ұзақ сақтаудан кейін штаммның инфекциялық белсенділігі едәуір төмендегені анықталды (P≤0.05), ал гемагглютининдеу белсенділігі мен вирустың патогенділігі бастапқы мәліметтермен салыстырғанда еш өзгеріссіз (P≥0.05) қалды.

Түйін сөздер: сақталуы, штамм, вирус, құс тұмауы.

Zh. Absatova, M. Mambetaliyev, Zh. Kydyrbayev, M. Azanbekova, M. Kenzhebayeva, A. Omurtay, A. Dzhapasheva, K. Zhugunissov

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

STUDY OF PRESERVATION OF INFECTIOUS AND PATHOGENIC ACTIVITY OF HIGHLY PATHOGENIC STRAIN OF BIRD INFLUENZA VIRUS DURING STORAGE

Abstract. The main task facing the republican collections of microorganisms is the deposition, preservation and maintenance in a biologically active state of strains of microorganisms, necessary to ensure research, diagnostic and production activities. In this regard, this article presents the results of a study to determine the persistence of biological and pathogenic activity of the strain A/domestic goose/Pavlodar/1/05 (H5N1) of the influenza virus, which is stored for a long time in the collection of microorganisms. It was found that after long-term storage, the infectious activity of the strain decreased significantly (P≤0.05), while the hemagglutinating activity and pathogenicity of the virus remained almost at the initial level (P≥0.05) compared to the initial data.

Key words: preservation, strain, virus, avian influenza.

Введение. Грипп птиц – контагиозная, вирусная болезнь птиц, характеризующаяся септицемией и проявляющаяся угнетением, отеками, поражением органов дыхания и пищеварения [1]. Возбудителем является РНК-содержащий вирус, относящийся к роду *Influenzavirus*, семейству *Orthomyxoviridae* [2], которые способны инфицировать широкий круг восприимчивых хозяев и представляют серьезную угрозу сельскому хозяйству и общественному здравоохранению [3]. Вирусы гриппа А подразделяются на субтипы на основании антигенных различий в поверхностных гликопротеинах. На сегодняшний день известно 18 субтипов гемагглютинина и 11 субтипов нейраминидазы [2, 4-6]. Большинство известных комбинаций сохраняется в популяциях диких птиц, которые, как известно, считаются основным природным резервуаром вируса гриппа А [5, 6]. Термин «высокопатогенный птичий грипп» (HPAI) обычно относится к штаммам, которые могут вызывать «индекс внутривенной патогенности» (IVPI) более 1,2 или уровень смертности более 75% в определенной популяции кур в течение указанного 10-дневного интервала. Согласно этому определению, все выделенные на сегодняшний день штаммы HPAI относятся к подтипам H5 и H7. Однако вирусы этих подтипов также могут иметь низкую патогенность [7].

На данный момент эпизоотическая ситуация по высокопатогенному гриппу птиц в

мире остается напряженным. В сентябре 2020 года в северных регионах Республики Казахстан, граничащих с Россией, свирепствовал птичий грипп. Из-за птичьего гриппа в 2020 году пало 1,9 миллиона голов птиц, что составляет 4,2% от общего поголовья птиц в Казахстане (45 миллионов голов птиц) [8].

По статистическим данным исследователей, в виде обзоров показало, что большинство зарегистрированных вспышек произошло в 2016 году (22,2%). Эти очаги были локализованы в Китае (13,6 %) и касались коммерческих птицефабрик (56,1%). Наиболее частым подтипом, о котором сообщалось во время этих вспышек, был H5N1 (38,2%), тогда как почти 82,5 % подтипов были высокопатогенными ВГП [7].

За последние 10 лет ВГП H5N1 и H7N7 в результате мутаций резко изменили свои биологические свойства и приобрели способность не только преодолевать хозяйский барьер с непосредственным инфицированием людей (минуя промежуточного хозяина), но и вызывать чрезвычайно тяжелые клинические формы заболевания, значительная часть которых заканчивается летальным исходом [9, 10].

Учитывая сложную эпизоотическую и эпидемиологическую ситуацию в мире, разнообразие подтипов вируса гриппа А, выделяемых от разных видов диких птиц, освежение и изучение сохраняемости коллекционных штаммов ВГП, используемые в производстве биологического препарата представляет важную роль при обеспечении ветеринарной и биологической безопасности. В связи с этим основной целью нашей работы является освежение и изучение сохраняемости инфекционной и гемагглютинирующей активности некоторых штаммов высокопатогенного ВГП, имеющие профилактические и диагностические значения, хранящееся длительное время в Коллекции микроорганизмов Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности.

Методика исследований. *Вирус.* В работе использован высокопатогенный штамм ВГП А/H5N1, выделенный в 2005-2006 годы на территории Павлодарской области А/домашний гусь/Павлодар/1/05 с интравенозным индексом патогенности для цыплят равным 2,59, вызывающий 100 % гибель птиц в течение 3 сут после инфицирования. Данный штамм хранился в Коллекции в течение 8 лет с исходной биологической и гемагглютинирующей активностью (9,75 ± 0,43) lg $ЭИД_{50}/см^3$ и 1:512, соответственно.

Освежение и культивирование вируса гриппа птиц на куриных эмбрионах. Для освежения/культивирования вируса использовали развивающиеся куриные эмбрионы (РКЭ) 9 сут возраста. Заражение и культивирование РКЭ вирусом гриппа птиц проводили по общепринятой методике [11].

Определение биологической активности вируса гриппа птиц на куриных эмбрионах. Биологическую активность штамма А/H5N1 ВГП определяли титрованием на 10-суточных РКЭ согласно методике [12]. Вкратце, для этих целей готовили десятикратные разведения вируссодержащего материала на поддерживающей среде и стерильном 0,01 М ФСБ (pH 7,2-7,4). Каждым разведением вируссодержащего материала, начиная с наивысшего (10^{-10}), инфицировали по 4 РКЭ в аллантоисную полость в объеме 0,1 $см^3$. Зараженные и контрольные эмбрионы инкубировали в вертикальном положении при температуре (35 ± 0,5) °С с относительной влажностью воздуха (65 ± 5) % в течение 48 часов и ежедневно овоскопировали. Индикацию репродукции штамма ВГП в аллантоисной жидкости осуществляли в РГА. Биологическую активность штамма вируса рассчитывали по методу L. Reed & H. Muench [13] и выражали в $ЭИД_{50}/см^3$.

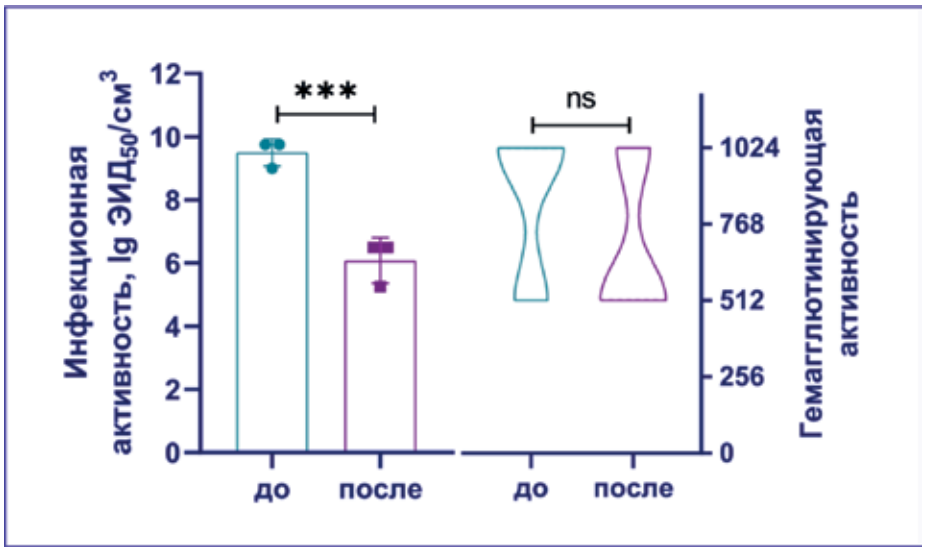
Гемагглютинирующую активность штамма ВГП определяли в РГА с использованием 1%-ных взвесей эритроцитов петуха согласно методике [12].

Заражение птиц. Для экспериментального изучения патогенности данного штамма А/H5N1 использовали клинически здоровые цыплята 3-4 мес возраста, не содержащих

в крови антигемагглютинирующие антитела против данного типа вируса. Определение степени патогенности освеженного материала, заключился в внутримышечном введении цыплятам 3-4 месячного возраста вируса гриппа в дозе 100000 $ЭИД_{50}$/0,5 мл. Высокопатогенный штамм в дозе 100000 lg ЭИД, 100% случаях вызывает гибель цыплят.

Статистическая обработка экспериментальных данных. Все исследования проводили с числом повторностей, обеспечивающих получение достоверных результатов. Полученные результаты исследования обрабатывали математически. Подсчет среднего арифметического значения (X) и средней квадратической ошибки (m) проводили с помощью GraphPad Prism8. Достоверность различий между показателями ($P<0,05$) определяли с применением критерия Стъюдента.

Основные результаты исследований. *Биологическая и гемагглютинирующая активность вируса после длительного хранения*. Результаты проведенных исследований по определению сохраняемости высокопатогенного штамма вируса гриппа птиц с исходной биологической активностью 9,75 lg $ЭИД_{50}/см^3$ при хранении в течение 8 лет, показали существенное снижение инфекционной активности вируса после хранения ($P\leqslant0,05$), а гемагглютинирующая активность вируса оставалась на исходном уровне (1:512) ($P\geqslant0,05$). При этом биологическая активность штамма снизилась на 3,67 lg.



Титры инфекционной и гемагглютинирующей активности штамма показаны в средних значениях со стандартными отклонениями (M±SD); (***) – p≤0.002; (ns) – нет существенной разницы между титрами гемагглютинирующей активности вируса по сравнению с исходным титром

Рисунок 1 – Инфекционная и гемагглютинирующая активность вируса гриппа до и после хранения

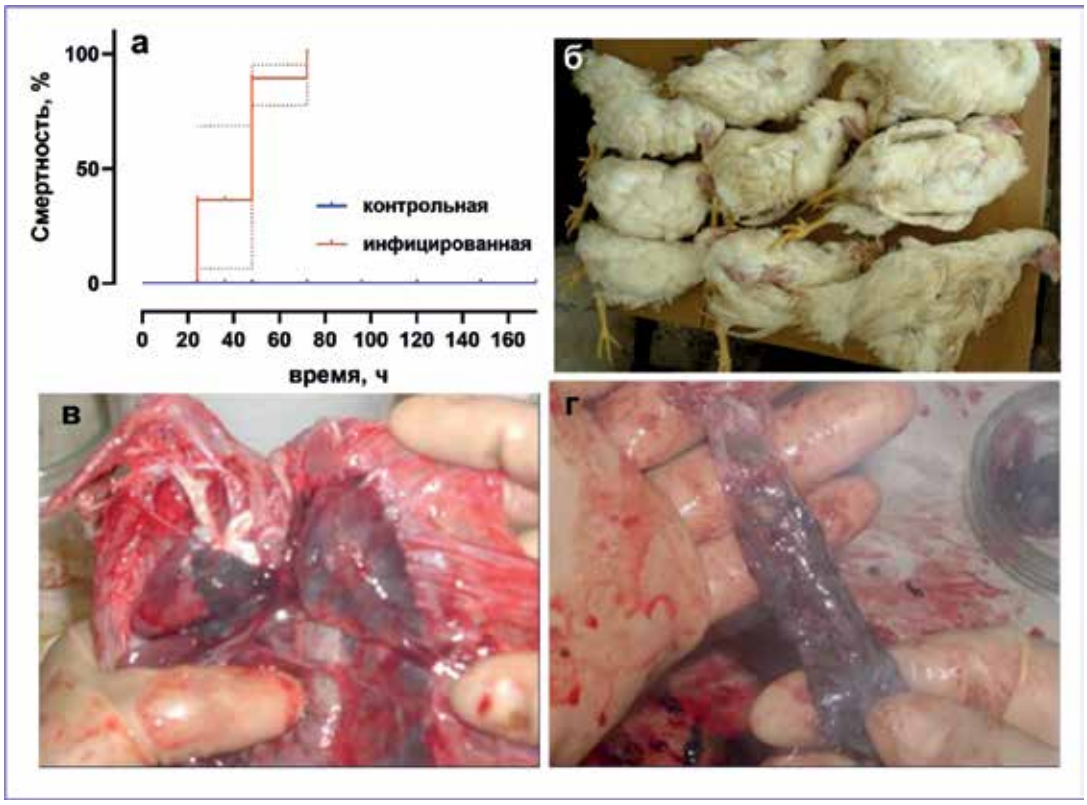
Освежение и стерильность вируса. Далее с целью освобождения суспензии от неполных (дефектных) вирусных частиц и получения гомогенной вирусной популяции, методом предельных разведений провели освежение указанного штамма. Освежённые образцы штамма вируса (3 пассажный уровень) испытывали на стерильность, определяли их инфекционную и гемагглютинирующую активности (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты определения стерильности, инфекционной и гемагглютинирующей активности освежённого штамма вируса ГП

№	Исследованный параметр	Нативная маточная расплодка вируса
1	Стерильность по аэробным бактериям (МПА, МПБ)	стерильна
2	Стерильность по анаэробным бактериям (Тароцци)	стерильна
3	Стерильность по грибкам (Сабуро)	стерильна
4	Наличие микоплазм	отсутствует
5	Инфекционная активность, lg $ЭИД_{50}/см^3$	8,75±0,14
6	Гемагглютинирующая активность, log_2	8,0

Данные таблицы 1 показали отсутствие бактериальных (аэробных и анаэробных), грибковых и микоплазменных контаминантов освеженного штамма 1/05 (H5N1) ВГП (3-ый пассажный уровень). После освежения штамма инфекционная активность составила (8,75 ± 0,14) lg $ЭИД_{50}/см^3$, а гемагглютинирующая активность показали 8,0 log_2.

Патогенность вируса. В результате проведенного опыта по определению патогенности освеженного штамма вируса у инфицированных цыплят проявление клинических признаков болезни и их падеж отмечался с первых суток. У больных цыплят наблюдалось угнетение, отказ от корма, диарея, взъерошенность перьев, парезы, параличи конечностей, парезы мышц шеи с заворотом головы, фибринозное наложение на конъюнктиве глаз, залипание век и они пали на 2-3 сутки после заражения (рисунок 2).



а – патогенность штамма на цыплятах, %; б – павшие цыплята, инфицированные высокопатогенным вирусом; в – точечные, полосчатые и разлитые кровоизлияния на серозных покровах, геморрагическое воспаление предсердия, кровоизлияния на желудочках и геморрагическое воспаление легких; г – геморрагическое воспаление толстого отдела кишечника с формированием бляшек

Рисунок 2 – Процент смертности и патологоанатомическая картина у цыплят, павших после заражения штаммом А/домашний гусь/Павлодар/1/05 (H5N1) ВГП

100% показатель смертности подопытных птиц отмечен в течение 24-72 ч при введении освеженного материала высокопатогенного штамма А/домашний гусь/ Павлодар /1/05 ВГП.

Специфичность заболевания павших цыплят инфицированный высокопатогенным штаммом А/домашний гусь/ Павлодар /1/05 ВГП подтверждена в РГА (5,51±0,18-8,12±0,14). Наличие вируса у цыплят в трахеальных смывах отмечено в титрах до 5,25±0,25 в РГА.

Обсуждение полученных данных. Изучение сохраняемости коллекционных штаммов представляет важную роль, так как коллекции патогенных штаммов необходимы при проведении испытаний сконструированных тест-систем как в качестве контроля, для оценки специфичности и чувствительности препарата, так и в виде гетерологичных аналогов [14].

В связи с этим, а также с новым появлением вспышки по высокопатогенным ВГП на территориях северного Казахстана нами было проведено исследование по изучению сохраняемости и степени патогенности высокопатогенного коллекционного штамма ВГП А/домашний гусь/Павлодар /1/05 (H5N1), используемого для контроля вакцины против птичьего гриппа, выпускаемой в НИИПББ. Штамм А/домашний гусь/Павлодар/1/05 ВГП А/H5N1, выделен от больного гуся в 2005-2006 годы на территории Павлодарской области во время крупной вспышки по птичьему гриппу и его биологические и физико-химические свойства детально изучены в рамках научной программы «Грипп птиц: изучение, разработка средств и методов борьбы» на 2006-2008 годы. По паспортным данным штамм в последний раз был освежен в куриных эмбрионах в 2013 году и заложен на хранение с высокой инфекционной (9,75±0,43 lg $ЭИД_{50}/см^3$) и гемагглютинирующей (1:512) активностью. При этом в качестве стабилизирующей среды было использовано обезжиренное молоко с соотношением 1:1. Обезжиренное молоко часто используется в качестве эффективного стабилизатора при хранении многих вирусов, в том числе для ВГП [15-19]. Следует отметить что, после длительного хранения инфекционная активность штамма существенно снизилась ($P \leqslant 0,05$), тогда как гемагглютинирующая активность вируса оставалась почти на исходном уровне (1:512) ($P \geqslant 0,05$) по сравнению с исходными данными.

Штамм А/домашний гусь/Павлодар/1/05 (H5N1) ВГП был адаптирован к куриным эмбрионам, после оптимизации параметров культивирования были получены вируссодержащие материалы с инфекционной активностью не менее 9,01 lg $ЭИД_{50}/см^3$ и гемагглютинирующей активностью не менее 1:256 [20].

Среди домашних и диких птиц вспышки высокопатогенного гриппа птиц вызывает вирулентные штаммы вируса субтипа H5 и H7. В связи с этим, ранее автором изучена патогенность данного штамма для гусят, утят, индюшат, щенят, котят и белых мышей, а также установлен спектр чувствительных перевиваемых и первично-трипсинизированных клеточных линий к этому штамму ВГП A/H5N1 [21]. При этом интравенозный индекс патогенности составил 2,59. Для установления сохраняемости штамма после его освежения нами проведен опыт по изучению патогенности на цыплятах 3-4 месячного возраста. В результате у всех цыплят отмечались слабость, угнетение, слезотечение, чихание и затрудненное дыхание, частичный, а затем полный отказ от корма. Развивался конъюнктивит, в пораженных синусах скапливалась прозрачная бурая жидкость. Испражнения были жидкими, зеленого цвета. По мере развития болезни наступал паралич шеи, конечностей, крыльев, затем судороги, после которых утята погибали. Патологоанатомические изменения в основном отмечались в верхних дыхательных путях. Трупы были истощены, носовые отверстия заклеены засохшим экссудатом. Специфичность заболевания павших цыплят инфицированный высокопатогенным штаммом А/домашний гусь/Павлодар/1/05 ВГП подтверждена в РГА (5,51±0,18-8,12±0,14). Наличие вируса у цыплят в трахеальных смывах отмечено в титрах до 5,25±0,25 в РГА.

Заключение. Таким образом, в результате проведения комплексных коллекционных работ было освежено и восстановлено в высокочувствительных биологических системах биологические и патогенные свойства высокопатогенного штамма А/домашний гусь/Павлодар/1/05 вируса гриппа, хранящиеся в коллекции микроорганизмов Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности Республики Казахстан.

ЛИТЕРАТУРА

1 Jennifer K. Thomas, Pharm.D., Jennifer Noppenberger CIC, Avian influenza: A review. – American Journal of Health-System Pharmacy. – 2007. – Vol. 64 (2). – P. 149-165. https://doi.org/10.2146/ajhp060181
2 Nuñez I.A., Ross T.M. A review of H5Nx avian influenza viruses // Therapeutic advances in vaccines and immunotherapy. – 2019. – 7. https://doi.org/10.1177/2515135518821625
3 Proença-Módena José Luiz, Macedo Izolete Santos, Arruda Eurico H5N1 avian influenza virus: an overview // Brazilian Journal of Infectious Diseases. – 2007. – 11 (1). – P. 125-133. https://doi.org/10.1590/S1413-86702007000100027
4 Abolnik C. A current review of avian influenza in pigeons and doves (Columbidae) // Vet Microbiol. – 2014. – 170 (3-4). – P. 181-196. doi: 10.1016/j.vetmic.2014.02.042
5 Tong S., Li Y., Rivailler P., Conrardy C., Castillo D.A., Chen L.M., Recuenco S., Ellison J.A., Davis C.T., York I.A., Turmelle A.S., Moran D., Rogers S., Shi M., Tao Y., Weil M.R., Tang K., Rowe L.A., Sammons S., Xu X., Donis R.O. A distinct lineage of influenza A virus from bats // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2012. – 109 (11). – P. 4269-4274. https://doi.org/10.1073/pnas.1116200109
6 Tong S., Zhu X., Li Y., Shi M., Zhang J., Bourgeois M., Yang H., Chen X., Recuenco, S., Gomez J., Chen L.M., Johnson A., Tao Y., Dreyfus C., Yu W., McBride R., Carney P.J., Gilbert A.T., Chang J., Guo Z., Donis R.O. New world bats harbor diverse influenza A viruses // PLoS pathogens. – 2013. – 9 (10). https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003657
7 Chatziprodromidou I.P., Arvanitidou M., Guitian J., Apostolou T., Vantarakis G., Vantarakis A. Global avian influenza outbreaks 2010-2016: a systematic review of their distribution, avian species and virus subtype // Syst Rev. – 2018. – 7 (17). https://doi.org/10.1186/s13643-018-0691-z
8 Интернет ресурс. О ситуации по птичьему гриппу в Казахстане рассказали в Минсельхозе. https://forbes.kz/news/2020/10/01/newsid_234694 (Дата обращения 11.03.2021)
9 Avian Influenza A (H5N1) Infection in Humans. The Writing Committee of the World Health Organization (WHO) Consultation on Human Influenza A (H5N1) // EnglJ.Med. – 2005. – 353. – P. 1374-1385.
10 Хунафина Д.Х., Галиева А.Т., Шайхуллина Л.Р. Птичий грипп // Медицинский вестник Башкортостана. – 2008. – С. 98-101.
11 WHO. Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance / WHO/CDS/CSR/NCS/2002.5 // Switzerland: Geneva, 2002. – Rev. 1. – 105 p.
12 OIE. Chapter 2.7.12 Avian Influenza. In: Terrestrial Animal Health Code, Sixteenth Edition. OIE. – Paris, 2007. – P. 279-285.
13 Reed L., Muench H. A simple method of estimation fifty percent and pints // J. Amer. Hyg. – 1938. – Vol. 27. – P. 493-497.
14 Онищенко Г.Г., Кутырев В.В., Осин А.В. Коллекционная деятельность в области использования патогенных микроорганизмов в обеспечении биологической безопасности Российской Федерации // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2016. – №1. – С. 37-46.
15 Кожамкулов Е.М., Табынов К.К., Рыскельдинова Ш.Ж., Бейшеналиева С.Т. Подбор оптимальных стабилизирующих сред для лиофилизации и хранения вируса гриппа холодоадаптированного штамма A/HK/OTAR/6:2/2010(H3N8) // Известия ВУЗОВ. – 2014. – № 5. – С. 139-142.
16 Solyom F., Perenlei L., Roith J., A live attenuated virus vaccine against sheep pox // Acta Vet. Acad. Sci. Hung. – 1980. – Vol. 28. (4). – P.389-398.

17 Кореба О.А. Биологические свойства штаммов вируса оспы овец: дис. ... канд. биол. наук. – Гвардейский, 1984. – 188 с.
18 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 әртүрлі температуралық-мерзімдік режимдерде сақталуын зерттеу // Биоқауіпсіздік және биотехнология. – 2020. – №3-4. – С. 24-30.
19 Dubrovina, I.A., Kiseleva, I.V., Kireeva, E.V. et al. Composition of the Stabilizer and Conditions of Lyophilization for Preserving Infectious Activity of Influenza Virus // Bull Exp Biol Med. – 2018. – 165. – P. 52-56. https://doi.org/10.1007/s10517-018-4097-7
20 Кыдырбаев Ж.К., Табынов К.К., Мамадалиев С.М., Молдагулова Н.Б., Кожамкулов Е.М. Параметры культивирования штамма А/домашний гусь/Павлодар/1/05 (H5N1) вируса гриппа птиц на куриных эмбрионах // Вестник сельскохозяйственный науки Казахстана. – 2007. – №10. – С. 49-51.
21 Табынов К.К. Биологические и физико-химические свойства изолятов высокопатогенного вируса гриппа птиц, выделенных на территории Республики Казахстан: дис. ... канд. биол. наук. – Бишкек, 2014. – 182 с.

УДК 578.832.1

Е.К. Кулбеков, Ж. Кыдырбаев, Ш.Ж. Рыскельдинова, Е.М. Кожамкулов, А.С. Нурпейсова, Н.Н. Асанжанова, К.Д. Закарья

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

ОПТИМИЗАЦИЯ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ РЕКОМБИНАНТНОГО ШТАММА A/HONG KONG/308/2014-A/ PR/8/34 [R] (6+2) H9N2 (SJ008) ВИРУСА ГРИППА

Аннотация. В данной статье представлены результаты исследований по определению оптимальных условий культивирования рекомбинантного штамма A/Hong Kong/308/2014–A/PR/8/34 [R] (6+2) H9N2 (SJ008) вируса гриппа по параметрам: определение заражающей дозы, возраст развивающихся куриных эмбрионов для заражения, температура инкубирования и продолжительность инкубирования. Установлены следующие оптимальные параметры культивирования: доза заражения вирусов – 1000-10000 $ЭИД_{50}$; возраст РКЭ – 10-11 сут; температура инкубации – 35 ºС; продолжительность инкубирования 48 ч. Установленные параметры культивирования позволяют получить вируссодержащую аллантоисную жидкость с титрами инфекционной и гемагглютинирующей активности не ниже 8,5 $\log_{10}$ $ЭИД_{50}$/мл и 1:512, соответственно.

Ключевые слова: грипп птиц, субтип H9N2, культивирование.

Е.К. Кулбеков, Ж. Кыдырбаев, Ш.Ж. Рыскельдинова, Е.М. Кожамкулов, А.С. Нурпейсова, Н.Н. Асанжанова, К.Д. Закарья

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

ТҰМАУ ВИРУСЫНЫҢ A/HONG KONG/308/2014-A/PR/8/34 [R] (6+2) H9N2 (SJ008) РЕКОМБИНАНТТЫ ШТАММЫН ӨСІРУ ЖАҒДАЙЛАРЫН ОҢТАЙЛАНДЫРУ

Аннотация. Бұл мақалада тұмау вирусының A/Hong Kong/308/2014-A/PR/8/34 [R] (6+2) H9N2 (SJ008) рекомбинантты штаммын өсірудің оңтайлы жағдайларын (жұқтыру дозасы, тауық эмбриондарының жасы, өсіру температурасы мен ұзақтығы) анықтау бойынша зерттеу нәтижелері келтірілген. Зерттеу нәтижелері бойынша вирусты өсірудің келесі оңтайлы параметрлері нақтыланды: жұқтыру дозасы – 1000-10000 $ЭИД_{50}$; тауық эмбриондарының жасы – 10-11 күндік; өсіру температурасы – 35 ºС , өсіру ұзақтығы – 48 сағат. Орнатылған өсіру параметрлерінің көмегімен инфекциялық және гемагглютинирлік белсенділік титрі 8,5 $\log_{10}$ $ЭИД_{50}$/мл және 1:512-тен кем емес вирусты аллантоистық сұйықтықты алуға болады.

Түйінді сөздер: құс тұмауы, H9N2 субтипі, өсіру.

E.K. Kulbekov, Zh. Kydyrbaev, Sh.Zh. Ryskeldinova, E.M. Kozhamkulov, A.S. Nurpeisova, N.N. Asanzhanova, K.D. Zakarya

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

OPTIMIZATION OF CULTIVATION CONDITIONS OF THE RECOMBINANT STRAIN A/HONG KONG/308/2014–A/PR/8/34 [R] (6+2) H9N2 (SJ008) OF THE INFLUENZA VIRUS

Abstract. This article presents the results of studies to determine the optimal conditions for the cultivation of recombinant strain A/Hong Kong/308/2014–A/PR/8/34[R] (6+2) H9N2 (SJ008) influenza virus by parameters: determination of the multiplicity of infection dose, age of developing chicken embryos for infection, incubation temperature and incubation duration. As a result of the conducted studies, the following optimal parameters of cultivation were established: the dose of virus infection – 1000-10000 EID_{50}; the age of developing chicken embryos – 10-11 days; the incubation temperature – 35 °C; the incubation duration – 48 hours. The established cultivation parameters allow us to obtain a virus-containing allantois liquid with titers of infectious and hemagglutinating activity not lower than 8.5 $\log_{10}$ EID_{50}/ml and 1:512, respectively.

Key words: avian influenza, H9N2 subtype, cultivation.

Введение. Вирусы гриппа А являются важными патогенами птиц, животных и человека, которые представляют собой постоянную угрозу пандемии [1]. Вирус H9N2 один из основных субтипов вирусов гриппа, циркулирующих среди домашних и диких птиц во всем мире, и вызывает значительные экономические убытки в птицеводстве [2]. Впервые вирус H9N2 у домашней птицы был изолирован от индеек в 1960-х годах в Соединенных Штатах Америки (США). В середине 1990-х годов H9N2 впервые был зарегистрирован среди кур в провинции Гуандун Китая, а впоследствии был обнаружен по всей стране. В 1996 году в Южной Корее была зарегистрирована вспышка H9N2, которая также стала эндемической. В конце 1990-х годов об обнаружении H9N2 поступили сообщения из разных стран Юго-Востока, Азии и Ближнего Востока. В 2014-2016 годах H9N2 и H5N6 были преобладающими субтипами в Северном и Южном Китае. В 2016-2019 годах доля вирусов гриппа H9N2 постепенно увеличивалась, и теперь стал наиболее распространенным субтипом по всему Китаю [3]. В настоящее время вирус стал энзоотическим во многих странах мира, в том числе в Азии и Северной Африке. Вирусы H9N2 стали серьезной проблемой не только для здоровья домашней птицы за последние 20 лет, но и для здоровья человека, поскольку некоторые из вирусов линии H9N2 являются зоонозными [4]. Учитывая эпизоотологическую ситуацию в мире и сопредельных государствах, в настоящее время создалась реальная угроза проникновения и распространения болезни среди птицепоголовья Казахстана.

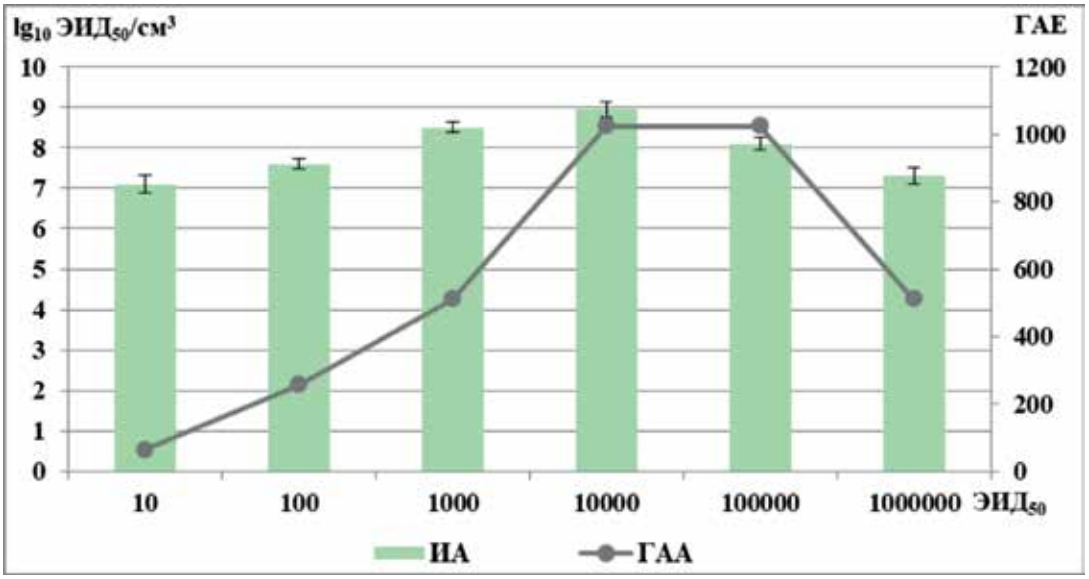
С целью противостояния угрозам биологической опасности для республики, укрепления возможностей реагирования на распространение гриппа птиц, Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности КН МОН РК проводил работы по актуализации штаммового состава инактивированной вакцины против гриппа птиц. В данной статье отражены результаты по оптимизации условий культивирования рекомбинантного штамма вируса гриппа субтипа H9N2.

Материалы и методы. Использован рекомбинантный штамм A/Hong Kong/308/2014 – A/PR/8/34[R] (6+2) H9N2 (SJ008), полученный методом обратной генетики в St.Jude Childrens Research Hospital (США). Штамм содержит гены гемагглютинина и нейраминидазы вируса A/Hong Kong/308/2014 H9N2 и гены PB2, PB1, PA, NP, M, NS от вируса A/Puerto Rico/8/34 (H1N1). Для культивирования вируса использованы развивающиеся куриные эмбрионы (РКЭ) из АО «Алель Агро» (Алматинская область, Казахстан). Провели освежение рекомбинантного штамма SJ008 (H9N2) на РКЭ. Для определения оптимальных параметров культивирования использован имеющийся существенный задел по данной работе, в особенности связанный с культивированием рекомбинантных штаммов (A/NYMC X-217 (H3N2) и B/NYMC BX-49), использованных для опытно-промышленного производства вакцины против сезонного гриппа [5].

В дальнейших исследованиях для получения высокоактивной вируссодержащей суспензии с целью приготовления опытно-промышленной серии вакцины отрабатывали оптимальную заражающую дозу вируса инфицированием РКЭ в дозах от 10 до 1000000 $ЭИД_{50}$, оптимальный возраст РКЭ, температуру инкубирования и продолжительность инкубирования рекомбинантного штамма.

Уровень накопления вируса оценивали титрованием в куриных эмбрионах и в реакции гемагглютинации [6].

Основные результаты исследований. С целью получения высокоактивного вирусосодержащего материала на первом этапе провели освежение рекомбинантного штамма SJ008 (H9N2). По результатам проведенной работы получены стерильные вируссодержащиеся аллантоисные жидкости (ВАЖ) с титрами инфекционной и гемагглютинирующей активности (8,45 ± 0,14) – (8,86 ± 0,08) log_{10} $ЭИД_{50}$/мл и 1:128-1:256, соответственно. Для определения оптимальных параметров культивирования рекомбинантного штамма SJ008 (H9N2) вируса гриппа в РКЭ проведены исследования по изучению уровня накопления вируса при различных дозах инфицирования. При этом использовали от 10 до 1000000 $ЭИД_{50}$ с продолжительностью инкубирования 48 ч. Результаты проведенных исследований представлены на рисунке 1.

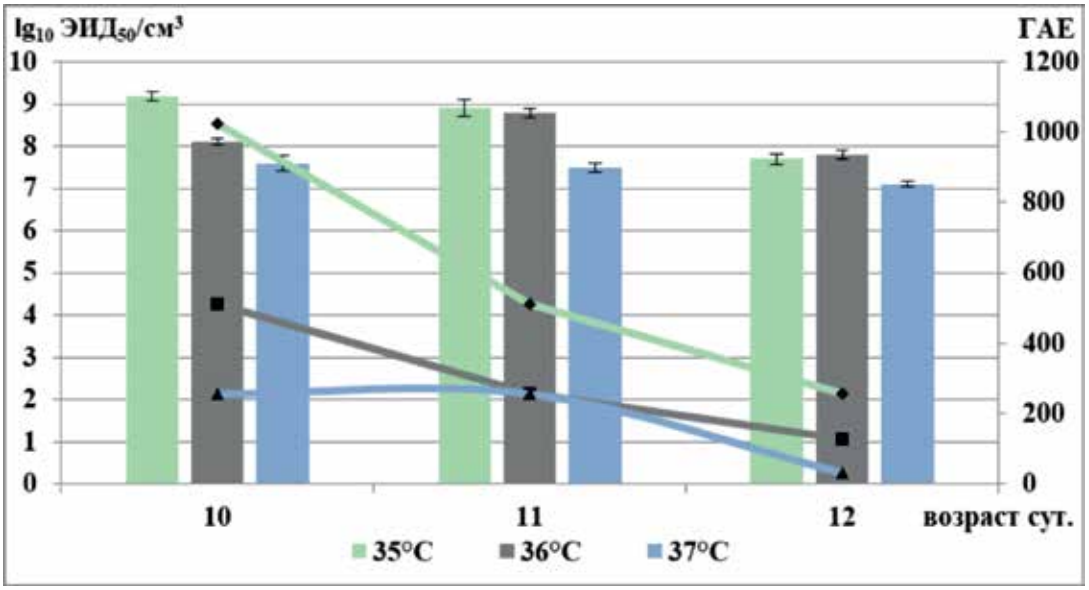


(ИА – инфекционная активность, ГАА – гемагглютинирующая активность вируса, ГАЕ – гемагглютинирующая единица)

Рисунок 1 – Уровень накопления штамма SJ008 (H9N2) вируса в РКЭ в зависимости от инфицирующей дозы

Из данных рисунка 1 видно, что штамм со всеми испытанными дозами способен накапливаться в РКЭ в достаточно высоких титрах. Максимальные значения инфекционной и гемагглютинирующей активности вируса были получены при использовании дозы в пределах от 1000 до 10000 $ЭИД_{50}$.

Далее определяли уровень накопления вируса в зависимости от возраста РКЭ и температуры инкубирования. Использовали РКЭ 10, 11, 12 суточного возраста, где вирус выращивался при температуре 35 ºС, 36 ºС, 37 ºС. Результаты исследования показаны на рисунке 2.



(ИА – столбик, ГАА – линия)

Рисунок 2 – Уровень накопления рекомбинантного штамма вируса гриппа SJ008 (H9N2) в зависимости от возраста РКЭ и температуры инкубирования

Как видно из рисунка 2, исследуемый штамм адаптирован к эмбрионам 10-11 суточного возраста. При этом более высокие показатели накопления вируса по инфекционной и гемагглютинирующей активности отмечается при температуре инкубирования 35 °С на 10-11 сут РКЭ.

Заключительным этапом исследования по оптимизации условий культивирования штамма SJ008 (H9N2) вируса гриппа птиц было определение оптимального срока культивирования вируса в РКЭ.

Для этой цели РКЭ 10 сут возраста инфицировали в дозе 10000 $ЭИД_{50}$ и инкубировали при температуре 35 °С с продолжительностью 24, 48 и 72 часа. Из инфицированных эмбрион собрали ВАЖ для определения инфекционной, гемагглютинирующей активности. Результаты исследований представлены в рисунке 3.

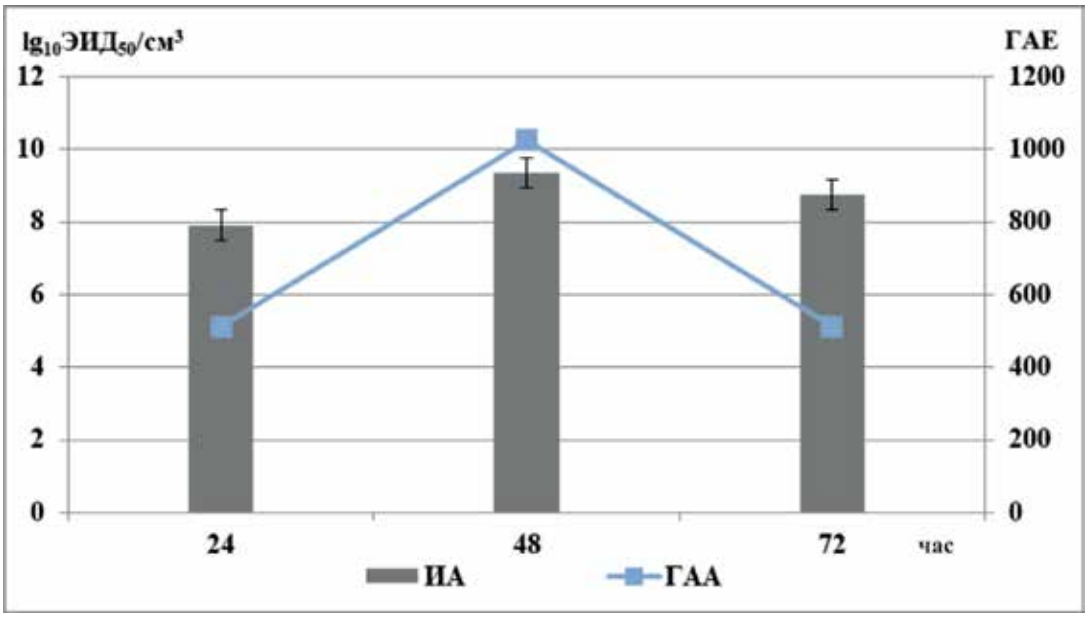


Рисунок 3 – Уровень накопления штамма SJ008 (H9N2) вируса в РКЭ в зависимости от срока культивирования

Из данных рисунка 3 видно, что при инфицировании 10-сут РКЭ штаммом SJ008 (H9N2) наивысшая инфекционная и гемагглютинирующая активность вируса отмечается на 48 ч инкубирования.

Таким образом, по данному этапу исследований были оптимизированы условия культивирования рекомбинантного штамма SJ008 (H9N2) в РКЭ. Соблюдение выбранных параметров культивирования (доза заражения вирусов – 1000-10000 $ЭИД_{50}$; возраст РКЭ – 10-11 суток; температура инкубации – 35 ºС; продолжительность инкубирования 48 ч) позволяет получать ВАЖ с титрами инфекционной и гемагглютинирующей активности не ниже 8,5 log_{10} $ЭИД_{50}$/мл и 1:512, соответственно.

Обсуждение полученных данных. Как известно развивающиеся куриные эмбрионы в настоящее время являются основным субстратом для культивирования гриппозных вирусов. Доказана высокая эффективность использования РКЭ по сравнению с различными культурами клеток (MDCK, Vero, HeLa, ФЭК), позволяющих получить высокоактивное вирусное сырье, пригодное для производства инактивированных вакцин с избежанием дорогостоящей процедуры концентрирования [7]. Наилучшим образом адаптированные к этой системе штаммы вируса гриппа птиц дают в РКЭ достаточно высокие титры (около 10^4-10^5 гемагглютинирующих единиц на 1 эмбрион). Кроме того, эмбрион, изолированный от внешней среды, не требует создания специальных стерильных условий, что также повышает ценность их использования [5].

В зависимости от параметров культивирования птичьего гриппа в литературе приводятся разные данные, в зависимости от типа штамма и их адаптированной к биологической системе. В большинстве случаев штаммы птичьего гриппа инкубируют на 10-13-дневных куриных эмбрионах в дозе 100-10000 $ЭИД_{50}$ в диапазоне 34-37 ºС градусов. Поэтому необходимо определить оптимальную схему культивирования для производителей, чтобы создать высокоэффективную вакцину [8, 9].

Проведенные работы по оптимизации условий культивирования рекомбинантного штамма позволили получать высокоактивный вирусный материал с инфекционной активностью не менее 8,5 log10 $ЭИД_{50}$/мл и гемагглютинирующей активностью не менее 1:512. Полученный рекомбинантный штамм вируса гриппа адаптирован к куриным эмбрионам, безвреден для эмбрионов 10-11 суточного возраста, накапливается в аллантоисной

жидкости РКЭ с высокой инфекционной активностью. Полученные высокоактивные штаммы вируса подходят для создания инактивированной вакцины, вызывающей высокий иммунный ответ.

Заключение. Оптимизированы условия культивирования рекомбинантного штамма A/Hong Kong/308/2014-A/PR/8/34[R] (6+2) H9N2 (SJ008) вируса гриппа в РКЭ: доза заражения вирусов – 1000-10000 $ЭИД_{50}$; возраст РКЭ – 10-11 суток; температура инкубирования – 35 ºС; срок культивирования – 48 ч.

ЛИТЕРАТУРА

1 Gaymard A., Briand N.Le, Frobert E., Lina B., Escuret V. Functional balance between neuraminidase and haemagglutinin in influenza viruses // Clinical Microbiology and Infection. – 2016. – 22. – P. 975-983.
2 Jiahao Zhang, Kaixiong Ma, Bo Li, Yiqun Chen, Ziwen Qiu, Jinchao Xing1, Jinyu Huang, Chen Hu, Yifan Huang, Huanan Li, Dingxiang Liu, Ming Liao, Wenbao Qi. A risk marker of tribasic hemagglutinin cleavage site in influenza A (H9N2) virus // Communication Biology. – 2021. – 4.
3 Yuhai Bi. Dominant subtype switch in avian influenza viruses during 2016–2019 in China // Communication Biology. – 2020. – 11. https://doi.org/10.1038/s41467-020-19671-3
4 Elizabeth A., David L.Suarez The Multifaceted Zoonotic Risk of H9N2 Avian Influenza // Vet. Sciences. – 2018. – 82 (5). doi: 10.3390/vetsci5040082
5 Akzhunusova I., Assanzhanova N., Tabynov K., Abdrakhmanova B., Sansyzbay A. Optimization of influenza A and B viruses cultivation conditions for preparation of trivalent seasonal influenza split vaccine // International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research. – 2015. – 6. – P. 2375-2381.
6 Сюрин В.Н., Белоусова Р.В., Фомина Н.В. Ветеринарная вирусология: учеб. для вузов. – М.: Колос, 1984. -376 с.
7 Zhao X., Zhou D. Optimization of culture condition for cultivation of influenza virus A on MDCK cell // Wei Sheng Yan Jiu. – 2014. – 43 (2). – P. 210-212.
8 Кыдырбаев Ж.К., Табынов К.К., Мамадалиев С.М., Молдагулова Н.Б., Кожамкулов Е.М. Параметры культивирование вируса гриппа птиц А/домашний гусь/Павлодар/1/05 (H5N1) в куриных эмбрионах // Вестник сельскохозяйственной науки Казахстана. – 2007. – 10. – С. 49-51.
9 Кыдырбаев Ж.К., Табынов К.К., Мамадалиев С.М., Рыскельдинова Ш.Ж. Параметры культивирование вируса гриппа птиц А/крачка/Южная Африка/61 (H5N3) в куриных эмбрионах для разработки инактивированной вакцины // Вестник Кыргызского НИИ животноводства, ветеринарии и пастбищ им. А. Дуйшеева. – Бишкек, 2007. – 1. – С. 243-248.

УДК

Г.Д. Наханова, Ж.К. Кошеметов, М.С. Сейсенбаева,
Н.К. Оразымбетова, Б.К. Умуралиев

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

ПОЛУЧЕНИЕ СПЕЦИФИЧЕСКИХ СЫВОРОТОК ДЛЯ ЛАБОРАТОРНЫХ ТЕСТ-СИСТЕМ ПРИ КЛОСТРИДИОЗЕ

Аннотация. В статье представлены результаты исследований по отработаной методике, приготовления комплексного специфического антигена на основе штамма «Clostridium/ Saigas/2010/ZKO/KZ», пригодных для постановки тест-систем и иммунизации животных против клостридиоза. Отработана схема получения специфических сывороток, пригодной для постановки тест-систем.

Ключевые слова: антиген, *C. perfringens*, антисыворотки, Среда Китта-Тароцци.

Г.Д. Наханова, Ж.К. Кошеметов, М.С. Сейсенбаева,
Н.К. Оразымбетова, Б.К. Умуралиев

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

КЛОСТРИДИОЗ КЕЗІНДЕ ЗЕРТХАНАЛЫҚ ТЕСТ-ЖҮЙЕЛЕР ҮШІН ТӘНДІ ҚАН САРЫСУЛАРЫН АЛУ

Аннотация. Мақалада клостридиозға қарсы жануарларды иммунизациялау және тест-жүйелерді қоюға арналған жарамды «Clostridium/Saigas/2010/ZKO/KZ» штамм негізінде кешенді тәнді антигенді дайындау, пысықталған әдістеме бойынша зерттеу нәтижелері ұсынылған. Тест-жүйелерді қою үшін жарамды тәнді қан сарысуын алу схемасы пысықталды.

Түйінді сөздер: антиген, *C.perfringens*, қарсы қансарысуы, Китта-Тароцци ортасы.

G.D. Nakhanova, Zh.K. Koshemetov, M.S. Seisenbayeva,
N.K. Orazymbetova, B.K. Umuraliyev

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

PREPARATION OF SPECIFIC SERA FOR LABORATORY TEST SYSTEMS IN CLOSTRIDIOSIS

Abstract. The article presents the results of research on the developed methodology, preparation of a complex specific antigen based on the strain “Clostridium/Saigas/2010/ ZKO/KZ”, suitable for setting up test systems and immunizing animals against clostridiosis. A scheme for obtaining specific sera suitable for setting up test systems has been developed.

Key words: antigen, C. perfringens, antiserum, Kitta-Tarozzi medium.

Введение. Клостридиозы – острые инфекционные заболевания человека и животных, вызываемые патогенными штаммами анаэробов из рода клостридий.

Род клостридий объединяет штаммы анаэробов более 100 видов, которые для удобства идентификации разделены на 5 групп. Большинство из них непатогенны для человека и животных, являясь сапрофитами желудочно-кишечного тракта, или находятся в почве, размножаясь в зоне корней растений. Патогенны для человека только некоторые представители клостридий 2-й и 4-й групп: *C. perfringens*, *C. difficile* и *C. botulinum* – возбудители энтеральных клостридиозов, а также возбудитель столбняка и *C. septicum, C. oedematiens*, *C. hystoliticum*, *C. sordellii*, *C. perfringens* и др. – возбудители газовой гангрены. Патогенность этих бактерий определяется их адгезивностью и главным образом способностью вырабатывать специфические экзотоксины высокой биологической активности.

Естественной средой обитания клостридий, в том числе и патогенных, является кишечник животных (особенно травоядных), а также человека, где они живут и размножаются, не вызывая заболевания. Попадая с испражнениями во внешнюю среду, в первую очередь в почву, они могут длительно сохраняться в виде спор, а при благоприятных условиях – даже размножаться [1].

C.perfringens подразделяется на шесть серотипов – A, B, C, D, E и F, в зависимости от типов токсинов внеклеточных (альфа-, бета-, эпсилон-и йота-токсины) они делают и их формы тропизмов [2]. *C. perfringens* является патогеном, основной целью являются человек и животные. Бактерия можно найти в самых разных местах обитания, таких как нормальной флоры человеческого желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), и окружающей среды, таких как сточные воды и почвы [3]. Несколько распространенных заболеваний, связанных с *C. perfringens* являются причиной пищевых отравлений, газовой гангрены и многих ветеринарных заболеваний. Споры обычно сохраняются в продуктах и блюдах после их термической обработки. При длительном хранении готовой пищи в тепле споры могут прорасти и в течение короткого времени накапливаются в огромном количестве. Пищевые продукты животного происхождения могут обсеменяться патогенными штаммами, как при жизни, так и после убоя животных. В клинической картине пищевых отравлений, обусловленных *C.perfringens*, отмечается затяжной инкубационный период (5-22 часа), многократный зловонный понос, тошнота, спазмы и боли в животе [4-10].

Лабораторная диагностика заболевания сельскохозяйственных животных и птицы при подозрении на пищевое отравление, вызванное токсинами *C. perfringens*, берут подозрительные продукты и материал от больных (рвотные массы или промывные воды, кровь, испражнения). Диагноз ставится также с учетом анамнеза, эпидемиологических факторов, клинических проявлений.

Материалы и методы. *Возбудитель*. В процессе проведения экспериментальных исследований был использован штамм «Clostridium/Saigas/2010/ZKO/KZ» возбудителя *C.perfringens*.

Среда Китта-Тароцци

Печень крупного рогатого скота нарезали кусочками по 1,0-1,5 г, заливали по весу тройным количеством МПБ или бульона Хоттингера pH 7,4-7,6 и кипятили 30 минут. Бульон фильтровали, а печень промывали под краном на сите и подсушивали фильтровальной бумагой. Затем в каждую пробирку ложили по 4-5 кусочков отмытой печени и заливали профильтрованным бульоном по 7-10 мл, сверху бульон заливали слоем вазелинного масла.

Наработка биомассы

Микробную массу штамма «Clostridium/Saigas/2010/ZKO/KZ» получали путем культивирования на среде Китта-Тароцци при pH 7,2-7,4 в течение 48 ч при 37 ºС, для усиления роста в засеянную питательную среду добавляли 1% глюкозы. На среде Китта-Тароцци

через 8-12 ч появляется рост, вызывающий помутнение среды, образование обильного осадка и газа.

Определение патогенности

Биологическое исследование проводят для определения патогенности выделенной культуры клостридии и при необходимости с целью обнаружения возбудителя в патологическом материале.

Патогенность культур определяют на белых мышах массой 16-18 грамм. С этой целью двум белым мышам вводят подкожно по 0,2 $см^3$ 18-24 часовой бульонной культуры.

Животные

При получении антисывороток против возбудителя *C.perfringens*, использовали кроликов породы Шиншилла с живой массой 2-2,5 кг, коз и овец местной породы в возрасте 8-12 месяцев.

Основные результаты исследований. Были проведены опыты по подбору оптимальных методов очистки и концентрирования штамма Clostridium/Saigas/2010/ZKO/KZ возбудителя *C. perfringens*. После того, как была проведена очистка и концентрирование антигенов штамма «Clostridium/Saigas/2010/ZKO/KZ» возбудителя *C. perfringens* проверялась концентрация белка в препаратах и антигенная активность в РДП.

Концентрацию белка в антигенах из штамма «Clostridium/Saigas/2010/ZKO/KZ» возбудителя *C. perfringens* проверяли с помощью спектрофотометра Boeco S-30. Концентрация белка в приготовленных антигенах из штамма «Clostridium/Saigas/2010/ZKO/KZ» возбудителя *C. perfringens* Grosset составила 17,2 мг/мл, а по методу кипячения (соматический антиген) 204,9 мг/мл. Антигенную активность полученных препаратов проверяли в РДП, результаты исследования представлены на рисунке 1.

Из результатов, приведенных исследовании по рисунку 1 видно, что наиболее активный антиген возбудителя *C. perfringens* получен по 2 способу – включающему осаждение микробных клеток и трехкратную отмывку физиологическим раствором, осадок микробных клеток разбавляли тем же раствором до получения взвеси 50 млрд в 1 мл (по оптическому стандарту мутности), прогревали в водяной бане при 100 °С в течение 3 час. Активность этого антигена в РДП составила 1:32, а антиген, приготовленный по 1 способу, в РДП показал более низкую активность 1:16. В дальнейших опытах с использованием антигенов, приготовленных по 2 способам, были получены антисыворотки к возбудителю *C. perfringens* на разных видах животных.

Рисунок 1 – Уровень концентрации белков и антигенной активности

В опыте для получения антисыворотки к возбудителю *C. perfringens* использовали 16 голов кроликов с живой массой 2-2,5 кг, четырёх коз и овец местных пород в возрасте 8 и 12 месяцев, специфические сыворотки при *C. perfringens* по литературным данным, в основном, получают на кроликах [12].

Приготовленными, с использованием двух методов, антигенами, после проверки их стерильности и безвредности, иммунизировали кроликов. Антигены вводили внутривенно в возраставших дозах в объеме по 2 см^3 с 3-дневными интервалами. После перерыва в 30 дней животные получали еще 6 доз антигена. Схема введения антигенов представлена на рисунке 2.

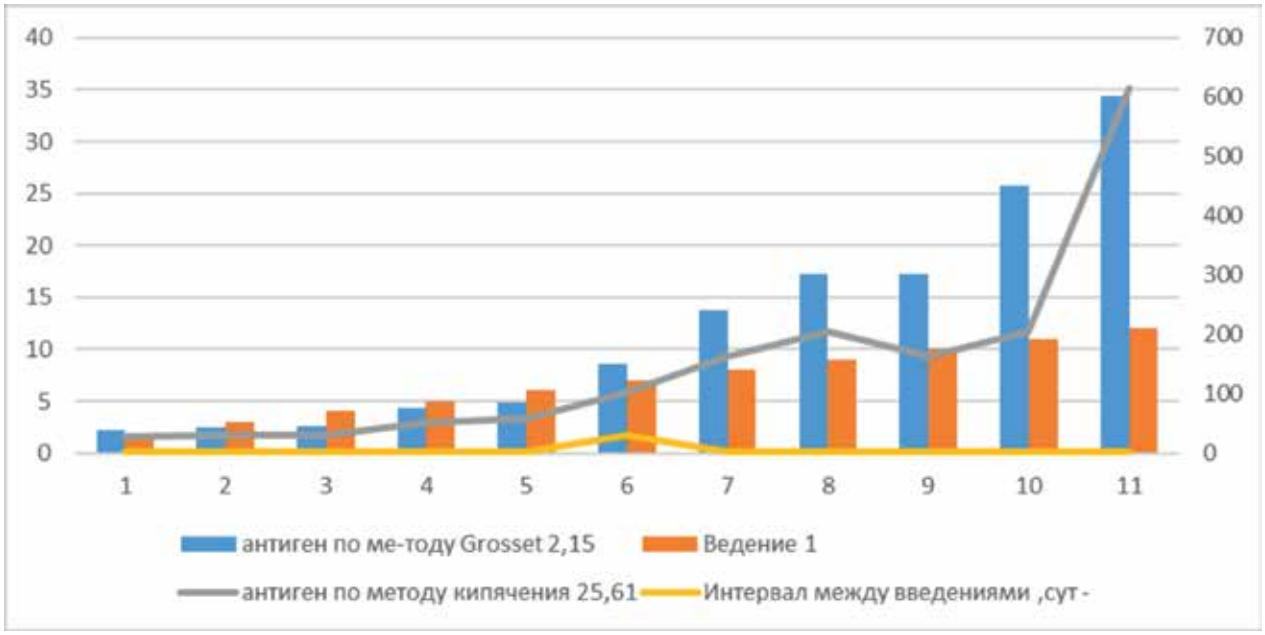


Рисунок 2 – Уровень введения антигенов кроликам

Первоначально коз и овец иммунизировали очищенными и концентрированными, с использованием двух методов приготовления, антигенами из штамма «Clostridium/ Saigas/2010/ZKO/KZ» возбудителя *C. perfringens*. Антигены вводили внутривенно в объеме по 3 см^3.

По истечении 15 суток, коз подвергали гипериммунизации, материал вводили внутривенно в объеме по 5 см^3. Через 7 суток после первого введения антигенов, проводили вторичное введение антигенов в область предлопаточного лимфатического узла в объеме 3 см^3 и внутривенно в объеме 2 см^3. Через 7 суток антигены вновь вводили в область предлопаточного лимфатического узла в объеме 3 см^3 с адъювантом Montanide ISA-71 VG – в соотношении 1:0,5. Через 7 суток антигены вводили внутривенно в объеме по 5 см^3 трехкратно с 7-дневными интервалами. После перерыва в 30 дней животные получали еще 3 дозы антигена. Третью дозу антигенов вводили в область предлопаточного лимфатического узла в объеме 5 см^3 с адъювантом Montanide ISA-71 VG – в соотношении 1:0,5 и внутривенно в объеме 5 см^3.

На 7-е сутки после заключительной инъекции у каждого животного брали пробы сывороток крови и определяли их активность и специфичность в РДП и ИФА. Результаты проведенных исследований представлены на рисунке 3.

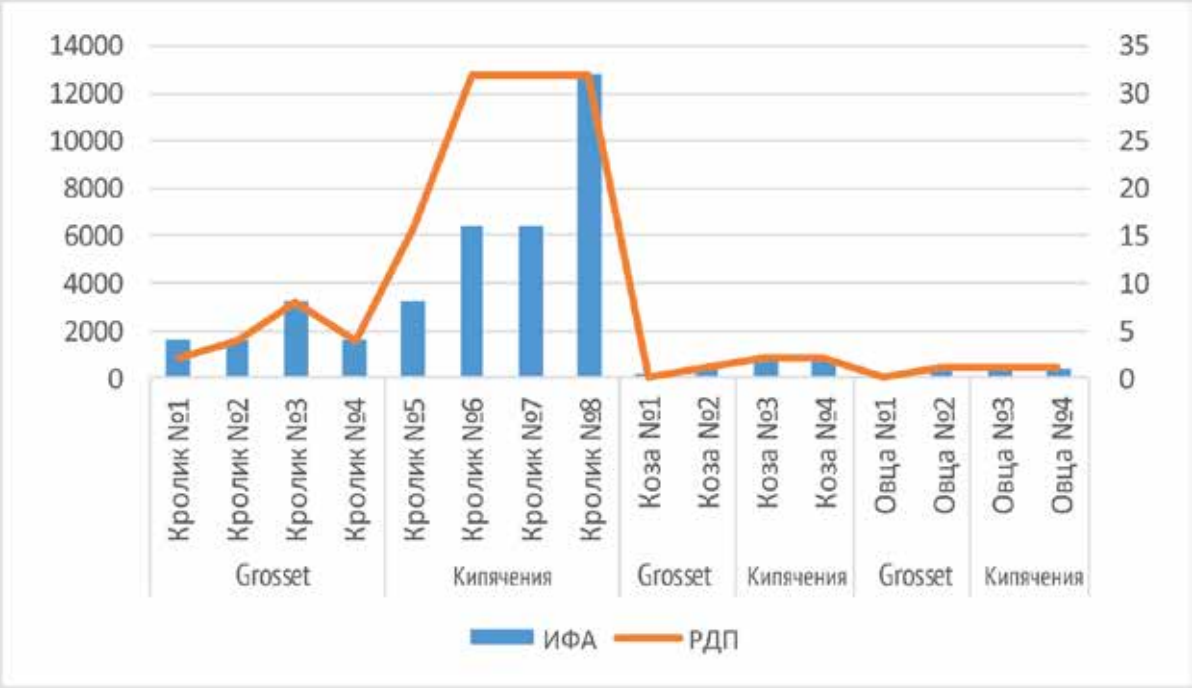


Рисунок 3 – Уровень накопления титров антител, полученных на животны

Обсуждение полученных данных. Антисыворотки к штамму «Clostridium/Saigas/2010/ZKO/KZ» возбудителя *C. perfringens* на разных видах животных получены с помощью концентрированного и очищенного антигена. В результате опытов были получены активные и специфичные антисыворотки на животных, где титр антител в РДП составил ц – 1:32 и в ИФА 1:200-1:12800, соответственно. Антисыворотки полученные к возбудителю *C. perfringens* на кроликах по методу кипячения, в дальнейшем могут быть использованы при разработке отечественных диагностических тест-систем для обнаружения специфических антигенов возбудителя *C. perfringens* в различных объектах ветеринарного надзора.

Заключение. В результате приготовлены комплексные культуральные специфические антигены на основе штамма «Clostridium/Saigas/2010/ZKO/KZ» возбудителя *C. perfringens*, пригодных для постановки тест-систем и иммунизации животных против клостридиоза. Отработана схема получения специфических сывороток, пригодной для постановки тест-систем.

ЛИТЕРАТУРА

1 Кок Р.П. Ретроспективная оценка причин гибели сайгаков Saiga tatarica в Западном Казахстане в 2010-2011 годы // Отдел патологии и инфекционных заболеваний. – 2012. – 14. – С. 1-2.
2 Raju D., Mahfuzur R. Sarker Production of small, acid-soluble spore proteins in Clostridium perfringens nonfoodborne gastrointestinal disease isolates // Can. J. Microbiol. – 2007. – 15. – 53. – P. 514-518.
3 Tohru S., Kaori Ohtani, Hideki Hirakawa, Kenshiro Ohshima, Atsushi Yamashita, Tadayoshi Shiba, Naotake Ogasawara, Masahira Hattori, Satoru Kuhara, Hideo Hayashi Complete genome sequence of Clostridium perfringens, an anaerobic flesh-eater // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2002. – 22. – 99 (2). – P. 996-1001.

4 Dailey N.J., Lee N., Feischauer A.T., Moore Z.S., Alfano-Sobsey E., Breedlove F., Pierce A., Ledford A., Greene S., Gómez G.A., Talkington D.F., Sotir M.J., Hall D. Sweat Clostridium perfringens Infections Initially Attributed to Norovirus // Clinical Infectious Diseases. – 2010. – 55 (4). – P. 568-570.
5 Авакян А.А., Кац Л.Н., Павлова И.Б. Clostridium perfringens // Атлас анатомии бактерий, патогенных для человека и животных. – М.: Медицина, 1972. – С. 139-147.
6 Смирнов Ж.Е. Эпидемиология болезней пищевого происхождения вспышек, вызванных Clostridium perfnngens, США, 1998-2010 // Пищевых патогенов и болезней. – 2013. – 10. С. 131-136.
7 Гришаев Н.Е. Влияние возраста культур на токсигенный и иммуногенные свойства С. perfnngens типов В и Д. В кн.: «Факторы вирулентности и иммуногенности патогенных микроорганизмов (в связи с проблемой эффективности вакцинных препаратов)» // Материалы Ш меж институтской конференции памяти И. И. Мечникова. – Москва, 1965.
8 Ленькова В.А. Энтеротоксемия поросят, вызванная атипичными С. perfringens типа А // Науч. тр. Бел. НИВИ. – 1970. – Т.8. – С. 46-50.
9 Ленькова В.А. Энтеротоксемия телят, обусловленная CI. Perfringens: дис. ... доктора вет. наук. – М., 1971. – С. 356.
10 Михин Н.А Опыт получения комплексной антисыворотки против смешанной инфекции септицемии и паратифа телят // Советская ветеринария. – 1937. – №3. – С.10-14.
11 Архипов У.Х., Виноградов В.М., Воробьев П.А. Овцеводство и козоводство // Справочник. – М.: Агропромиздат, 1990. – С. 335.
12 Bullen J.J., Wilson A.B., Kathleen Cordiner. The effect of normal and immure sera on the growth of Clostridium welchii type a in the allantoic cavity of embryonated hen eggs // The Journal of Pathology. – 1961. – Vol. 82. – Issue 2. – P. 383-401.

УДК 573.6.001.535.2

Ж.Ж. Саметова, Л.Г. Мараховская, З.Д. Ершебулов, Ж.Т. Аманова, Е.А. Шаяхметов, А.С. Кыргызбаева, А.К. Наханов, Е.А.Булатов

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

ВНК 21/С13 ТОРШАЛАР ЖҮЙЕСІНІҢ СУСПЕНЗИЯЛЫҚ ӨСІРУДІҢ ОҢТАЙЛЫ ПАРАМЕТРЛЕРІН АНЫҚТАУ

Аннотация. Бұл жұмыста әртүрлі өсу орталарын пайдалана отырып, «Techne» спиннерлері мен «Биотрон» биореакторында ВНК 21/с13 торшаларының жүйесін суспензиялық өсіру бойынша зерттеу нәтижелері ұсынылды. Зерттеу нәтижесінде жасушаларды өсірудің оңтайлы жағдайлары таңдап алынды.

Түйін сөздер: торша өсіндісі, ВНК 21, суспензия, қоректік орта, қан сарысуы, биореактор.

Ж.Ж. Саметова, Л.Г. Мараховская, З.Д. Ершебулов, Ж.Т. Аманова, Е.А. Шаяхметов, А.С. Кыргызбаева, А.К. Наханов, Е.А. Булатов

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

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИМАЛЬНЫХ ПАРАМЕТРОВ СУСПЕНЗИОННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛИНИИ КЛЕТОК ВНК 21/С13

Аннотация. В данной работе представлены результаты исследования по суспензионному культивированию линии клеток ВНК 21/с13 в спиннерах «Techne» и биореакторе «Биотрон» с использованием различных ростовых сред. В результате проведенных исследовании были отработаны оптимальные условия культивирования клеток.

Ключевые слова: культура клеток, ВНК21, суспензия, питательная среда, сыворотка крови, биореактор.

Zh. Zh. Sametova, L.G. Marakhovskaya, Z.D. Ershebulov, Zh.T. Amanova, E.A. Shayakhmetov, A.S. Kyrghyzbaeva, A.K. Nakhanov, E.A. Bulatov

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

DETERMINATION OF OPTIMAL PARAMETERS OF SUSPENSION CULTURE OF THE BHK 21/C13 CELL LINE

Abstract. This paper presents the results of a study on the suspension culture of the BHK 21/c13 cell line in the “Techne” spinners and the “Biotron” bioreactor using various growth media. As a result of the conducted studies, the optimal conditions for cell culture were worked out.

Key words: cell culture, BHK 21, suspension, culture medium, blood serum, bioreactor.

Кіріспе. Тіндерді ыдыратудың ферментативті әдісін әзірлеу және оларды in vitro-да одан әрі қолдану жасушалық биологияның, атап айтқанда биотехнологияның қарқынды дамуының басты себептерінің бірі болады [1].

Жасушалық субстраттарды (ең алдымен торшалардың бастапқы өсінділерін) пайдалана отырып, вирусқа қарсы вакциналарды жасаудың дәстүрлі әдістері 45 жылдан астам уақыт бойы өздерінің жетекші позицияларын сақтап келеді. Бұл вакциналарды қолдану нәтижелері олардың жеткілікті қауіпсіз және тиімді екенін көрсетеді. Қайта өңделген торша жүйелерін қолдану халықаралық талаптарға сәйкес мұқият зерттелген және толық сертификатталған торшалардың өндірістік және жұмыс істейтін қорларының жүйесіне негізделген. Осындай қорлардан дайындалған өсінділерді пайдалану торшалық субстраттың стандарттылығын, бөгде агенттермен контаминацияның болмауын қамтамасыз етеді, донор жануарларға қажеттілікті айтарлықтай азайтады немесе толығымен жояды, сондай-ақ реакторлық технологияны қолдануға мүмкіндік береді.

Қазіргі уақытта стационарлық бірқабатты торша өсінділерінің кең таралған әдісі бір уақытта культуралық вирусқа қарсы биопрепараттар өндіруге қажетті торшалық биомассаның көп мөлшерін алуға мүмкіндік бермейді [2, 3, 4].

Осыған қарағанда, культуралық ортаның ең аз шығындарымен және салыстырмалы түрде қарапайым технологиямен бір уақытта қажетті торша санын алуды қамтамасыз ететін торшаларды суспензиялық өсіру әдісі айтарлықтай артықшылықтарға ие [5, 6].

Торша жүйелерінің суспензиялық өсінділерінің әдісі тіндік өсінді техникасының маңызды жетістігі болады. Алғаш рет *in vitro* суспензиясындағы жануарлардың торшаларының көбеюі Оуэнс пен Эрл эксперименттерінде тышқандардың лимфобластоз торшаларымен, L жүйесіндегі тышқан фибробласттарымен және тышқан бауырының эпителий торшаларының жүйелерімен анықталды. Шыны ыдыстың қабырғасында өсірілген, қайта өңделген торшалар ұзақ уақыт бойы араластырылған суспензияға айналуы мүмкін екендігі белгілі болды. Суспензиялық күйінде әртүрлі торша жүйелері бірдей емес өсу қабілетіне ие болды. Сонымен, Капстик және бірлескен авторларының мәліметтері бойынша, сыртқы жағдайларға бейім емес және моноқабатта тез өсетін торшалар суспензия күйінде жақсы көбейді. Авторлар суспензияның плоидты және өсу қабілеті арасындағы байланысты анықтады. ВНК-21 торшаларының анеуплоидты жүйесі суспензиялық өсіндіде тез өсуге, ал сол торшалардың псевдодиплоидты жүйесі баяу және қиын бейімделеді [7].

Мақсатты өнімнің дайындық мөлшерін әзірлеу кезінде көбінесе биосинтез процесін инженерлік қамтамасыз ету, яғни мақсатты өнімнің жинақталуы мен өсуі үшін оңтайлы жағдай жасайтын биореактордың дизайны анықталады. Бұл бағытта ғалымдар бірқатар зерттеулер жүргізген. Сонымен, Кислых В.И. және бірлескен авторлар, БИОК биореакторындағы суспензияда ангионин шығаратын *E. coli* BL21 штамын өсірген кезде ақуыздың шығуы механикалық араластырғыш құрылғысы бар биореакторға қарағанда 3-6 есе жоғары болған [8].

Генетикалық қасиеттердің, торшалардың сақталуын анықтайтын және өсіру мен сақтау кезінде жоғары өнімділік пен тұрақтылықты қамтамасыз ететін маңызды факторлардың бірі-қоректік ортаның құрамы [9].

Алдын-ала эксперименттік зерттеулер торшалық жүйелерді өсіруді жақсарту үшін цитобиологиядағы жаңа тәсілдер мен әдістердің орындылығын көрсетті. Сонымен қатар, химиялық анықталған компоненттер негізінде қоректік ортаны тәжірибеге енгізу және сарысудың аз мөлшерімен немесе оны толығымен ауыстырумен осы ортаны пайдалану мүмкіндігін зерттеу маңызды және өзекті болып табылады. Сарысуы азайтылған (0,5-2 %) қоректік орталарда торшаларының бастапқы өсіндісін өсіру вирустың сезімталдығы мен көбею деңгейін 10 есе арттырады [10].

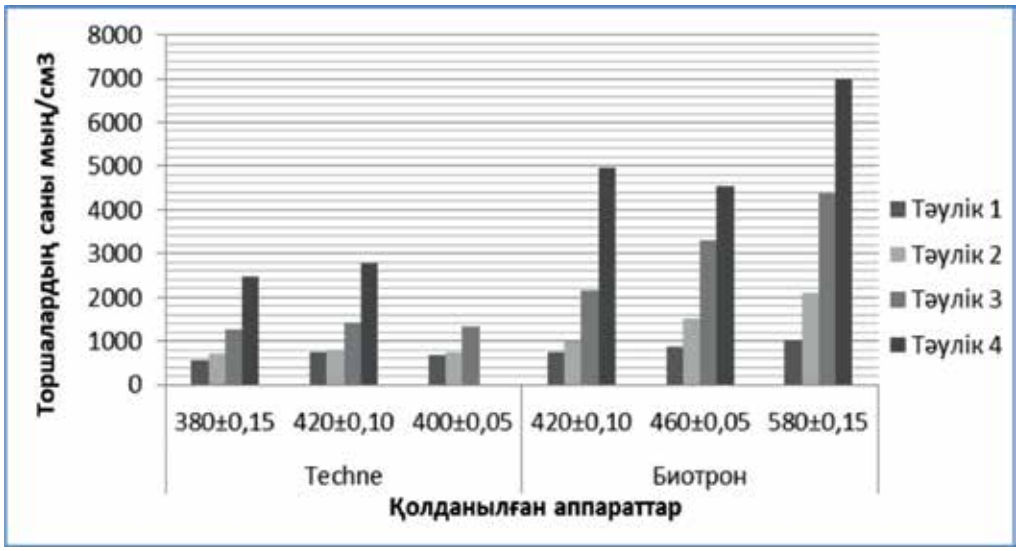
Осылайша, қоректік ортаны құрудың жаңа тенденциялары және цитобиология саласындағы зерттеулердің жаңа бағыттары биологиялық өнімділігі мен техникалық-экономикалық тиімділігі жоғары торша мен вирусты кең ауқымды өсіру технологиясын дамытудың нақты перспективаларын ашады.

Жұмыстың мақсаты диагностикалық және профилактикалық препараттарды дайындау кезінде жасушалар мен вирустардың биомассасын өңдеу әдісін қолдану үшін ВНК 21/с13 торшалар жүйесін суспензиялық өсіру параметрлерін анықтау болды.

Материалдар мен әдістер. Эксперименттік жұмыста ВНК 21/с13 торшаларының суспензиялы жүйесі қолданылды. Бұл жасуша жүйесі сириялық хомяктың бүйрегінен алынған. Торша өсіндісінің морфологиясы фибробласт тәрізді болып келеді.

ВНК 21/с13 торша өсінділерін көлемі 75 см^3, 250 см^3, және 750 см^3 "Techne" спинерлерінде және 30 литрлік "Биотрон" биореакторында жүргізілді. Techne спинерлерінде өсірген кезде торшалардың егу концентрациясы 3*10^5 кл/см^3, ал "Биотрон" биореакторын пайдаланған кезде 4*10^5 кл/см^3 құрады. ВНК 21/с13 торша өсінділерін өсіру үшін 10% эмбриоталды бұқа сарысуы қосылған ПСС, ИГЛА-МЕМ және ДМЕМ қоректік орталары қолданылды. Тәжірибе жүргізу мерзімінде қоректік ортаны жаңа қоректік ортаға ауыстырмай жүргізілді. Сонымен қатар, торшаларды өсіру кезінде тірі және өлі екендігін анықтау мақсатында ТС20 торша есептегіші қолданылды.

Зерттеудің негізгі нәтижелері. Тәжірибелерде "Techne" биологиялық спинерлерінде және "Биотрон" биореакторында ВНК 21/с13 торшалары жүйесін суспензиялық өсіру әдісін оңтайландыру бойынша нәтижелер ұсынылған. Зертеу жүргізу барысында "Techne" спинерлерінде өсірген кезде торшалардың егу концентрациясы 380-420 мың, ал "Биотрон" биореакторын пайдаланған кезде 420-580 мың торшалар құрады. Зерттеу нәтижелері 1 суретте келтірілген.

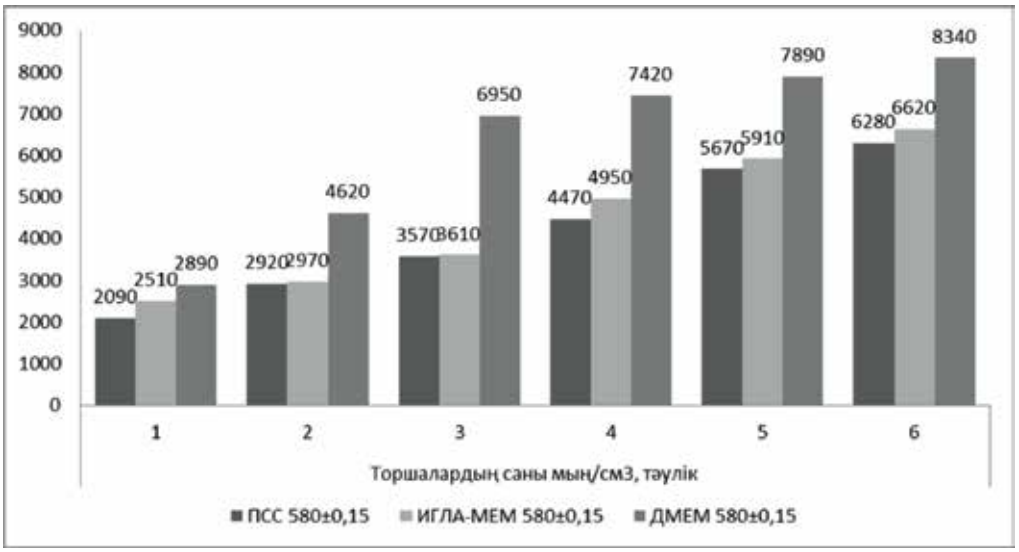


1 сурет – Қолданылатын аппараттардың ВНК/с13 торшаларының жинақталу деңгейіне әсері

Зерттеу нәтижесінде "Биотрон" биореакторында өсіру кезінде торшалардың ең көп өсуі байқалғанын көрсетті, спинерлерде торшалардың өсуі биореакторда өсіргенге қарағанда әлдеқайда төмен болды. Өйткені, биологиялық спинерлерде торшаларды өсіу кезінде үлкен көлемде биомасса алуға мүмкіндік бермеді, ал торшалардың көлемін арттыру "Биотрон" биореакторында өсіру тиімді екендігі байқалды.

Кез-келген торша өсіндісінде ауа және сұйық фазалар ажыратылады. Сұйық фаза торшалардың өмірлік белсенділігін қамтамасыз етеді және әртүрлі құрам мен қасиеттердің қоректік ортасынан тұрады. Біздің жағдайда ВНК 21/с13 торшаларын суспензиялы күйде

өсіру үшін әртүрлі құрамдағы дайындалған қоректік ортаның жарамдылығын анықтау бойынша зерттеулер жүргізілді. Ол үшін біз ПСС, ИГЛА-МЕМ және ДМЕМ өсу ортасының биореакторда өсіру кезіндегі торшалардың жинақталу деңгейіне әсерін зерттедік. Тәжірибелерде барлық орталарға 10 % концентрацияға дейін эмбриоталды бұқа сарысуын қостық. Қоректік орталарда торшаларды өсіру кезіндегі егу концентрациясы $5*10^5$ кл/см^3 құрады. Күн сайын үлгі алынып оны ТС20 торша есептегішімен тірі және өлі торшалардың санын есептедік. Өсіру ұзақтығы 6 тәулікте жүргізілді (бақылау мерзімі). Осы тәжірибелердің нәтижелері 2 суретте келтірілген.



2 сурет – Қоректік ортаның ВНК 21/с13 торша өсіндісінің өсу қасиеттеріне әсері

Суретте келтірілген зерттеу нәтижелерінде, салыстырмалы түрде ПСС, ИГЛА-МЕМ және ДМЕМ қоректік орталарда ВНК 21/с13 торшаларының өсуі анықталды, соның ішінде ДМЕМ қоректік ортасында торшалардың ең қарқынды өсуі байқалатынын көрсетті.

Эксперименттердің келесі сериясында өсу ортасын өзгертпестен суспензия жағдайында ВНК 21/с13 торшаларын ұзақ уақыт өсіру мүмкіндігі зерттелді. Суспензиядағы торшалардың көбеюі бастапқы суспензиядағы торшалардың концентрациясына, аэрацияға, pH ортасына, қоректік ортаның құрамына, араластыру әдісіне, суспензия көлеміне және басқа факторларға байланысты.

Осыған байланысты біз ВНК 21/с13 жүйесінің торшаларын өсіру бойынша тәжірибелер жүргіздік. Тәжірибе торшалардың шоғырлануы 1,2 млн кл/см^3, 20 % немесе 5,8 л толтыру арқылы көлемі 30 литрлік “Биотрон” биореакторында жүргізілді. Осы тәжірибелердің нәтижелері 1 кестеде келтірілген.

1 кесте – ВНК 21/с13 торша өсінділерін суспензия жағдайында ұзақ өсіру мүмкіндігін анықтау

Өсіру ұзақтығы, тәулік	Сутегі иондарының құрамы, pH	Өсіру температурасы, °С	Араластыру жылдамдығы, айн/мин	Торшалардың саны, млн/см^3
1	7,4	37±0,5	102	1,2
2	7,4	37±0,5	101	3,1
3	7,2	37±0,5	100	8,9
4	7,2	37±0,5	100	12,9
5	7,2	37±0,5	100	18,9
6	7,2	37±0,5	100	20,2
7	7,4	37±0,5	102	17,2
8	7,4	37±0,5	100	12,6

Алынған деректерді талқылау. 8 тәулік ішінде (бақылау мерзімі) өсу ортасын жаңа қоректік ортаға ауыстырмай ВНК 21/с13 торшалар жүйесін өсіруге болатындығын көрсетті, торшалардың ең көп жинақталуы 6 тәулікте, pH ортасы 7,2, өсірі температурасы (37 ± 0,5) °С және араластыру жылдамдығы 100 айн/мин-да 20 млн кл/см^3-дан астам байқалды. Әрі қарай өсіру кезінде торшаларға теріс әсер ететін метаболикалық өнімдердің шамадан тыс жиналуына байланысты торша мөлшері күрт төмендейді.

Қорытынды. Осылайша, жүргізілген зерттеулер нәтижесінде біз ВНК 21/с13 торшаларын суспензиялық өсіру үшін оңтайлы параметрлерін анықтадық. Біздің зерттеулерімізде жасушалардың максималды өсуі 6-шы тәулігінде байқалды, одан әрі инкубациялау үшін өсу ортасын өзгерту керек болып табылды. Жүргізілген зерттеулердің нәтижелері диагностикалық және профилактикалық препараттарды әзірлеу кезінде жасушалар мен вирустың аз уақытта кең ауқымды түрде өсіру үшін пайдаланылатын болады.

ӘДЕБИЕТ

1 Подготовка клеточных культур к электронно-микроскопическому исследованию: методическое пособие / Новосиб. гос. ун-т. Новосибирск, 2011. – 4 с.
2 Гаврилов В.И. Перевиваемые клетки в вирусологии / В.И. Гаврилов. – М.: Медицина, 1964. – 267 с.
3 Capozzo A.V.E., Periolo O.H., Robiolo B., et al. Total and isotope humoral in cattle vaccinayed with foot and mouth disease virus (FMDV) immunogen produced either in bovine tongue tissue or in BHK-21 cell suspension cultures // Vaccine. – 1997. – Vol. 15., No. 6/7. – P. 624-630.
4 Актуальные вопросы ветеринарной вирусологии // Материалы III Всесоюзной ветеринарной вирусологической конференции 23-25 января 1968 г.
5 Animal tissue culture advances in technique. Edited by Gerald D. Wasley – London Butterworhs. – 1972. – P.192.
6 С.Дж. Перт Основы культивирования микроорганизмов и клеток. – Москва: Мир, 1978. – 235 с.
7 Сергеев В.А. Размножение вирусов животных в культуре ткани. – М., Колос, 1966. – 311 с.
8 Кислых В.И., Рамазанов Ю.А., Майстренко В.Ф., Мертвецов Н.П. // Вихревой биореактор «БИОК». I. Опыт культивирования штамма E.coli BL21 (DE3) pZZSA, продуцирующего рекомбинантный ангионин человека // Журнал Биотехнология. – 2000. – №4. – С. 72-79.
9 Елисеев А.К., Зенов Н.И., Красуткин С.Н., Мельник Н.В., Хайкина Л.С., Литенкова И.Ю., Ельников В.В., Крюкова Е.Н. Внк-21/13-13-перевиваемая монослойно-суспензионная сублиния клеток почки новорожденного сирийского хомячка, предназначенная для репродукции вируса ящура и вируса бешенства // Unified depository of intellectual activity results // 20.06.20015. – №216.013.5606.
10 ВНК21/13 – сублиния перевиваемых клеток почки новорожденного сирийского хомячка, получена в НИИС / С.Г. Юрков, В.В. Зуев и др. «Каталог коллекции клеточных культур ВНИИВВиМ» – Покров, 2000. – С. 1-6.

БИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ И БИОЗАЩИТА

УДК 631.14:616.9:614.8

А. Уланкызы, Д.Р. Таболдиев, С.С. Килибаев, Н.Т. Амирханова, А.Е. Джалдыбаева, М.Б. Тургын

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

КАЧЕСТВО ПРИЛЕГАНИЯ И ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ ПОДБОР РЕСПИРАТОРОВ КАК КЛЮЧЕВЫЕ ФАКТОРЫ ЭФФЕКТИВНОСТИ СРЕДСТВА ИНДИВИДУАЛЬНОЙ ЗАЩИТЫ ОРГАНОВ ДЫХАНИЯ

Аннотация. В данной статье приведены примеры внутрилабораторного заражения, при которых не соблюдены требования биобезопасности, а именно правильного подбора и использования респираторов в научно-исследовательских лабораториях. Принимая во внимание высокий риск заражения аэрогенным путем, рекомендуется в научно-исследовательских лабораториях, работающих с патогенами I-IV группы, разработать и внедрить программу по защите органов дыхания с использованием Fit-Test.

Ключевые слова: биологический риск, биологическая безопасность, аэрогенный путь заражения, респиратор, Fit-Test.

А. Ұланқызы, Д.Р. Таболдиев, С.С. Килибаев, Н.Т. Амирханова, А.Е. Джалдыбаева, М.Б. Тургын

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

ТЫНЫС АЛУ ОРГАНДАРЫН ҚОРҒАУ ҚҰРАЛДАРЫ ТИІМДІЛІГІНІҢ НЕГІЗГІ ФАКТОРЛАРЫ РЕТІНДЕ РЕСПИРАТОРЛАРДЫ БЕТТІҢ ФОРМАСЫНА САЙ САПАЛЫ КИЮ ЖӘНЕ ТАҢДАУ

Аннотация. Бұл мақалада зертхана жағдайында биологиялық қауіпсіздік талаптары сақталмағанда, атап айтқанда, зардапты микроорганизмдермен тікелей жұмыс істейтін зертханаларда респираторларды дұрыс таңдамау және қолданбау салдарынан

адамдардың инфекцияны жұқтырудың мысалдары келтірілген. Осыған байланысты инфекцияның аэрогенді жолдармен жұғудың жоғары қаупін ескере отырып, I-IV топтардың қоздырғыштарымен жұмыс істейтін ғылыми-зерттеу зертханаларға Fit-Test қолданып, тыныс алу органдарын қорғау бағдарламасын жасау және енгізу ұсынылады.

Түйін сөздер: биологиялық қауіп-қатер, биологиялық қауіпсіздік, аэрогенді жұғу жолы, респиратор, Fit-Test.

A. Ulankyzy, D. Taboldiyev, S. Kilibayev, N. Amirkhanova,
A. Dzhaldybayeva, M. Turgyn

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

FIT QUALITY AND INDIVIDUAL SELECTION OF RESPIRATORS AS KEY FACTORS OF THE EFFICIENCY OF THE PERSONAL RESPIRATORY PROTECTION

Abstract. This article provides examples of intra-laboratory infection in which biosafety requirements are not met, namely, the correct selection and use of respirators in research laboratories. Taking into account the high risk of airborne route infection, it is recommended in research laboratories working with pathogens of group's I-IV to develop and implement a respiratory protection program using Fit-Test.

Key words: biorisk, biosafety, aerogenic route of infection, respirator, Fit-Test.

Введение. Особо опасные инфекции продолжают оставаться угрозой здоровью населения и экономике государств. Инфекции не имеет границ, поэтому чтобы вовремя предотвратить вспышки, эпидемии и пандемии особо опасных инфекций, возникающие естественными и преднамеренным путями необходимо соблюдать международные правила по запрету на создание и использование биологического оружия и национальные правила по биобезопасности и биозащиты при расследовании случаев, подозрительных на особо опасные инфекции у людей и животных, лабораторной работе с особо опасными патогенами и проведении полевых исследований в природных очагах. Необходимо не только внедрять современные технологические средства как лабораторное оборудование, средства индивидуальной защиты и дезинфектанты, но и проводить тренинги медицинских и лабораторных работников, работников эпидемиологической службы и ветеринарного контроля для надлежащего контроля за особо опасными инфекциями. По статистике известно 5,346 случая внутрилабораторного заражения при работе с возбудителями инфекционных болезней, произошедших между 1930 и 2001 гг., из них 190 случая закончились смертельным исходом [1].

За последние 20 лет наблюдалась тенденция к снижению количества случаев внутрилабораторных инфекций (ВЛИ) благодаря положительным сдвигам в области биобезопасности и обучении современным принципам биобезопасности [2].

Однако случаи ВЛИ продолжают отмечаться до сих пор, но точные данные об их реальном количестве отсутствуют. Таким образом, следует понимать, что работающие с патогенами подвержены риску заражения, однако сделать выводы о степени риска затруднительно, поскольку отчеты о заражениях неполны, а число людей, подвергшихся риску, не указывается. Но возможность бактериального или вирусного заражения в лабораторных

условиях очевидна, и это требует соблюдения мер предосторожности при обращении с любыми биологическими агентами независимо от того, «патогенны» они или нет [3].

Исследования инфекционных болезней всегда были опасны и иногда заканчивались трагически. Примеры ВЛИ:

• Вспышка внутрилабораторной инфекции SARS в марте-апреле 2004 года возникла в Пекине и провинции Анхуи, КНР. Причиной вспышки явилась неудавшаяся или незавершенная инактивация вируса SARS-CoV (холодная инактивация) [4];

• Вспышка ящура в Англии, 3 августа 2007 года. В деревне на юго-западе от Лондона возникла вспышка болезни ящур у коров. Далее вирус ящура распространился на еще несколько деревень графства Суррей. Причиной вспышки явилась течь в канализации от здания, в котором производили инактивированную вакцину против ящура (компания «Мюриел»). После этого почва с вирусом была разнесена колесами грузовиков по окрестным деревням. Ущерб – несколько десятков миллионов фунтов стерлингов и запрет на экспорт мясопродуктов из Великобритании на несколько месяцев [5];

• 5 случаев вируса коровьей оспы в научно- исследовательских лабораториях, 2005-2007 гг., США. Разбрызгивание из шприца при осуществлении инъекции мышам [6];

• 2 случая бруцеллеза в клинических лабораториях, 2006 г., США. Пересев на открытом рабочем столе [7];

• 1 случай менингококкового менингита в научно-исследовательской лаборатории, 2006 г., Швеция. Работа на открытом рабочем столе, не вакцинированный сотрудник [8];

• 1 случай менингококкового менингита в научно-исследовательской лаборатории в США, Калифорния, 2012 г. Смерть в течение 2 суток после появления симптомов. Источник не выявлен [9].

Из этих данных следует понимать, что основная часть несчастных случаев происходит из-за неаккуратности исследователей, нарушающих требования биобезопасности и технику безопасности: проколы зараженными иглами, порезы при вскрытии лабораторных животных и наиболее распространенной причиной заражения инфекциями в лаборатории является вдыхание – аэрозолей, содержащих вирусов [10].

Принимая во внимание, что есть высокий риск внутрилабораторного заражения аэрогенным путем при работе с патогенами в научно-исследовательских лабораториях необходимо иметь программу по защите органов дыхания (ПЗОД). Одной из основных элементов ПЗОД является использование респираторов для индивидуальной защиты органов дыхания.

Наиболее распространенный вид респираторов для индивидуальной защиты органов дыхания – фильтрующие респираторы [11].

В соответствии с требованиями ГОСТ 12.4.294-2015 [12], максимальная проницаемость фильтрующего материала респираторов, в зависимости от класса защиты составляет:

- FFP1 – низкая эффективность;
- FFP2 – средняя эффективность;
- FFP3 – высокая эффективность.

То есть, фильтр, использующийся в составе респиратора класса FFP3, очищает вдыхаемый окружающий воздух как минимум на 99%. Респираторы такого класса защиты имеют в составе фильтрующий материал наибольшей толщины и плотности, за счет чего достигается максимальная степень фильтрации частиц аэрозоля.

Однако недостаточное прилегание респиратора к лицу, в свою очередь, может привести к тому, что расстояние между поверхностью респиратора и лицом рабочего в процессе может достигать доли миллиметров. Эти зазоры могут возникать из-за сползания респиратора во время работы, неправильного одевания или подбора респиратора. В

образовавшийся зазор будет поступать абсолютно неочищенный воздух. Такой подход не позволяет обеспечить полноценную защиту работника от воздействия вредных аэрозолей.

Выбор и использование респиратора регулируются национальным законодательством многих стран. Эти требования включают испытание маски отрицательного давления для каждого отдельного пользователя. Существуют методы качественного и количественного тестирования. Подробные описания приведены в стандарте США, разработанном Управлением по охране труда и здоровья (OSHA). Этот стандарт регулирует выбор и организацию респиратора. Соблюдение этого стандарта является обязательным для работодателей многих стран [13, 14].

Согласно требованиям обеспечения биологической безопасности и охраны труда, для создания условий приемлемого риска в Научно-исследовательском институте проблем биологической безопасности (НИИПББ), при работе с биологическими агентами (ПБА) II-IV группы патогенности, проводится качественный тест на плотность прилегания респиратора при использовании фильтрующих респираторов.

Выбор класса респираторов определяют после оценки биологического риска и проведения качественного теста на плотность прилегания респиратора и замена на другой вид не допускается.

Качественный тест на плотность прилегания респиратора (Fit-Test) проводится один раз в год и для вновь принятых сотрудников. Дополнительные тестирования проводятся при изменениях физических параметров лица, смене типа или размера респиратора.

Fit-Test проводится в соответствии со стандартом США 29 CFR 1910.134 [15], для того, чтобы подобрать индивидуальный респиратор для каждого сотрудника. Для Fit-Test [16] используют субъективную реакцию органов чувств рабочего на проникание контрольного вещества, имеющего сладкий либо горький вкус. Данный тест очень прост в использовании, в меру информативен и позволяет быстро оценить проверку правильности одевания респиратора. Перед проведением Fit-Test проводится определение чувствительности испытуемого, чтобы оценить его порог вкусовой чувствительности к сладкому или горькому. Этот этап проводится без одетого респиратора, путем распыления под капюшон аэрозоля раствора для определения чувствительности («слабого» раствора). Испытуемый дышит с приоткрытым ртом со слегка вытянутым языком. Испытуемый сообщает, когда он(а) почувствует горький или сладкий вкус.

После проведения теста на чувствительность, испытуемый одевает наиболее подходящий респиратор и проводится Fit-Test. В зависимости от количества нажатий груши небулайзера при проведении теста на чувствительность, для проведения Fit-Test используется то же количество нажатий небулайзера с тестовым раствором (более концентрированным), а затем повторяется половинное количество нажатий каждые 30 секунд, создавая постоянную концентрацию тестового аэрозоля под капюшоном. Fit-Test включает следующие последовательные упражнения длительностью одна минута каждое, при одетом респираторе и в тестовом капюшоне (в положении стоя):

- Нормальное дыхание
- Глубокое дыхание
- Поворот головы в стороны
- Движения головы вверх и вниз
- Разговор
- Ходьба или бег трусцой

Испытуемый сообщает, если во время теста он(а) почувствует горький или сладкий вкус во рту. Если испытуемый не сообщает о появлении такого вкуса во рту, то тест считается успешно пройденным. Если появляется соответствующий вкус во рту, Fit-Test считается не

пройденным (неуспешным). Далеко не все проходят успешно FitTest на многих моделях респираторов, даже если производитель утверждает, что его модель может подойти по размеру каждому. Если испытуемый не прошел Fit-Test на конкретной модели, тест повторяется на другой модели или размере респиратора, пока не будет найден плотно прилегающий респиратор для этого сотрудника. После того, как на основании Fit-Test подобрана модель и размер, результаты тестирования документируются. НИИПББ обеспечивает сотрудников респираторами протестированных моделей с учетом данных из протоколов проведенных ранее Fit-Test.

Законодательство Республики Казахстан предусматривает лишь нормы выдачи СИЗОД работникам, занятым во вредных условиях труда. Требования к защитным свойствам СИЗОД разных конструкций при их сертификации в лабораторных условиях (после неторопливого и аккуратного одевания маски – что не всегда бывает в производственных условиях) часто не имеют ничего общего с коэффициентами защиты в производственных условиях. Требования к СИЗОД в лаборатории (регламентируемые ГОСТами) предназначены исключительно для выявления низкокачественной продукции, и недопущения её попадания в продажу [12].

Для индивидуального подбора респираторов Национальный Институт Охраны Труда США разработал программу респираторной защиты – «Руководство по выбору респираторов». Индивидуальный подбор респиратора предполагает выбор респиратора в зависимости от потенциального воздействия вредных веществ, которое может произойти, характере работы и условиях её выполнения, и учитывать индивидуальные особенности сотрудников, в том числе и проверку прилегания СИЗОД [15].

Внедрение и реализация данной программы позволяет обеспечить качественную и полную защиту органов дыхания всех сотрудников организации, которые могут подвергаться воздействию аэрозолей.

Заключение. Если сертифицированный на соответствие ГОСТ респиратор имеет класс эффективности FFP3, это не всегда означает, что данное СИЗОД эффективно будет защищать работника. Для более эффективной защиты работника, необходимо разработать и внедрить ПЗОД в организациях с использованием Fit-Test.

ЛИТЕРАТУРА

1 Fleming DO, Hunt DL. Биологическая безопасность: принципы и практика. 3-е изд. Вашингтон, округ Колумбия: ASM Press; 2000:35-54. Одна из глав: Harding AL, Byers KB. Эпидемиология внутрилабораторных инфекций.
2 Всемирная организация здравоохранения «Биобезопасность: комплексный подход к управлению с учетом рисков для жизни и здоровья людей, животных и растений» Информационная записка ИНФОСАН No. 1/2010-Биобезопасность.
3 Laboratory-Acquired Infections and Biosafety of High Pathogenic Risk-Group 3 Bacteria. DOI: 10.6525/TEB.202012_36 (23).0001. Shu-Ying Li, Yu-Chen Chen.
4 Georgia G. Pitsiou, Ioannis P. Kioumis. Severe acute respiratory syndrome (SARS) // BMJ Best Practices. – BMJ Publishing Group. – 2020.
5 Вспышка ящура в Соединенном Королевстве в 2007 г. – 2007 United Kingdom foot-and-mouth outbreak Вспышка ящура в Соединенном Королевстве в 2007 году. https://ru.qaz.wiki/wiki/2007_United_Kingdom_foot-and-mouth_outbreak
6 Сайт ВОЗ Архивная копия от 21 сентября 2007 на Wayback Machine.
7 https://web.archive.org/web/20070205105419/http://www.hpa.org.uk/infections/topics_az/zoonoses/brucellosis/gen_info.htm
8 Bailey L., Harnden A., Levin M., Mant D., Mayon-White R., Ninis N., Perera R., Phillips C., Thompson M. Clinical recognition of meningococcal disease in children andadolescents // Lancet. – 2006. – №2. – P. 397-403.

9 Costa M.L., Souza J.P., Oliveira Neto A.F., Pinto E Silva J.L.meningococcal meningit is in a research laboratory in the USA, California. – 2012
10 Huang S.H., Chen C.W., Kuo Y.M., Lai C.Y., McKay R., Chen C.C..: Factors Affecting Filter Penetration and Quality Factor of Particulate Respirators, Aerosol and Air Quality Research. – 2013. – 13. – P. 162-171.
11 Vasin S.M., Shutov V.S. [Risk management at facility: hand-book]. – M., 2010. – 304 p.
12 ГОСТ 12.4.294-2015 (EN 149:2001+A1:2009). – Система стандартов безопасности труда (ССБТ). Средства индивидуальной защиты органов дыхания. Полумаски фильтрующие для защиты от аэрозолей. Общие технические условия.
13 Руководство Национального института охраны труда США по выбору респираторов
14 Тест на подгонку респиратора. https://ru.qaz.wiki/wiki/Respirator_fit_test
15 Стандарт США 29 CFR 1910.134 «Respiratory protection»
16 Руководство по использованию качественного теста 3M на плотность прилегания

МОЛЕКУЛЯРНАЯ БИОЛОГИЯ И ГЕННАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

УДК 579.222:577.112, 602.44:543.544.17:577.112

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

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

ПОЛУЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА РЕКОМБИНАНТНОГО БЕЛКА OMP19 BRUCELLA SPP

Аннотация. Бруцеллез является одной из самых распространенных зоонозных инфекций, вызываемой грамотрицательной бактерией. В связи с тем, что, эпизоотологическая ситуация по бруцеллезу в Казахстане является нестабильной, конструирование новых профилактических и диагностических средств против бруцеллеза остается одной из актуальных задач. Применение протективных антигенных белков является одним из перспективных направлений в разработке профилактических и диагностических средств при бруцеллезе. Технология получения рекомбинантных белков создает новые перспективы получения современных средств и препаратов.

Целью данных исследований являлось получение рекомбинантного белка Omp19 *Brucella spp*. в *E.coli*. В результате нами была создана генетическая конструкция для экспрессии белка Omp19. Полученная конструкция была секвенирована для подтверждения наличия вставки и ее корректности. Далее была проведена экспрессия и очистка рекомбинантного белка Omp19. Специфичность белка была подтверждена в вестерн блоте. Установлено, что при иммунизации рекомбинантным белком Omp19 в организме мышей вырабатываются антитела. Полученный рекомбинантный белок Omp19, и специфическая сыворотка к нему будут использованы при разработке профилактических препаратов против бруцеллеза животных.

Ключевые слова: бруцеллез, конструирование, экспрессия, рекомбинантный белок, очистка.

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

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

OMP19 РЕКОМБИНАНТТЫ АҚУЫЗЫН АЛУ ЖӘНЕ ОНЫҢ СИППАТТАМАЛАРЫ

Аннотация. Бруцеллез – грамтеріс бактериялар тудыратын ең көп кездесетін зоонозды инфекциялардың бірі. Қазақстанда бруцеллез бойынша індеттанулық жағдай тұрақсыз болғандықтан, бруцеллезге қарсы жаңа профилактикалық және диагностикалық құралдарды құру шұғыл міндеттердің бірі болып келеді. Қорғаныш антигенді ақуыздарды қолдану бруцеллезге қарсы профилактикалық және диагностикалық құралдарды дамытудың перспективалы бағыттарының бірі болып табылады. Рекомбинантты ақуыздарды өндіру технологиясы заманауи құралдар мен дәрі-дәрмектер алудың жаңа перспективаларын тудырады.

Бұл зерттеулердің мақсаты *E.coli* жасушасында *Brucella spp* Omp19 рекомбинантты ақуызын алу болды. Нәтижесінде Omp19 ақуызын экспрессиялау үшін генетикалық құрылым құрдық. Алынған құрылымда кірістірудің бар-жоқтығын және оның дұрыстығын растау үшін тізбектелді. Әрі қарай Omp19 рекомбинантты ақуызын экспрессиялау және тазарту жүргізілді. Ақуыздың ерекшелігі вестерн блот арқылы расталды. Omp19 рекомбинантты ақуызымен иммунизация кезінде тышқандарда антиденелер пайда болғаны анықталды. Алынған Omp19 рекомбинантты ақуызы және оған тән сарысу жануарлардағы бруцеллезге қарсы профилактикалық препараттар жасауда қолданылады.

Түйін сөздер: бруцеллез, құру, экспрессия, рекомбинантты ақуыз, тазалау.

A.K. Abubakirova, E.T. Tailakova, S.O. Sadikalieva, G.O. Shynybekova, A.U. Isabek, K.T. Sultankulova, O.V. Chervyakova

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

CONSTRUCTION, EXPRESSION, PURIFICATION AND ANTIGENICITY OF RECOMBINANT OUTER MEMBRANE PROTEIN OMP19 BRUCELLA SPP

Abstract. Brucellosis is one of the most common zoonotic infections caused by a gram-negative bacterium. Due to the fact that the epizootological situation of brucellosis in Kazakhstan is unstable, the design of new prophylactic and diagnostic agents against brucellosis remains one of the relevant ones. The use of protective antigenic proteins is one of the promising directions in the development of prophylactic agents for brucellosis.

The purpose of these studies was to obtain the recombinant protein Omp19 Brucella spp. by bacterial expression in *E. coli*. As a result of our studies, we created a genetic construct for the expression of Omp19 protein in *E. coli* cells. The resulting construct was sequenced to confirm the presence of the insert and its correctness. Further, the expression and purification of the recombinant Omp19 protein was carried out. The specificity of the protein was confirmed in a Western blot. It was found that, when immunized with recombinant Omp19

protein, antibodies are produced in the body of mice. The resulting recombinant protein Omp19 and its specific serum will be used in the development of prophylactic drugs against animal brucellosis.

Key words: brucellosis, design, expression, recombinant protein, purification.

Введение. Бруцеллез, как один из самых распространенных зоонозов в мире, является особо опасной инфекцией, приносящий значительный экономический ущерб животноводству [1].

К бруцеллезу восприимчивы различные виды теплокровных животных, в том числе и дикие животные. Из сельскохозяйственных животных наиболее восприимчивыми являются крупнорогатый скот, козы, овцы, верблюды, свиньи и т.д. [2].

Бруцеллез представляет собой мировую проблему, как для медицины, так и для сельского хозяйства. Принимаемые в настоящее время меры борьбы с данной инфекцией не дают ожидаемого результата. Бруцеллез продолжает ежегодно регистрироваться в республике и повторно возникает в ранее оздоровленных пунктах [3]. В Республике Казахстан заболеваемость сельскохозяйственных животных (единственного источника заражения человека) и населения остается одной из самых высоких в странах СНГ после Киргизии [4]. Несмотря на то, что бруцеллы инфицируют человека как вторичного хозяина, ежегодно в мире регистрируется более 500 тысяч новых случаев заражения человека бруцеллезом [5].

Опасность для человека представляют не только больные животные, но и пищевые продукты, и сырье получаемые от них, особенно сырое молоко.

Так как бруцеллез представляет из себя особо опасную болезнь, создание безопасной и эффективной вакцины является одной из важных задач среди ветеринарной и медицинской науки. В настоящее время рекомбинантные белки широко используются в качестве потенциальных компонентов для создания средств профилактики и диагностики против большинства зоонозных заболеваний животных [5-8].

На сегодняшний день известно более десяти защитных антигенов *Brucella spp* [9-14]. Установлено, что эти антигены бруцелл, в организме животных вызывают как гуморальный, так и клеточный иммунный ответ. Находясь в поисках новых вакцин-мишеней мы сосредоточились на белке наружной мембраны (Omp) *B.abortus*, Omp19. Благодаря молекулярному клонированию и секвенированию было установлено, что эти Omp имеют структурные особенности бактериальных липопротеинов. Также сообщалось, что эти липопротеины присутствуют во всех шести видах бруцелл [15, 16]. Они определяют не только родовую, но и видовую специфичность бруцелл [17-20].

Целью данной работы является получение рекомбинантного белка Omp19 *Brucella spp*. в *E.coli*.

Материалы и методы исследований. *Конструирование экспрессирующего вектора и создание штамма-продуцента E. coli*

Нуклеотидную последовательность, кодирующую рекомбинантный белок Omp19, амплифицировали с геномной ДНК *B. abortus*, штамм 19S, полученный из лаборатории «Коллекции микроорганизмов» научно-исследовательского института проблем биологической безопасности, с использованием праймеров (FP-Omp19-5'–CGCATATGGGAATTTC AAAAGCAAGTCT–3', RP-Omp19-5'–CGCTCGAGGCGCGACAGCGTCACGGCCT–3') и клонировали в экспрессирующий вектор pET28 (Novagen) по сайтам XhoI и NdeI. Бактериальную ДНК выделяли с использованием набора PrepMan Ultra (Applied Biosystems). Амплификацию проводили в объеме 50 мкл, содержащих 5 мкл 10х ПЦР буфера (Qiagen), 1 мкл 10 мМ dNTPs (NEB), 0.1 мкл ДНК, 1 мкл каждого праймера (20 pmol/мкл), 0.5 мкл Taq DNA

полимеразы (2.5 units, Qiagen). Условия амплификации: 94 ºС 5 мин; затем 30 циклов 94 ºС, 1 мин; 50 ºС, 1 мин; 72 ºС, 2 мин и 1 цикл 72 ºС, 7 мин [9]. Рекомбинантная плазмида была секвенирована для подтверждения наличия вставки и ее корректности. Полученный рекомбинантный вектор pET28/Bru-Omp19 трансформировали в компетентные клетки *E. coli* штамм T7.

Экспрессия и очистка рекомбинантного белка

Клетки *E. coli*, штамм T7, трансформированные вектором pET28/Bru-Omp19 выращивали в среде LB-кан50 (содержание канамицина 50 мкг/мл) при 37 °С на шейкере (250 об/мин) до OD_{600}=0,6-1. Экспрессию индуцировали добавлением в среду культивирования ИПТГ до конечной концентрации от 0,1 до 1,5 мМ с шагом в 0,5 и продолжали инкубирование при 37 °С в течении 4 часов или при 25 °С в течении 18 часов. Клетки собирали центрифугированием и хранили при минус 70 °С до использования.

Для очистки рекомбинантного белка осадок клеток ресуспендировали в буфере (100 мМ Трис HCl pH 8.0, 150 мМ NaCl, 1 % тритон X-100, 1 % ДОХ) из расчета 15 мл на 1 г сырого клеточного осадка. К полученной суспензии добавляли лизоцим до конечной концентрации 1 мг/мл. Лизис клеток осуществляли путем двукратного замораживания (минус 70 ºС) – оттаивания (37 ºС) суспензии. Фракцию растворимого белка получали центрифугированием лизата клеток при 15000×g в течение 15 мин [21]. Очистку белка проводили методом металло-аффинной хроматографии с использованием HisPur™ Cobalt Superflow Agarose (Thermo Scientific, США) в нативных условиях согласно протоколу производителя. Далее проводили рефолдинг очищенного рекомбинантного белка используя диализные мешки против 10 объемов буфера (20 мМ ФБР, 300 мМ NaCl, pH 7,4) в течение ночи при 4 °С.

Электрофоретический анализ полипептидов проводили в 12% ДСН-ПААГ в денатурирующих редуцирующих условиях по Laemmli [22]. Для визуализации белков использовали окрашивание Coomassie. По интенсивности окрашивания белковых полос определяли чистоту целевого белка.

Определение растворимости рекомбинантного белка

Растворимость рекомбинантного белка определяли с использованием реагента B-PER® Bacterial Protein Extraction Reagent (Thermo Scientific, США) согласно инструкции производителя.

Иммунизация мышей

В исследовании использовали беспородных белых мышей (самки, 6-8 недель, масса 18-20 г). Очищенный белок соединяли с адъювантом Montanide Gel 01 (SEPPIC) в соотношении 9:1 (об./об.). Конечная концентрация белка составила 180 мкг/мл. Иммунизацию проводили подкожно трехкратно в дозе 25 мкг белка.

Забор крови проводили из хвостовой вены. Сыворотки тестировали в ИФА на наличие антител. Период наблюдения – 36 дней.

Иммуноферментный анализ

Для постановки ИФА 96-луночные планшеты сенсибилизировали рекомбинантным белком Omp19. В каждую лунку планшета вносили по 100 мкл карбонат-бикарбонатного буфера, содержащего 2 мкг/мл рекомбинантного белка Omp19. Планшеты инкубировали в течение ночи при 4 °С. Затем планшеты трехкратно отмывали буфером TBST (150 мМ NaCl, 20 мМ трис-HCl, pH 7,5, 0,1 % Твин-20) и блокировали, внося в каждую лунку по 100 мкл блокирующего буфера (150 мМ NaCl, 20 мМ трис-HCl, pH 7,5, 5 % обезжиренное сухое молоко). Двукратные разведения исследуемых сывороток вносили по 100 мкл в лунки планшета, инкубировали в течение 1 ч при 37 °С. После трехкратной отмывки в лунки планшета вносили конъюгат антимышиных IgG с щелочной фосфатазой (Sigma, США) в разведении 1:5000 и инкубировали в течение 1 ч при 37 °С Планшеты отмывали трехкратно и вносили по 100 мкл субстрата для щелочной фосфатазы (pNPP) (Sigma, США),

инкубировали 30 мин. Оптическую плотность (ОП) измеряли с использованием микропланшетного ридера ImmunoChem-2100 (HTI, США) при длине волны 405/630 нм. Титром считали наибольшее разведение сыворотки, в которой оптическая плотность специфической сыворотки в два и более раз превышала таковую нормальной сыворотки [9].

Основные результаты исследований. *Конструирование плазмидных векторов для бактериальной экспрессии антигенного белка бруцеллы Omp19*. На первом этапе исследований были амплифицированы нуклеотидные последовательности генов, кодирующих иммуногенный белок бруцеллы Omp19.

ПЦР-продукт гена Omp19 был клонирован в pGEM-T вектор. По три клона каждой конструкции были отсеквенированы и корректные последовательности были переклонированы в экспрессирующий вектор pET под контроль промотора фага T7 по сайтам рестрикции NdeI и XhoI. Контрольное определение нуклеотидных последовательностей было также проведено и для рекомбинантных экспрессирующих плазмид pET. На основании анализа нуклеотидных последовательностей с использованием программы Vector NTI 10.0.1 была предсказана аминокислотная последовательность рекомбинантного белка и его характеристика (рисунок 1). Выравнивание предсказанных аминокислотных последовательностей в программе BLAST (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) показало 100% идентичность с последовательностью соответствующего белка, представленного в GenBank.

Обсуждение полученных данных. Таким образом, получена конструкция для экспрессии рекомбинантного белка бруцеллы Omp19. Рекомбинантный белок имеет на N– и C–концах полигистидиновую последовательность (рисунок 1), которая позволит в дальнейшем проводить очистку белка методом аффинной хроматографии на Ni-NTA-агарозе.

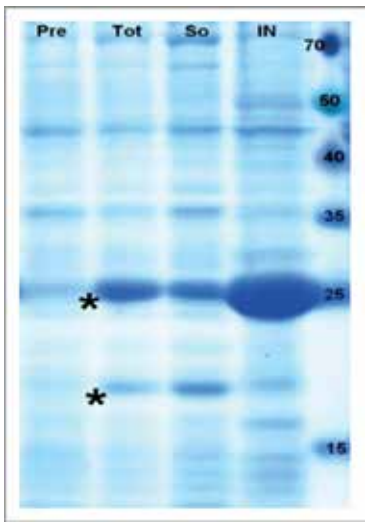
Analysis	Entire Protein
Length	206 aa
Molecular Weight	20941.89
1 microgram =	47.751 pMoles
Molar Extinction coefficient	16860
1 A[280] corr. to	1.24 mg/ml
A[280] of 1 mg/ml	0.81 AU
Isoelectric Point	8.92
Charge at pH 7	3.87

```
  1  MGSSHHHHHH SSGLVPRGSH MGISKASLLS LAAAGIVLAG CQSSRLGNLD
 51  NVSPPPPPAP VNAVPAGTVQ KGNLDSPTQF PNAPSTDMSA QSGTQVASLP
101  PASAPDLTPG AVAGVWNASL GGQSCKIATP QTKYGQGYRA GPLRCPGELA
151  NLASWAVNGK QLVLYDANGG TVASLYSSGQ GRFDGQTTGG QAVTLSRLEH
201  HHHHH*
```


Рисунок 1 – Предсказание и анализ аминокислотных последовательностей рекомбинантного белка Omp19

Экспрессия и очистка рекомбинантного белка. Никакой универсальной стратегий оптимизации экспрессии и очистки рекомбинантных белков не существует. Большинство белков имеют уникальные молекулярные свойства, и оптимальные условия экспрессии и очистки для каждого из них приходится подбирать всякий раз заново. В результате индукции экспрессии гена бруцелл нарабатывался белок Omp19 (рисунок 2, Pre, Tot). Молекулярный вес рекомбинантного белка соответствует расчетным значениям (рисунок 2). Следует отметить, что при индукции гена Omp19 нарабатывается белок с различным молекулярным весом. Образование более тяжелого белка вероятно связано с посттрансляционной модификацией белка. Не модифицированные белки находились в клетке во фракции растворимых белков, тогда как модифицированные – в виде включений. При

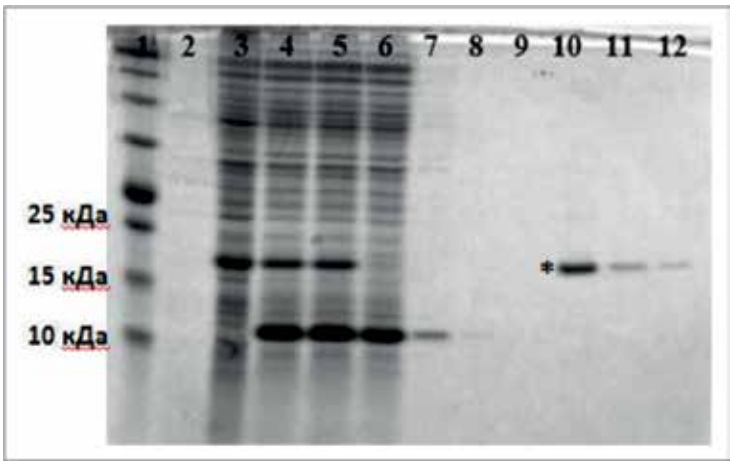
определении растворимости рекомбинантного белка с использованием реагента B-PER® установлено, что большая часть белка локализовано в тельцах включениях Omp19 (рисунок 2, So, IN).



Pre – клеточный лизат до индукции,
Tot – после индукции IPTG,
So – растворимые белки,
IN – включения

Рисунок 2 – Электрофоретический анализ белков клеточного лизата *E.coli* штамма T7, трансформированного плазмидами pOmp19

В процессе очистки получение лизата клеток с использованием модифицированного буфера (100 мМ Трис HCl pH 8.0, 150 мМ NaCl, 1% тритон X-100, 1% ДОХ) привело к полному переходу рекомбинантного белка Omp19 в растворимую форму. Исходя из этого очистку белка Omp19 проводили, используя HisPur™ Cobalt Superflow агарозу в нативных условиях (рисунок 3).



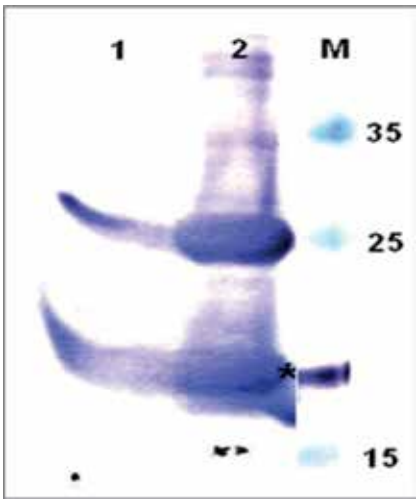
1 – маркер молекулярного веса;
2 – лизат клеток до индукции Omp19;
3 – лизат клеток после индукции Omp19;
4 – клеточный лизат после обработки лизоцимом;
5 – клеточный лизат после фильтрации через 0,22 мкм;
6 – фракция, прошедшая сквозь колонку с никель агарозой;
7-9 – фракции промывки;
10-12 – фракции очищенного белка Omp19

Рисунок 3 – Электрофоретический анализ белковых фракций в процессе очистки рекомбинантного белка Omp19

Как видно из рисунка 3, клеточный лизат полностью адсорбировался на агарозу (дорожка 6). Во время отмывки смолы потерь целевого белка не было отмечено (дорожки 7-9). Во фракциях элюции отсутствуют примеси клеточных белков (дорожки 10-12) что подтверждает высокую степень чистоты полученного препарата рекомбинантного белка. Выход рекомбинантного белка Omp19 составил 8 мг с 1 литра культуры.

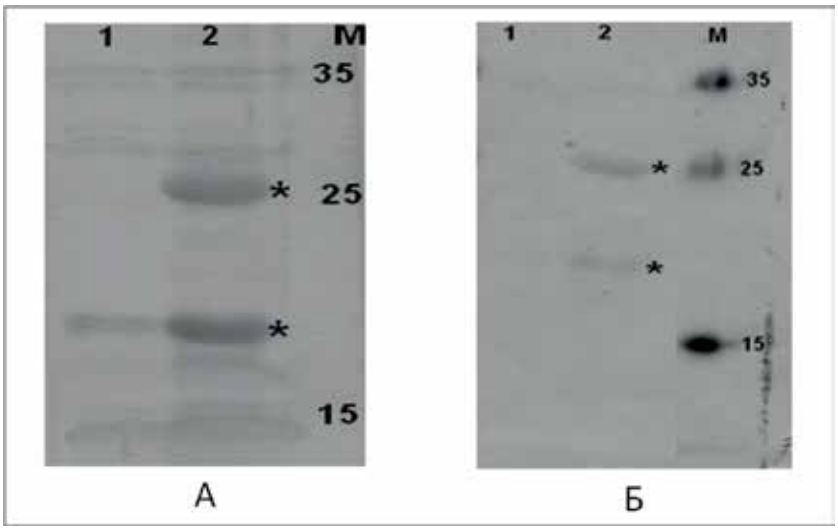
Иммунодетекция рекомбинантного белка.

Детекцию рекомбинантного белка проводили методом вестерн блоттинга с использованием антител к полигистидину и сывороток от больных животных (овцы и крупный рогатый скот). Результаты представлены на рисунках 4 и 5. Как видно на рисунке 4, антитела к полигистидину связывались с рекомбинантным белком. В сыворотках больных животных присутствовали антитела к белку Omp19 (рисунок 5).



1 – клеточный лизат до индукции,
2 – после индукции IPTG

Рисунок 4 – Иммуноблоттинг белка клеточного лизата *E.coli* штамма T7, трансформированного рекомбинантными плазмидами pET, с использованием сыворотки к полигистидину



А – сыворотка от больных бруцеллезом овец,
Б – сыворотка от крупного рогатого скота, больного бруцеллезом,
М – маркер молекулярного веса;
1 – клеточный лизат до индукции;
2 – клеточный лизат после индукции

Рисунок 5 – Иммуноблоттинг белка клеточного лизата *E.coli* штамма T7, трансформированного рекомбинантной плазмидой pET28/Bru-Omp19, с использованием сывороток от больных бруцеллезом животных

Далее сыворотки крови лабораторных мышей анализировали на наличие антител к целевому белку методом ИФА. В результате было установлено, что рекомбинантный белок Omp19 вызывает в организме животных выработку специфических антител с титром 1:320.

Заключение. В результате исследований нами была создана генетическая конструкция для экспрессии белка Omp19 в клетках *E.coli*. Проведена экспрессия и очистка рекомбинантного белка Omp19. Было установлено, что в результате использования

модифицированного буфера для лизиса клеток рекомбинантный белок полностью перешел в растворимую фракцию, что упростило процессы очистки и рефолдинга. При иммунизации рекомбинантным белком Omp19 в организме мышей вырабатываются антитела, детектируемые в иммуноферментном анализе. Также установлено, что титр антител в сыворотке крови в иммуноферментном анализе составляет 1:320. Полученный рекомбинантный белок Omp19 и специфическая сыворотка к нему будут использованы при разработке профилактических препаратов против бруцеллеза животных.

Источник финансирования. Исследования выполнены при поддержке Министерство образования и науки Республики Казахстан в рамках проекта AP 05133746 «Конструирование рекомбинантных каприпоксвирусов, экспрессирующих протективные антигены *Brucella spp.*, и изучение их иммунобиологических свойств» на 2018-2020 годы (№ ГР 0118РК01198).

ЛИТЕРАТУРА

1 Иванов Н.П. Инфекционные болезни животных. Общая эпизоотология. Болезни, общие для нескольких видов животных. – Алматы: Нур-Принт, 2013. – 1. – С. 584-586.
2 Ашетов И.К., Ешмухаметов А.Е., Ашетов И.Н. Мониторинг и анализ эпизоотической ситуации по бруцеллезу КРС в РК за 2007-2012 годы. – Алматы, 2012. – 1. – С. 79-86.
3 Еспембетов Б.А., Сырым Н.С., Зинина Н.Н. Анализ эпизоотической ситуации по бруцеллезу животных в Казахстане за 2013 год // Вестник Алтайского государственного университета. – 2015. – 4 (126). – С. 92-97.
4 Каирова Ж.К., Торемурат Ж.М. Получение рекомбинантного белка Omp19 Brucella abortus: материалы Республиканской научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения – 13: сохраняя традиции, создавая будущее», посвященная 60-летию Казахского агротехнического университета имени С. Сейфуллина. – Нур-Султан, 2017. –1 (6). – С. 178-180.
5 Heine H.G., Stevens M.P., Foord A.J., Boyle D.B. A capripoxvirus detection PCR and antibody ELISA based on the major antigen P32, the homolog of the vaccinia virus H3L gene // J. Immunol Methods. – 1999; – 227(1-2). – P. 187-196. doi:10.1016/s0022-1759(99)00072-1.
6 Bhanot V., Balamurugan V., Bhanuprakash V., et al. Expression of P32 protein of goatpox virus in Pichia pastoris and its potential use as a diagnostic antigen in ELISA // J. Virol Methods. – 2009. – 162 (1-2). – P. 251-257. doi:10.1016/j.jviromet.2009.08.020.
7 Fogg C., Lustig S., Whitbeck J.C., Eisenberg R.J., Cohen G.H., Moss B. Protective immunity to vaccinia virus induced by vaccination with multiple recombinant outer membrane proteins of intracellular and extracellular virions // J.Virol. – 2004. – 78 (19). – P. 10230-10237. doi:10.1128/JVI.78.19.10230-10237.2004.
8 Berhanu A., Wilson R.L., Kirkwood-Watts D.L. Vaccination of BALB/c mice with Escherichia coli-expressed vaccinia virus proteins A27L, B5R, and D8L protects mice from lethal vaccinia virus challenge // Journal of Virology. – 2008. – 82 (7). – P. 3517-3529. doi: 10.1128/jvi.01854-07.
9 Pasquevich K.A., Ibañez A.E., Coria L.M. An oral vaccine based on U-Omp19 induces protection against B. abortus mucosal challenge by inducing an adaptive IL-17 immune response in mice // PLoS One. – 2011. – 6 (1). – P. 16203. doi:10.1371/journal.pone.0016203.
10 Sáez D., Guzmán I., Andrews E., Cabrera A., Oñate A. Evaluation of Brucella abortus DNA and RNA vaccines expressing Cu-Zn superoxide dismutase (SOD) gene in cattle // Vet. Microbiol. – 2008. – 129 (3-4). – P. 396-403. doi:10.1016/j.vetmic.2007.11.015.
11 Commander N.J., Spencer S.A., Wren B.W., MacMillan A.P. The identification of two protective DNA vaccines from a panel of five plasmid constructs encoding Brucella melitensis 16M genes // Vaccine. – 2007. – 25 (1). – P. 43-54. DOI: 10.1016/j.vaccine.2006.07.046.
12 Cassataro J., Velikovsky C.A., Bruno L. Improved immunogenicity of a vaccination regimen combining a DNA vaccine encoding Brucella melitensis outer membrane protein 31 (Omp31) and recombinant Omp31 boosting // Clin. Vaccine Immunol. – 2007. – 14 (7). – P. 869-874. doi:10.1128/CVI.00472-06.

13 Pasquevich K.A., Estein S.M., García Samartino C. Immunization with recombinant Brucella species outer membrane protein Omp16 or Omp19 in adjuvant induces specific CD4+ and CD8+ T cells as well as systemic and oral protection against Brucella abortus infection // Infect Immun. – 2009. – 77 (4). – P. 1719. doi:10.1128/IAI.01151-08.
14 Yu D.H., Hu X.D., Cai H. A combined DNA vaccine encoding BCSP31, SOD, and L7/L12 confers high protection against Brucella abortus 2308 by inducing specific CTL responses // DNA Cell Biol. – 2007. – 26 (6). – P. 435-443. doi:10.1089/dna.2006.0552.
15 Tibor A., Decelle B., Letesson J.J. Outer membrane proteins Omp10, Omp16, and Omp19 of Brucella spp. are lipoproteins // Infect. Immun. – 1999. – 67 (9). – P. 4960-4962. doi:10.1128/IAI.67.9.4960-4962.1999.
16 Шенжанова А. М., Сыздыкова А. С. Использование белков внешней мембраны бруцелл в серологической диагностике бруцеллеза: материалы международной научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения – 15: Молодежь, наука, технологии – новые идеи и перспективы». – Нур-Султан, 2019. – С. 62-65.
17 Aitbay K. Bulashev, Zhanbolat A. Suranshiev, Aibek Kh. Zhumalin, Kanat A. Tursunov Evaluation of brucella antigens in serological diagnosis of brucellosis // International Journal of Advances in Science Engineering and Technology. – 2016. – 4 (3). – P. 2321-9009.
18 Moriyón I., López-Goñi I. Structure and properties of the outer membranes of Brucella abortus and Brucella melitensis // Int. Microbiol. – 1998. – 1 (1). – P. 19-26.
19 Simborio H.L., Lee J.J., Bernardo Reyes A.W. Evaluation of the combined use of the recombinant Brucella abortus Omp10, Omp19 and Omp28 proteins for the clinical diagnosis of bovine brucellosis // Microb. Pathog. – 2015. – 83-84. – P. 41-46. doi:10.1016/j.micpath.2015.05.004.
20 Belzer C.A., Tabatabai L.B., Deyoe B.L. Differentiation by Westen blotting of immune responses of cattle vaccinated with Brucella strain 19 or infected experimentally or naturally with virulen Brucella abortus // Vet. Microbiol. – 1991. – 27. – P. 79-90.
21 Исабек А.У., Тайлакова Э.Т., Шыныбекова Г.О., Строчков В.М., Червякова О.В. Экспрессия и очистка белка IalB Brucella spp // Вестник Карагандинского университета. – 2019. – 3 (95). – С. 59-66.
22 Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. – 1970. – 227 (5259). – P. 680-685. doi:10.1038/227680a0.

ФИТОСАНИТАРИЯ

УДК 633.1

Р.А. Молдажанова[1], В.А. Чудинов[2], А.Д. Мауленбай[1], А.С. Рсалиев[1]

[1] РГП «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» КН МОН РК, пгт. Гвардейский, Казахстан
[2] Товарищество с ограниченной ответственностью «Карабалыкская опытная станция» МСХ РК, Костанайская область, Карабалыкский район, с. Научное Казахстан
E-mail: rmoldazhan@bk.ru

ПРОРОСТКОВАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ НОВЫХ СЕЛЕКЦИОННЫХ ЛИНИЙ ЯРОВОЙ МЯГКОЙ ПШЕНИЦЫ К ИЗОЛЯТАМ ВОЗБУДИТЕЛЯ *PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS*

Аннотация. Желтая пятнистость или пиренофороз является экономически значимым заболеванием пшеницы во многих странах мира, в том числе и в Казахстане. Целью данного исследования является определение проростковой устойчивости новых селекционных линий яровой мягкой пшеницы к изолятам возбудителя желтой пятнистости – *Pyrenophora tritici-repentis*. Оценку устойчивости яровой пшеницы к болезни осуществили с использованием различных изолятов *P. tritici-repentis*. В результате сформирована коллекция, состоящая из 5 новых селекционных линий яровой мягкой пшеницы, устойчивых к казахстанским изолятам гриба – носителям гена Ptr ToxA. Отобранные сортообразцы яровой мягкой пшеницы рекомендуются в селекции для использования их в создании новых болезнеустойчивых сортов данной культуры.

Ключевые слова: пшеница, желтая пятнистость, изолят, проростковая устойчивость.

Р.А. Молдажанова[1], В.А. Чудинов[2], А.Д. Мәуленбай[1], А.С. Рсалиев[1]

[1] ҚР БҒМ ҒК ҚР БҒМ ҒК «Биологиялық қауіпсіздік проблемаларының ғылыми-зерттеу институты» РМК, Гвардейский қтп., Қазақстан
[2] ҚР АШМ «Қарабалық тәжірибе станциясы» жауапкершілігі шектеулі серіктестігі, Қостанай облысы, Қарабалық ауданы, Научное ауылы, Қазақстан

ЖАЗДЫҚ ЖҰМСАҚ БИДАЙДЫҢ СЕЛЕКЦИЯЛЫҚ ЖАҢА ЛИНИЯЛАРЫНЫҢ *PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS* ҚОЗДЫРҒЫШ ИЗОЛЯТТАРЫНА ӨСКІНДІК ТӨЗІМДІЛІГІ

Аннотация. Сары дақ немесе пиренофороз әлемнің көптеген елдерінде, соның ішінде Қазақстан экономикасына зиян келтіретін бидай ауруы. Бұл зерттеудің мақсаты – жаздық бидайдың жаңа селекциялық линияларының *Pyrenophora tritici-repentis* қоздырғыш изоляттарына төзімділігін анықтау. Жаздық бидайдың ауруға төзімділігін бағалау әртүрлі *P. tritici-repentis* изоляттарын қолдану арқылы жүргізілді. Нәтижесінде Ptr ToxA геніне ие

– саңырауқұлақтың қазақстандық изоляттарына төзімді жаздық бидайдың 5 жаңа селекциялық линияларынан тұратын жиынтық құрылды. Сұрыпталған жаздық жұмсақ бидай сорт-үлгілері осы дақылдың ауруға төзімді жаңа сорттарын шығаруда пайдалану үшін селекцияға ұсынылады.

Түйін сөздер: бидай, сары теңбіл дақ, изолят, өскіндік төзімділік.

R.A. Moldazhanova[1], V.A. Chudinov[2], A.D. Maulenbay[1], A.S. Rsaliyev[1]

[1]RSE RGE "Research Institute for Biological Safety Problems" CS MES RK, Gvardeiskiy, Kazakhstan
[2]Limited Liability Company "Karabalyk Experimental Station" MA RK,
Kostanay region, Karabalyk district, Nauchnoye, Kazakhstan

SEEDLING RESISTANCE OF NEW SPRING BREAD WHEAT LINES TO ISOLATES OF THE PYRENOPHORA TRITICI-REPENTIS

Abstract. Tan spot or pyrenophorosis is an economically significant wheat disease in many countries of the world, including Kazakhstan. The aim of this study is to determine the seedling resistance of new breeding lines of spring bread wheat to isolates of the Pyrenophora tritici-repentis pathogen. The assessment of spring wheat resistance to the disease was carried out using various isolates of *P. tritici-repentis*. As a result, a collection consisting of five new breeding lines of spring bread wheat resistant to Kazakhstani isolates of the fungus – carriers of the Ptr ToxA gene was formed. The selected cultivars of spring bread wheat are recommended in breeding for the creation of new disease-resistant cultivars.

Key words: wheat, tan spot, isolate, seedling resistance.

Введение. Желтая пятнистость или пиренофороз является экономически значимым заболеванием пшеницы во многих странах [1, 2], в том числе и в Казахстане [3-5]. Возбудитель этого заболевания – гомоталличный аскомицет *Pyrenophora tritici-repentis* (Died.) *Drechsler* образует селективные хозяин специфичные токсины, которые считаются факторами патогенности [6-12]. В Казахстане патоген занял доминирующее положение среди листовых болезней пшеницы сравнительно недавно. Желтая пятнистость широко распространена в северном регионе республики, и его вредоносность особенно возрастает при внедрении нулевой и минимальной технологии возделывания зерновых культур. В период 2000-2016 годы 5 раз происходили локальные вспышки желтой пятнистости и септориоза или обширные их эпифитотии. При этом потери урожая пшеницы составляли в среднем 15-20 %, а при раннем их проявлении до 30-40 %. В последние годы происходит заметное расширение ареала и усиление вредоносности желтой пятнистости листьев на юге и юго-востоке Казахстана [3, 4]. Причинами развития болезни в зерносеющих регионах Казахстана являются минимальная обработка почвы с сохранением стерни, монокультура пшеницы и возделывание неустойчивых к патогену сортов [3-5]. Установлено, что среди коммерческих и перспективных сортов озимой пшеницы селекции Казахстана отсутствуют образцы, устойчивые к желтой пятнистости [3, 4].

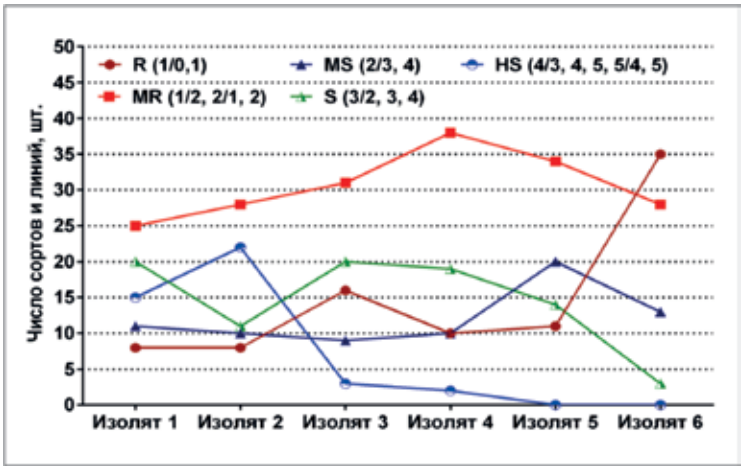
Для повышения эффективности селекции на устойчивость к пиренофорозу необходимо выявлять новые сорта и перспективные линии пшеницы, характеризующиеся разнообразием по устойчивости к болезни, а затем размещать их на территории распространения болезни [13]. По данным одних авторов [14], устойчивость проростков и взрослых

растений к желтой пятнистости идентична. Другими исследователями [15] отмечено отсутствие корреляции между размером и количеством инфекционных пятен на взрослых растениях и проростках, в связи с чем предполагается, что на различных стадиях роста проявляются различные механизмы устойчивости. Определено, что среди диплоидных пшениц устойчивые встречаются чаще, чем среди тетраплоидных и гексаплоидных, а среди тетраплоидных чаще, чем среди гексаплоидных [16]. Эти вопросы оставались малоизученными в Казахстане, в связи с чем необходимо провести скрининг сортообразцов пшеницы по устойчивости к изолятам возбудителя *P. tritici-repentis*.

Целью наших исследований было определение устойчивости новых селекционных линий яровой мягкой пшеницы к различным изолятам *P. tritici-repentis* в период проростков.

Материалы и методы. Материал исследований включал 79 новых селекционных линий яровой мягкой пшеницы (*Triticum aestivum*). Данные линии были созданы в Карабалыкской сельскохозяйственной опытной станции в 2018 году в рамках программы «Разработка инновационных систем для повышения устойчивости сортов пшеницы к особо опасным болезням в Республике Казахстан». Оценку устойчивости проводили с использованием проростков пшеницы (фаза первого листа). Для инокуляции проростков пшеницы использовали изоляты возбудителя *P. tritici-repentis,* выделенных в чистую культуру. Размножение культуры гриба *P. tritici-repentis* выполняли по методике Л.А. Михайловой с соавторами [15]. Изучаемые образцы опрыскивали водной суспензией изолятов гриба с добавлением детергента Твин 80, накрывали каркасом с натянутым полиэтиленом для создания влажной камеры и выдерживали в темноте в течение 12 часов при температуре 20 °С. Концентрация суспензии составляла 2-3*10^3 конидиоспор/мл [14]. Оценку устойчивости к изолятам желтой пятнистости проводили через 7 дней после инокуляции по 5-бальной шкале [14, 15] соответствующей величине некротических пятен и хлорозов. По типу реакции растения с баллами 1/0, 1/1 относили к устойчивым, 1/ 2, 2/1, 2/2 – среднеустойчивым, 2/3, 2/4 – средневосприимчивым, 3/2, 3/3, 3/4 – восприимчивым, 4/3, 4/4, 4/5, 5/4, 5/5 – сильно-восприимчивым (над чертой – балл развития некроза, под чертой – балл развития хлороза).

Основные результаты исследований. Для определения проростковой устойчивости 79 новых селекционных линий яровой мягкой пшеницы были использованы 6 изолятов *P. tritici-repentis*, выделенные из костанайской популяции гриба и продуцирующие токсин ToxA. В результате исследований многие линии яровой мягкой пшеницы отличались устойчивостью к одному или двум исследованным изолятам *P. tritici-repentis*, но были восприимчивыми к другим изолятам гриба (рисунок 1).



R – resistant (устойчивость),
MR – moderate resistant (умеренная устойчивость),
MS – moderate susceptible (умеренная восприимчивость),
S – susceptible (восприимчивость),
HS – highly susceptible (высокая восприимчивость).
В скобках над чертой – балл развития некроза, под чертой – балл развития хлороза

Рисунок 1 – Распределение новых селекционных линий яровой мягкой пшеницы по проростковой устойчивости к костанайским изолятам *Pyrenophora tritici-repentis*

По вирулентности вариабельность изолятов наглядно демонстрирует генетическую изменчивость в природных популяциях патогена в Костанайской области. При этом было выделено 8 устойчивых (R) селекционных линий с типом реакции 1/0, 1/1 балла к изолятам 1 и 2, 16 – к изоляту 3, 10 – к изоляту 4, 11 – к изоляту 5, 35 – к изоляту 6, соответственно. Большинство линий проявили умеренную устойчивость (тип реакции 1/2, 2/1, 2/2 балла), к использованным изолятам патогена, следовательно, их частота встречаемости в зависимости от изолята составляет от 25 до 38 линий.

Умеренную восприимчивость показали 11, 10, 9, 10, 20 и 13 линии, соответственно, к изолятам 1-6. Число восприимчивых материалов (тип реакции 3/2, 3/3, 3/4) варьирует от 3 до 20 линий. Некоторые линии яровой мягкой пшеницы на стадии проростков показали максимальный тип инфекции (тип реакции 4/3, 4/4) к изолятам 1-4. Среди изученных селекционных материалов выявлено всего 5 линий (Л-48007, 86-07-5, 13-32-39, 18-02-18, 9-18-30), проявляющих устойчивость (тип реакции 1/0 или 1/1) ко всем использованным изолятам возбудителя желтой пятнистости (таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика отобранных линий яровой мягкой пшеницы по проростковой устойчивости к изолятам желтой пятнистости

Линия, сорт	**Происхождение (родословная)**	**Проростковая устойчивость к изолятам *P. tritici-repentis*, балл**					
		Изолят 1	Изолят 2	Изолят 3	Изолят 4	Изолят 5	Изолят 6
Л-48007	K48007/k429325/4/ milan/kauz//prinia/3/ babax	1/1	1/0	1/0	1/1	1/1	1/1
86-07-5	Лют. 573/01-13 / Харьковская 30	1/1	1/0	1/0	1/1	1/1	1/0
13-32-39	Long91-1211/pas-tor/3/emb16/ cbrd// cbrd/4/Fiton 42	1/1	1/0	1/0	1/1	1/1	1/0
18.02.2018	Omskaya 35*2/emb16	1/1	1/0	1/0	1/1	1/1	1/0
9-18-30	Lutescens 54/chyak1// Altayskaya 530	1/1	1/0	1/0	1/1	1/1	1/0
Карабалыкская 90	Местный стандарт	3/3	4/3	3/2	2/3	3/3	2/3
Омская 29	Местный стандарт	4/3	4/3	3/2	3/2	3/3	2/3
Омская 18	Местный стандарт	4/4	4/4	3/3	3/3	3/3	2/2

Обсуждение полученных данных. В 2018 году создано 79 новых селекционных линий яровой мягкой пшеницы в условиях Карабалыкской сельскохозяйственной опытной станции, Костанайской области. Среди созданных новых селекционных материалов яровой мягкой пшеницы выявлено всего 5 линий (Л-48007, 86-07-5, 13-32-39, 18-02-18, 9-18-30), проявляющих устойчивость (тип реакции 1/0 или 1/1) ко всем использованным изолятам возбудителя желтой пятнистости. В предыдущих наших исследованиях показаны, что данные линии проявили высокую устойчивость к другим патогенам в период проростков и взрослых растений в условиях Казахстана [17, 18]. Данные линии также были охарактеризованы по урожайности и по признакам качества зерна и муки. Среди них по устойчивости к болезням и показателям качества зерна и муки особый интерес представляет линия 13-32-39 (Long91-1211/Pastor/3/Emb16/cbrd//cbrd/4/Fiton 42). Данная линия

имеет в своей родословной образец КАСИБ FITON 42 селекционной фирмы «Фитон» и источники устойчивости СИММИТ, адаптирована к условиям Северного Казахстана и превосходит коммерческий сорт Карабалыкская 90 по устойчивости к основным грибным болезням и по урожайности. На основании результатов фитопатологических, селекционных и биохимических исследований подана заявка о выдаче патента на селекционное достижение «Линия 13-32-39». Предлагаемое название сорта «Отар-2» [19].

Заключение. Таким образом, в результате проведенных исследований сформирована коллекция, состоящая из 5 новых селекционных линий яровой мягкой пшеницы. Отобранные сортообразцы яровой мягкой пшеницы представляют большой интерес для использования их в создании новых болезнеустойчивых сортов данной культуры.

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

ЛИТЕРАТУРА

1 Mikhailova L.A., Mironenko N.V., Kovalenko N.M. Populations of Pyrenophora tritici-repentis in the North Caucasus and the North-West of Russia: the racial composition and dynamics of virulence // Mycology and Phytopathology. – 2014. – Vol. 48. – P. 393-400.
2 Lamari L., Strelkov S., Yachyaoui A., Koishibayev M. Virulence of Pyrenophora tritici-repentis in the countries of the Silk Road // Canad. Jour. of Plant Pathology. – 2005. – Vol. 27. – P. 316-318.
3 Койшыбаев М. Распространение и развитие желтой пятнистости пшеницы в Казахстане // Микология и фитопатология. – 2010. – Т. 45. – Вып. 2. – С. 177-186.
4 Kokhmetova A., Kremneva O., Volkova G., Atishova M., Sapakhova Z. Evaluation of wheat cultivars growing in Kazakhstan and Russia for resistance to tan spot // Journal of Plant Pathology. – 2017. – Vol. 99 (1). – P. 161-167.
5 Yahyaoui A., Lamari L., Parker B., Koishibayev M. Cereal diseases, insects, pests in Central Asia: occurrence and distribution // Proceedings of the 1st Central Asian Wheat Conference. – Almaty, 2003. – P. 637-638.
6 Ballance G.M., Lamari L., Bernier C.C. Purification and characterization of a host-selective necrosis toxin from Pyrenophora tritici-repentis // Physiol. Mol. Plant Pathol. – 1989. – Vol. 35. – P. 203-213.
7 Lamari L., Bernier C.C. Virulence of isolates of Pyrenophora tritici-repentis on 11 wheat cultivars and cytology of the different host reaction // Can. J. Plant Pathol. – 1989. – Vol. 11. – P. 284-290.
8 Tomas A., Feng G.H., Reeck G.R., Bockus W.W., Leach J.E. Purification of a cultivar-specific toxin from Pyrenophora tritci-repentis, causal agent of tan spot of wheat // Mol. Plant-Microb. Interact. – 1990. – Vol. 3. – 4. – P. 221-224.
9 Tuori R.P., Wolpert T.J., Ciuffetti L.M. Purification and immunological haracterization of toxic components from cultures of Pyrenophora tritici-repentis // Mol. Plant-Microb. Interact. – 1995. – Vol. 8. – 1. – P. 41-48.
10 Ciuffetti L.M., Francl L.J., Ballance G.M., Bockus W.W., Lamari L., Meinhardt S.W., Rasmussen J.B. Standarization of toxin nomenclature in the Pyrenophora tritici-repentis wheat interaction // Can. J. Plant Pathol. – 1998. – Vol. 20. – P. 421-424.
11 Manning V.A., Pandelova I., Ciuffetti L.M. Arace for a novel host selective toxin (Abstr.) // Phytopathology. – 2002. – Vol. 92. – P. 51.
12 Pandelova I., Ciuffetti L.M. Aproteomics-based approach for identification of the ToxD gene // Fung. Genet.Newsl. – 2005. – Vol. 52 (Suppl.). – P. 133.
13 Кохметова А.М., Коваленко Н.М., Кумарбаева М.Т. Структура популяции Pyrenophora tritici-repentis в Республике Казахстан и идентификация устойчивости к пиренофорозу гермоплазмы пшеницы // Вавиловский журнал генетики и селекции растений. – 2020. – 24 (7). – С. 722-129.
14 Lamari L., Bernier C.C. Evaluation of wheat lines and cultivars to tan spot (Pyrenophora tritici repentis) based on lesion type // Can. J. Plant Pathol. – 1989. – Vol. 11. – P. 49-56.

15 Михайлова Л.А., Мироненко Н.В., Коваленко Н.М. Желтая пятнистость пшеницы. Методические указания по изучению популяции возбудителя желтой пятнистости Pyrenophora tritici-repentis и устойчивости сортов // СПб. – 2012.
16 Rees R.G., Platz G.J. Tan spot and its control some Australian experiences advances in tan spot research // Proceedings of the 2-nd International tan spot workshop, June 25-26, North Dakota State University, Fargo. – 1992. P. L-9.
17 Rsaliyev A.S., Turuspekov Y., Abugalieva S., Amirkhanova N., Pahratdinova Z., Rsaliyev Sh.S., Chudinov V., Gultyaeva E., Abugalieva A., Kokhmetova A., Strochkov V., Yskakova G. Major approaches in improving wheat resistance to the crucially dangerous diseases in Kazakhstan // 5th International Scientific Conference "Plant genetics, genomics, bioinformatics, and biotechnology", 24-29 June 2019 Novosibirsk, Russia. – 2019. – P.170.
18 Чудинов В.А., Рсалиев А.С., Абугалиева А.И. Инновационный подход в селекции яровой мягкой пшеницы на устойчивость к болезням // Исследования, результаты. – 2019. – № 4. – С.240-247.
19 Заявка о выдаче патента на селекционное достижение «Линия 13-32-39 (Long91-1211/ Pastor/3/Emb16/cbrd//cbrd/4/Fiton 42)». Предлагаемое название сорта «Отар-2». Дата поступления в РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности» Министерства Юстиции РК: 22.11.2019, регистрационный номер №2019/035.4.

ЖУРНАЛДА ЖАРИЯЛАУ ҮШІН ҒЫЛЫМИ МАҚАЛАЛАРҒА ҚОЙЫЛАТЫН ТАЛАПТАР

Журнал келесі ғылым бағыттары бойынша мақалаларды қабылдайды:
- Ветеринария;
- Медицина;
- Биотехнология;
- Биологиялық қауіпсіздік пен биологиялық қорғау;
- Молекулалық биология және гендік инженерия;
- Фитосанитария.

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

Мақаланың тарауларына қойылатын құрылымдық талаптар:
Мақалада келесі тараулар болуы тиіс:
1. Аннотация
2. Кіріспе
3. Зерттеу әдістемесі
4. Зерттеулерден алынған нәтижелер
5. ҒЗЖ нәтижелерін талқылау
6. Қорытынды (тұжырым)
7. Әдебиет

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

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

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

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

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

Автордың (-лардың) аты-жөні әр адамның жұмыс орнымен индекстеледі. Мысалы, **С.С. Сеитов[1], А.А. Ахметов[2], Б.Б. Болатов[3]**

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

Мақаланың мазмұны туралы

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

Ғылыми мақаланы рәсімдеудің негізгі талаптары.

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

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

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

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

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

Зерттеу әдістемесі. Бұл бөлімде ҒЗЖ-да пайдаланылған материалдар мен әдістер сипатталады. Егер бұл алғаш рет жарияланатын әдістеме болмаса, әдіснамалық ерекшеліктерді көрсетудің қажеті жоқ. Қажет болған жағдайда әдіснаманың негізгі сәттері сипатталады. Бұл бөлім әдетте мақаланың жалпы көлемінің 10-20 % құрайды.

Зерттеудің негізгі нәтижелері. Бұл бөлім көлемі бойынша ғылыми мақалада орталық орын алады. Бұл негізгі бөлім, оның мақсаты талдау, қорыту және деректерді түсіндіру арқылы жұмыс гипотезасын (гипотезаларын) дәлелдеу болып табылады. Нәтижелер қажет болған жағдайда бастапқы материалды немесе дәлелдемелерді тұжырылған түрде

ұсынатын иллюстрациялармен – кестелермен, графиктермен, суреттермен расталады. *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, бірбірін қайталамайтын кестелер мен суреттерді қамтиды. Нәтижелерді өткен уақытта баяндау ұсынылады. Талқылау зерттеу нәтижелерін сипаттауды қайталамауы тиіс. Қорытынды зерттеу нәтижелерінің қысқаша тұжырымын қамтиды. Бұл бөлімде алынған нәтижелерді жұмыстың басында белгіленген мақсатпен салыстыру қажет. Қорытындыда тақырыпты түсіну нәтижелері жинақталады, жұмыстан туындайтын қорытындылар, тұжырымдар мен ұсыныстар жасалады, олардың практикалық маңыздылығы көрсетіледі, сондай-ақ осы саладағы одан әрі зерттеу үшін негізгі бағыттар анықталады. Мақаланың қорытынды бөлігіне қаралған мәселелердің дамуын болжау әрекеттерін енгізу қажет. Мақала тақырыбындағы мәліметтер авторлық түйіндеме мәтінінде қайталанбауы тиіс. Ұсынылатын көлем – мақаланың жалпы көлемінен 10-15 %.

Әдебиет. Бұл бөлім дәйексөз келтірілетін, қаралатын немесе мақаланың мәтінінде айтылған, оны сәйкестендіру, іздеу және жалпы сипаттама үшін қажетті және жеткілікті басқа құжат туралы библиографиялық мәліметтер қамтылады. Жарияланғанына 5 жылдан асқан дереккөздерге сілтеме жасау ұсынылмайды. Жақында жарияланған мақалаларға сілтемелер беру, өз мақаласынан дәйек сөз алуға ең аз мөлшерде рұқсат етіледі. Мақала берілетін БҚПҒЗИ ғылыми-практикалық журналындағы мақалаларға сілтеме жасау міндетті. Мақалада біздің журналдарда бұрын шыққан мақалаларға міндетті түрде сілтеме жасау керек. Негізгі мәтіннен (немесе ескертулердің мәтінінен) төменірек ортаға тегістеу арқылы «**ӘДЕБИЕТ**» деген атау жазылады, онан бір жолдан кейін библиографиялық сипаттамаға қойылатын қолданыстағы талаптарға сәйкес мәтін бойынша сілтеме ретінде нөмірленген деректер тізбесі орналастырылады. Тізбенің бір тармағында тек бір ақпарат көзін көрсету керек. Ақпарат көздеріне сілтемелер төрт бұрышты жақша (мысалы, [1]) ішіндегі сандармен ресімделеді.

Библиографиялық сипаттама МЕМСТ 7.1-2003 сәйкес рәсімделеді және мұқият тексеріледі. Егер ақпарат көзіне сілтеме мақала мәтінінде қайталанатын болса, онда қайта, шаршы жақшада оның тізімдегі нөмірі көрсетіледі (библиографиялық тізімде келесі реттік нөмірі мен «тағы да сонда» сілтемесі пайдаланылмай). Бір көзден алынған әр түрлі материалдарға сілтеме жасалған жағдайда, шаршы жақшадағы беттің нөмірін әр жолы көрсету қажет. Мысалы, [1, 17] немесе [1, 28-29].

Мысал ретінде неғұрлым таралған сипаттамалар – мақалалар, кәтаптар, конференция материалдары, патенттер және электрондық қорлар беріледі, мысалы:

Автор фамилиясындағы кітап

1 Максимов Н.В., Партыка Т.Л., Попов И.И. Максимов, Н.В. ЭЕМ және есептеуіш жүйелердің архитектурасы: ЖОО-ларына арналған оқу құралы. – М.: Инфра – М, 2005.-512 б.

2 Душков Б.А.,Королев А.В., Смирнов Б.А. Еңбектің, кәсіби, ақпараттық және ұйымдастырушылық қызметтің психологиясы: ЖОО-ларға арналған оқу құралы. – М: Академический проект, 2005.-848 б.

Атаулы кітап.

Егер, кітап төрт немесе одан көп авторлармен жазылған болса кітап сипаттамасы атауында беріледі. Атауында ұжымдық монографиялар, мақалалар жинағы және т.б. сипатталады.

1 Әлем көркем әдебиеті: 2 томда / Б.А. Эренгросс [және басқалары]. – М.: Высшая школа, 2005. – Т.2. – 511 б.

2 Экономикалық талдау бойынша бақылау тапсырмалары мен тестілерінің кешені [Мәтін]: 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 қарашажағы жағдайы бойынша / Ресей Федерациясының Әділет министрлігі.- М.: Маркетинг, 2001. – 159 б.

Стандарттар

Радиоэлектронды тұрмыстық аппаратура. Кіріс және шығыс параметрлері мен байланыстыру типтері. Техникалық талаптар [Мәтін]: 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, (К**есте 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, С**урет 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 сканду 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» РМҚ

Оқу ғылыми-білім беру орталығы (ОҒБО), тел. (726-36) 7-22-28, ішкі 112.

E-mail: unots@biosafety.kz

Жарияланым үшін төлем жүргізу деректері:

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

Бенефициара банкі: «Қазақстан халық банкі» АҚ-ы

Банк БСК-ы: HSBKKZKX

ЖСК:KZ656010131000155334

ЖСК:KZ766010131000133020 (USD)

КБЕ: 16

ТМК: 859

Төлем мақсаты: «Биобезопасность и Биотехнология/Биоқауіпсіздік және Биотехнология» 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. Сеитов[1], А.А. Ахметов[2], Б.Б. Болатов[3]**)
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 ([1]Казахский национальный аграрный университет, Алматы, Казахстан, [2]Ставропольский государственный аграрный университет, Ставрополь, Российская Федерация, [3]Западно-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 иобзор найденных автором литературных источников (статей, патентов, отчетов, информации из Интернета) по этой теме. Также, в этом разделе указывается цели и задачи исследования, предполагаемые гипотезы и формулировки. Этот раздел обычно составляет 5-10 % от общего объема статьи.

Методика исследований. В этом разделе описываются материалы и методы, использованные в НИР. Нет необходимости указывать методологические особенности, если это не впервые публикуемая методика. При необходимости, описываются ключевые моменты методологии. Этот раздел обычно составляет 10-20 % от общего объема статьи.

Основные результаты исследований. По объему этот раздел занимает центральное место в научной статье. Это основной раздел, цель которого заключается в том, чтобы при помощи анализа, обобщения и разъяснения данных доказать рабочую гипотезу (гипотезы). Результаты при необходимости подтверждаются иллюстрациями – таблицами, графиками, рисунками, которые представляют исходный материал или доказательства в свернутом виде. *Важно, чтобы проиллюстрированная информация не дублировала текст*. Представленные в статье результаты желательно сопоставить с предыдущими работами в этой области как автора, так и других исследователей. Такое сравнение дополнительно раскроет новизну проведенной работы, придаст ей объективности. Эта часть обычно составляет 50-55 % от общего обьема 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 обьема статьи.

Если в тексте есть примечания, то после основного текста перед списком литературы набирается по центру заглавие «**Примечания»**, и через строку помещается текст примечаний, пронумерованные числом в виде верхнего индекса (например, 1) в порядке ссылок по тексту. Ссылка на примечания в основном тексте оформляется не жирным шрифтом, числом в виде верхнего индекса (например, … модели 1).

Таблицы помещаются по тексту. Нумерация таблиц производится в порядке ссылок по тексту. Нумерационный заголовок таблицы набирается нежирным шрифтом с

выравниванием по центру (например, Таблица 1 – название таблицы). Тематический заголовок (если имеется) набирается на этой же строке нежирным шрифтом с выравниванием по центру. Ссылка на таблицу в основном тексте оформляется нежирным шрифтом в скобках – например, (таблица 1**)**. Если таблица имеет большой объем, она может быть помещена на отдельной странице, а в том случае, когда она имеет значительную ширину – на странице с альбомной ориентацией.

Рисунки размещаются по тексту. Нумерация рисунков производится в порядке ссылок по тексту. Нумерационный заголовок набирается нежирным шрифтом с выравниванием по центру (например, Рисунок 1 – название рисунка). Ссылка на рисунок в основном тексте оформляется нежирным шрифтом в скобках – например, (рисунок 1). Если рисунок имеет большой формат, он должен быть помещен на отдельной странице, а в том случае, когда он имеет значительную ширину – на странице с альбомной ориентацией. Рисунки могут быть сканированными с оригинала (150 spi в градациях серого) или выполнены средствами компьютерной графики. Допускается, а в случае с иллюстрациями большого объема (файла), приветствуется, размещение рисунков в отдельном файле электронной версии. Подписи к рисункам должны быть выполнены непосредственно под рисунком.

Формулы. Простые внутри строчные и однострочные формулы должны быть набраны символами без использования специальных редакторов (допускается использование специальных символов из шрифтов Symbol, Greek Math Symbols, Math-PS, Math AMathematica BTT). Сложные и многострочные формулы должны быть целиком набраны в редакторе формул Microsoft Equation 2.0, 3.0. Не допускается набор – часть формулы символами, а часть – в редакторе формул.

Литература. Этот раздел содержит библиографические сведения о цитируемом, рассматриваемом, или упоминаемом в тексте статьи другом документе, необходимые и достаточные для его идентификации, поиска и общей характеристики. Не рекомендуется ссылаться на источники, которым более 5 лет. Ссылки давать на недавно опубликованные статьи, самоцитирование допускается в минимальном количестве. Ниже основного текста (или текстов примечаний) печатается поцентру заглавие «**ЛИТЕРАТУРА**», затем, через строку, помещается пронумерованныйперечень источников в порядке ссылок по тексту, в соответствии с действующимитребованиями к библиографическому описанию. В одном пункте перечня следуетуказывать только один источник информации. Ссылки на источники информациио-формляются числами, заключенными в квадратные скобки (например, [1]).

Библиографические описания оформляются в соответствии с ГОСТ 7.1-2003 и тщательновыверяются. Если ссылка на источник информации в тексте статьи повторяется, то, повторно, в квадратных скобках указывается его номер из списка (без использования вбиблиографическом списке следующего порядкового номера и ссылки «Там же»). Вслучае ссылки на различные материалы из одного источника, необходимо каждый раз указать еще и номер страницы в квадратных скобках. Например, [1, 17] или [1, 28-29].

В качестве примера приводятся наиболее распространенные описания – статьи, книги, материалы конференций, патенты и электронные ресурсы, например:

Книга под фамилией автора

1 Максимов Н.В., Партыка Т.Л., Попов И.И. Архитектура ЭВМ и вычислительных систем: учеб. для вузов. – М.: Инфра, 2005. – 512 с.

2 Душков Б.А., Королев А.В., Смирнов Б.А. Психология труда, профессиональной, информационной и организационной деятельности: учеб. пособие для вузов. – М: Академический проект, 2005. – 848с.

Книга под заглавием

Описание книги дается на заглавие, если книга написана четырьмя и более авторами. На заглавие описываются коллективные монографии, сборники статей и т.п.

1 Мировая художественная культура: в 2-х т. / Б.А. Эренгросс [и др.]. – М.: Высшая школа, 2005. – Т.2. – 511 с.

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

Конституция Российской Федерации. – М.: Приор, 2001. – 32 с. Гражданский процессуальный кодекс РСФСР [Текст]: [приняттретьей сес. Верхов. Совета РСФСР шестого созыва 11 июня 1964 г.]: офиц. текст: по состоянию на 15 нояб. 2001 г. / М-во юстиции Рос. Федерации. – М.: Маркетинг, 2001. – 159 с.

Стандарты

Аппаратура радиоэлектронная бытовая. Входные и выходные параметры и типы соединений. Технические требования: ГОСТ Р517721 – 2001. – Введ. 2002-01 -01. – М.: Изд-во стандартов, 2001. – IV, 27 с.: ил.

Патентные документы

1 Приемопередающее устройство: пат. 2187888 Рос. Федерация: МПК Н 04 В 1/38, Н 04 J 13/00/ Чугаева В.И.; заявитель ипатентообладатель Воронеж, науч. – ислед. ин-т связи. – № 2000131736/09; заявл. 18.12.2000; опубл. 20.08.2002, Бюл. № 23 (II ч.). – 3 с: ил.

Диссертации, авторефераты диссертаций

1 Белозеров И.В. Религиозная политика Золотой Орды на Руси в 13-14 вв.: дис… канд. ист. наук: 07.00.02: защищена 22.01.2002: утв.15.07.2002 /Белозеров Иван Валентинович. -М., 2002. -215 с. -Библиогр.: с. 202-213. -04200201565.

Библиографическое описание документа из Internet

1 Бычкова Л.С. Конструктивизм // Культурология 20 век – «К». – (http//www.philosophy.ru/edu/ref/enc/k.htm 1).

2 Психология смысла: природа, строение и динамика Леонтьева Д.А. -Первое изд. – 1999. – (http//www.smysl.ru/annot.php).

Основные требования к оформлению научной статьи.

Статья должна быть объемом 5-11 страниц (включая рисунки и таблицы) на одном из языков: казахском, русском или английском.

Текст должен быть набран в редакторе Microsoft Word, шрифт Times New Roman размера 12, одинарный интервал. Текст следует печатать, соблюдая следующие размеры полей: верхнее и нижнее – 2 см, левое и правое – 2 см. Выравнивание – по ширине (с автоматической 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: HSBKKZKX
ИИК:KZ656010131000155334
ИИК:KZ766010131000133020 (USD)
КБЕ: 16
КНП: 859
Назначение платежа: Публикация статьи в научно-практическом журнале «Биоқауіпсіздік және Биотехнология/Биобезопасность и Биотехнология».

AUTHOR INSTRUCTIONS TO THE JOURNAL

The journal accepts articles in the following areas of science:
- Veterinary medicine;
- Medicine;
- Biotechnology;
- Biological safety and biosecurity;
- Molecular biology and genetic engineering;
- Phytosanitary.

Structural requirements for the initial part of the article:

1 DOI
2 Name, surname of the author (s)
3 Place of work of the author (s)
4 Title of article
5 An annotation in the language of the text of the published material (not more than 150 words)
6 Keywords (no more than 10 words/phrases)

Structural requirements for sections of the article:

The article should contain the following sections:
1. Abstract
2. Introduction
3. Research methodology
4. The obtained research results
5. Discussion of the results of research
6. Conclusions (conclusion)
7. References

The abstract should be in two other languages that differ from the language of the published material (no more than 150 words). The abstract is a source of information independent of the article. It is written after completion of the main text of the article. It includes a description of the main topic, problem, object, purpose of the work and its results. It indicates what the new document bears in itself in comparison with others related to the subject and purpose. Abstracts should be formatted according to international standards and include the following points:

1 Introduction to the research topic.
2 The purpose of scientific research.
3 Description of the scientific and practical significance of the work.
4 Description of the research methodology.
5 The main results, conclusions of the research work.
6 The value of the study (what contribution this work made to the relevant knowledge field).
7 The practical significance of the results of the work.

The abstract should not repeat the text of the article itself (you cannot take sentences from the article and transfer them to the abstract), as well as its title. It should not contain numbers, tables, intra-text footnotes.

The abstract should set out the main points of the results and conclusions of the research work, and should not contain material that is not in the article itself.

Acknowledgements (this section is needed if the article was prepared as part of a grant, or to express gratitude to those who contributed to the published work, but were not included in the number of co-authors). It is usually indicated at the end of the publication.

Full name of the author (s) are indexed with the workplaces of each. *For example,* (**S.S. Seitov[1], A.A. Akhmetov[2], B.B. Bolatov[3]**)

Place of work of the author (s). For example: [1]Kazakh National Agrarian University, Almaty, Kazakhstan; [2]Stavropol State Agrarian University, Stavropol, Russia; [3]Western Kazakhstan Agrarian Technical University named after Zhangir Khan, Oral, Kazakhstan.

On the content of the article

The article should contain only original material reflecting the results of research by the author. In the abstract (from 50 to 150 words), revealing the main content of the article, and in the final part (conclusions, from 50 to 150 words) of the article, it is necessary to reflect the novelty of the research results, their practical significance.

Basic requirements for the execution of a scientific article.

The article should be 5-11 pages long (including figures and tables) in one of the languages: Kazakh, Russian or English.

The text should be typed in the Microsoft Word editor, font Times New Roman size 12, single spacing. The text should be printed, observing the following margins: top and bottom – 2 cm, left and right – 2 cm. Justification – breadthwise (with automatic hyphenation). Line spacing is single. Indention – 1.25.

The **DOI** is affixed in the upper left corner of the sheet. Below, after one interval center alignment – in italics, initials, surnames of the author (s), a line below the full name of the organization (s), then, separated by a comma, it is necessary to indicate the city, the name of the country (for foreign authors), thencenter alignment – in capital letters the name of the article. Even lower, through the line, follows the text of the abstract (from 50 to 150 words) and keywords in the language of the text of the published material (no more than 10 words/ phrases). Next, through the line, the main text of the article is placed, consisting of the following sections:

Introduction. This section includes the relevance of this study and a review of literature found by the author (articles, patents, reports, information from the Internet) on this topic. Also, this section indicates the goals and objectives of the study, hypotheses and statements. This section usually accounts for 5-10 % of the total article.

Research methodology. This section describes the materials and methods used in research. There is no need to indicate methodological features if this is not the first published methodology. If necessary, the key points of the methodology are described. This section usually accounts for 10-20 % of the total article.

Key research findings. By volume, this section is takes central place in the scientific article. This is the main section, the purpose of which is to use the analysis, synthesis and explanation of the data to prove the working hypothesis (hypotheses). The results, if necessary, are confirmed by illustrations – tables, graphs, figures, which represent the source material or evidence in folded form. It is important that the illustrated information does not duplicate the text. It is desirable to compare the results presented in the article with previous works in this area by both the author and other researchers. Such a comparison will additionally

reveal the novelty of the work done, give it objectivity. This part usually accounts for 50-55 % of the total article volume.

Discussion of the obtained data. These parts of the article contain an interpretation of the data obtained, describethe revealed patterns, include tables and figures not duplicating each other. Results are recommended to be stated in the past tense. The discussion should not repeat the description of the study results.

Conclusion. The conclusion contains a brief statement of the results of the study. In this section, it is necessary to compare the results obtained with the goal indicated at the beginning of the work. In conclusion, the results of comprehension of the topic are summarized, conclusions, generalizations and recommendations that arise from the work are made, their practical significance is emphasized, and the main directions for further research in this area are determined. In the final part of the article, it is desirable to include attempts to forecast the development of the issues addressed. The information contained in the title of the article should not be repeated in the text of the author's summary. The recommended volume is 10-15 % of the total volume of the article.

References. This section contains bibliographic information about another document cited, considered, or referred to in the text of the article, necessary and sufficient for its identification, search, and general characteristics. It is not recommended to refer to sources that are more than 5 years old. Links to recently published articles, self-citation is allowed in a minimal amount. Required links to articles from the scientific and practical journal RIBSP, in which the article is submitted. The article must refer to previously published articles in our journals. Below the main text (or texts of notes), the title "**REFERENCES**" is printed in the center, then, through a line, a numbered list of sources is placed in the order of references in the text, in accordance with the current requirements for bibliographic description. Only one source of information should be indicated in one list item. References to information sources are drawn up in numbers enclosed in square brackets (for example, [1]).

Bibliographic descriptions are drawn up in accordance with GOST 7.1-2003 and carefully verified. If the link to the source of information in the text of the article is repeated, then, repeatedly, in square brackets indicate its number from the list (without using the following serial number and the link "Ibid" in the bibliographic list). In the case of links to various materials from the same source, you must also indicate each time the page number in square brackets. For example, [1, 17] or [1, 28-29].

The most common descriptions – articles, books, conference proceedings, patents and electronic resources are given as an example, for example:

Book under the name of the author

1 Maximov N.V., Partyka T.L., Popov I.I. Architecture of computers and computing systems: Textbook for universities. – M.: Infra – M, 2005.-512 p.

2 Dushkov B.A., Korolev A.V., Smirnov B.A. Psychology of labor, professional, informational and organizational activities: Textbook for universities. – M: Academic project, 2005.-848 p.

Book under the title.

The description of the book is given in the title if the book is written by four or more authors. The title describes collective monographs, collections of articles, etc.

1 World art culture: in 2 volumes / B.A. Erengross [et al.]. – M.: Higher School, 2005. – Vol.2. – 511 p.

2 A set of control tasks and tests for economic analysis: a training method, a manual for universities / A.A. Slivinskaya [et al.]. – Yelets: Publishing house of the Yelets state University, 2003.- 73 p.

Legislative materials

The Constitution of the Russian Federation. – M.: Prior, 2001. – 32 p. The Code of Civil Procedure of the RSFSR: [adopted on the third session of the Supreme Council of the RSFSR of the sixth convocation on June 11, 1964]: offic. text: as of Nov 15 2001 / Ministry of Justice of RF. – M.: Marketing, 2001. – 159 p.

Standards

Household electronic equipment. Input and output parameters and connection types. Technical requirements [Text]: GOST R 517721 – 2001. – Introduction. 2002-01-01. – M.: Publishing house of standards, 2001. – IV, 27 p.: Ill.

Patent documents

Transceiver: Pat. 2187888 Russ. Federation: IPC H 04 B 1/38, H 04 J 13/00 / Chugayeva V.I.; applicant and patent holder Voronezh, scientific – research Institute of Communication. – No. 2000131736/09; declared 12/18/00; publ. 08/20/02, Bull. No. 23 (II hour). – 3 s: ill.

Dissertations, abstracts of dissertations

Belozerov I.V. The religious policy of the Golden Horde in Russia in the 13-14 centuries: cand. of Hist. Sciences: 07.00.02: defended 01.22.02: approved. July 15, 02 / Belozerov Ivan Valentinovich. -M., 2002.215 s. -Bibliogr.: p. 202-213. -04200201565.

Bibliographic Description of a Document from the Internet

1 Bychkova L.S. Constructivism // Cultural Studies 20th Century – "K". – (http // www. philosophy.ru / edu / ref / enc / k.htm 1).

2 The psychology of meaning: nature, structure and dynamics Leontieva D.A. -First ed. – 1999. – (http // www.smysl.ru / annot.php).

When preparing article literature, it is necessary to provide a complete list of authors of the publication (without etc.).

If there are notes in the text, then after the main text the heading "**Notes**" is typed in the center, and the text of the notes, numbered by a number in the form of a superscript (for example 1) in the order of links in the text, is placed in a line. The link to the notes in the main text is drawn up not in bold, but as a superscript (for example,... of model 1).

Tables are placed on the text. The numbering of the tables is carried out in the order of links in the text. The numbering heading of the table is typed in bold with left justification (for example, Table 1). The thematic title (if any) is typed on the same line in bold with left justification. The link to the table in the main text is made in bold in brackets – for example, (table 1). If the table has a large volume, it can be placed on a separate page, and in the case when it has a significant width – on a page with landscape orientation.

Figures are placed on the text. Numbering of figures is made in the order of links in the text. The numbering heading is typed in bold and centered (for example, Figure 1). Thematic title (if available).

- in the same line immediately after the numbering line (for example, Figure 1 – Dependence).

The link to the figure in the main text is made in bold in brackets – for example (Figure 1). If the picture has a large format, it should be placed on a separate page, and in the case when it has a significant width – on a page with landscape orientation. Pictures can be scanned from the original (150 spi in grayscale) or executed by computer graphics. It is allowed, and in the case of illustrations of a large volume (file), the placement of figures in a separate file of the electronic version is welcome. Captions for drawings should be made directly below the drawing.

Attached to the article:

- cover letter (for third-party organizations)
- conclusions of at least two experts:

1) from the expert commission of the Research Institute for Biological Safety Problems (internal expertise);

2) from independent experts of third-party specialized organizations (external expertise);

3) for articles in English – from an independent expert in areas from among the foreign editorial and expert council of the scientific and practical journal of RIBSP "**Биоқауіпсіздік және Биотехнология/Биобезопасность и Биотехнология**".

- information about the author: surname, name and patronymic (in full), academic degree, position, place of work, contact phones, address for correspondence (e-mail).

Payment should be made after passing the examination and receiving a review of the article. The payment for the publication of 1 article for Kazakhstani scientists and researchers is 2 monthly calculation indexes, for authors from foreign countries – $15 US.

Articles that do not meet the specified requirements are not accepted for publication.

Our address:

15, B. Momyshuly Street, Gvardeyskiy, Korday, Zhambyl oblast, 080409.
RSE "Research Institute for Biological Safety Problems" SC MES RK
Scientific and Educational Training Center (SETC), tel. (726-36) 7-22-28, int. 112.
E-mail: unots@biosafety.kz

Details for payment of publication:

Beneficiary: RSE at REM "Scientific Research Institute of Biological Safety Problems" of the Science Committee of the Ministry of Education and Science of the Republic of Kazakhstan
BIC of bank: HSBKKZKX
IIC:KZ656010131000155334
IIC:KZ766010131000133020 (USD)
BC: 16
PPC: 859
Payment destination: Publication of an article in a scientific and practical journal «Биоқауіпсіздік және Биотехнология/Биобезопасность и Биотехнология».

НАША ПРОДУКЦИЯ

БЫСТРАЯ ДИАГНОСТИКА – БЫСТРЫЙ ЭФФЕКТ!

Актуальным направлением ветеринарной диагностики является разработка диагностических тест-систем для выявления возбудителей инфекций, что позволит поддерживать благоприятную экологическую обстановку окружающей среды. Взаимодействие человеческого общества и природы стало одной из важнейших проблем современности. На пути решения экологических проблем учеными мира разрабатываются разные методы борьбы и профилактики инфекционных заболеваний. Разработка отечественной тест-системы для лабораторной диагностики нодулярного дерматита крупного рогатого скота (НД КРС) с применением современных молекулярно-генетических методов является значимой задачей, которая позволит выявить дезоксирибонуклеиновую кислоту (ДНК) вируса НД быстро и точно на ранних стадиях заболевания.

Одной из наиболее важных задач для ранней диагностики заболевания является разработка диагностических тест-систем на основе метода полимеразной цепной реакции (ПЦР). Разработка ПЦР тест-систем позволит не только обеспечить своевременной диагностикой заболевания, но и продвинет страну-производителя на новый, более высокий технологический уровень.

Научными сотрудниками лаборатории «Молекулярная биология и генная инженерия» разработана тест-система для лабораторной диагностики НД КРС методом ПЦР.

Тест-система для лабораторной диагностики нодулярного дерматита крупного рогатого скота методом полимеразной цепной реакции применяется для выявления дезоксирибонуклеиновой кислоты вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота в пробах патологического материала (фрагменты тканей (пораженная кожа) и органов, цельная кровь, мазки со слизистых ротоглотки).

Диагностика нодулярного дерматита высокочувствительной и специфичной тест-системой на основе ПЦР позволяет точно и очень быстро (5-6 часов) выявлять ДНК вируса нодулярного дерматита в пробах от крупного рогатого скота. При этом возможно одновременное исследование большого количества проб. Тест-система является эффективной для использования в лабораторных и научно-исследовательских учреждениях, занимающихся диагностикой вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота.

При диагностике заболевания с использованием тест-системы материалы с подозрением на нодулярный дерматит исследуются поэтапно методами молекулярной биологии – подготовка проб, выделение ДНК, постановка ПЦР, электрофоретический анализ продуктов амплификации ДНК в агарозном геле в строгом соответствии с инструкцией производителя.

В состав тест-системы для диагностики нодулярного дерматита крупного рогатого скота методом ПЦР, рассчитанной на проведение 55 анализов, включая контрольные пробы, входят три набора, для проведения этапов ПЦР-анализа:

- набор № 1 для выделения ДНК;
- набор № 2 для проведения ПЦР-амплификации участка ДНК;
- набор № 3 для электрофоретической детекции продуктов амплификации в агарозном геле.

Преимущества диагностической тест-системы:

- высокая специфичность**;**
- высокая чувствительность;
- скорость получения результатов исследования с применением ПЦР;
- относительная дешевизна;
- простота в применении;
- возможность диагностики вируса нодулярного дерматита на ранних стадиях.

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
Заведующей лабораторией
«Молекулярная биология и генная инженерия»
кандидату биологических наук,
профессору Султанкуловой К.Т.
Заместителю генерального директора НИИПББ
по производственной деятельности,
кандидату ветеринарных наук Касенову М.М.

Тел.: **+77263672228**
E-mail: **ribsp@biosafety.kz**

Подписано в печать ____._____.2021 г.
Формат 60х84 1/8. Усл. п.л 6,25.
Тираж 200 экз. Заказ № 529*.
Отпечатано в ТОО «Шаңырақ-Медиа».
г. Нур-Султан, ул. Кокарал, 2/1, тел. 87077770066.
www.smedia.kz