КЫРГЫЗ РЕСПУБЛИКАСЫНЫН УЛУТТУК ИЛИМДЕР АКАДЕМИЯСЫ
БИОТЕХНОЛОГИЯ ИНСТИТУТУ

КЫРГЫЗ РЕСПУБЛИКАСЫНЫН УЛУТТУК ИЛИМДЕР АКАДЕМИЯСЫ
БИЙИК ТОО ФИЗИОЛОГИЯСЫ жана МЕДИЦИНА ИНСТИТУТУ

Д 03.23.680 диссертациялык кеңеши

Кол жазма укугунда
УДК 578:821.2:831.2:274

Аманова Жанат Темирбаевна

МАЙДА КЕПШӨӨЧҮ ЖАНЫБАРЛАРДЫН КАРА ТУМООСУНА ЖАНА КОЙЛОРДУН КҮЛ ООРУСУНА КАРШЫ АССОЦИЯЛАНГАН ВАКЦИНАНЫ ДАЯРДОО ТЕХНОЛОГИЯСЫН ЖАКШЫРТУУ

03.01.06 – биотехнология

Биология илимдеринин кандидаты окумуштуулук
даражасын изденип алуу үчүн жазылган
диссертациянын автореферати

БИШКЕК – 2023

Иш Казакстан Республикасынын Саламаттык сактоо министрлигинин «Биологиялык коопсуздук проблемалары боюнча илимий-изилдөө институту» республикалык мамлекеттик ишканасында жана Кыргыз Республикасынын Улуттук илимдер академиясынын Биотехнология институтунда аткарылган.

Илимий жетекчи:	**Жунушов Асанкадыр Темирбекович** ветеринария илимдеринин доктору, профессор, КР УИАнын академиги
Расмий оппоненттер:	**Керимжанова Бакытжан Фазылжановна** ветеринария илимдеринин доктору, КазАЧИА жана РТИАнын академиги, Казахстан Республикасынын "Инфекцияга каршы препараттар илимий борбору" акционердик коомунун, эл аралык илимий байланыш бөлүмүнүн жетекчисинин орун басары **Акматова Эльмира Казакбаевна** биология илимдеринин доктору, профессор, Кыргызстан Эл аралык университетинин Эл аралык медицина мектебинин “Фундаменталдык дисциплиналар” кафедрасынын башчысы
Жетектөөчү мекеме:	«Федералдык вирусология жана микробиология илим изилдөө борбору» Федералдык мамлекеттик бюджеттик илимий мекемеси (ФВжМИИБ ФМБИМ) (Россия, Владимир областы, Петушинск району, Волгин айылы, Академик Бакулова көч., 1)

Диссертациянын коргоосу 2023-жылдын 27-ноябрында саат 15-00дө биология илимдеринин доктору (кандидаты) окумуштуулук даражасын коргоо боюнча Кыргыз Республикасынын Улуттук илимдер академиясынын Биотехнология институту жана Бийик тоо физиологиясы жана медицинасы институтуна караштуу Д 03.23.680 диссертациялык кеңешинин отурумунда өткөрүлөт, дареги: 720071, Бишкек ш., Чүй проспектиси, 265, 303-кабинет. Диссертацияны коргоодогу видеоконференциянын жеткиликтүү ссылкасы - https:// https://vc.vak.kg/b/032-kpg-yve-qhh.

Диссертация менен Кыргыз Республикасынын Улуттук илимдер академиясынын китепканасынан дареги: 720071, Бишкек ш., Чүй проспектиси, 265а жана диссертациялык кеңештин сайтынан http://vak.kg/rcl-groups/dissertacionnyy-sovet-d-03-23-680/ таанышууга болот.

Автореферат 2023-жылдын _______________ таркатылды.

Диссертациялык кеңештин
окумуштуу катчысы,
биология илимдеринин кандидаты Казыбекова А. А.

ИШТИН ЖАЛПЫ МҮНӨЗДӨМӨСҮ

Диссертациялык теманын актуалдуулугу. Майда кепшөөчү жандыктардын кара тумоо (МКЖКТ) жана кой күл (КК) ооруларынын географиялык таралышы акыркы жылдары олуттуу тынчсызданууну жаратууда, анткени алардын козгогучтарынын табылганын жарым кылымдык тарыхына, ошондой эле алдын алуу каражаттарын жана күрөшүү ыкмаларын иштеп чыгуу жана өркүндөтүүгө карабастан, бул оорулар дагы эле ветеринариянын башкы көйгөйлөрүнүн бири бойдон калууда (Аманова Ж. Т. ж. б., 2019).

Казакстан Республикасы жана Борбордук Азия өлкөлөрү үчүн бул эки оору ар дайым олуттуу биологиялык коркунуч жаратат. Ушуга байланыштуу, Казакстан Республикасынын ветеринардык кызматы бул оорулардын чек арага чектеш өлкөлөрдөн кирүүсүн алдын алуу максатында жыл сайын опурталдуу зонадагы койлорду жана эчкилерди тирүү моноваленттүү вакциналар менен эмдөөдө.

Эки моноваленттүү вакцинаны колдонуу ветеринардык адистерден жана малчылардан эки жолку вакцинанын алдын алуу компаниясын талап кылат, алар үчүн өзүнчө убакыт, эмгек жана каржылык чыгымдар талап кылынат. Ошондуктан, моноваленттүү вакциналарды колдонууда жана башка ветеринардык кийлигишүүлөрдү жүргүзүүдө көрсөтүлгөн жана башка терс көрүнүштөрдү болтурбоо максатында бир катар өлкөлөрдүн окумуштуулары (КТК, У.С.). 2015, Martrenchar, A. et all. 1997, Ayelet, G. et all. 2012, Chaudhary, S. S. et all. 2009, Константинов а.в., ж. б., 2018, Балышев в. м., ж. б., 2010) МЖЧ жана ККга каршы ассоциацияланган вакцинаны иштеп чыгышты.

Дүйнөдөгү МКЖКТ жана КК майда кепшөөчү жаныбарлардын (МКЖ) арасында эпизоотикалык кырдаалдын туруксуздугу, ошондой эле глобалдык масштабда МКЖКТна каршы күрөшүү бул изилдөөлөрдүн актуалдуулугун тастыктайт.

Биологиялык коопсуздук маселелери боюнча илимий-изилдөө институтунда (БКМИИИ) МКЖКТ жана ККга каршы ассоциацияланган вакцинаны даярдоо технологиясы иштелип чыкты. Бирок, эмгекти көп талап кылган өндүрүш технологиясы жана учурдагы МЖЧга каршы вакцинанын иммуногендүүлүгүнүн төмөндүгү вакцинанын өнөр жай сериясын алуу үчүн чыгымдардын көбөйүшүнө алып келди, бул вакцинанын баасына да таасирин тийгизет.

Ушуга байланыштуу колдонуудагы ассоциацияланган вакцинанын иммуногендүүлүгү төмөн даярдоо технологиясы менен байланышкан терс көрүнүштөрдү четтетүү максатында МКЖКТна жана ККне каршы ассоциацияланган вакцинаны даярдоо технологиясын өркүндөтүү жана анын иммунобиологиялык касиеттерин изилдөө зарылдыгы келип чыкты.

Диссертациянын темасынын билим берүү жана илимий мекемелер тарабынан жүргүзүлүүчү ири илимий программалар (долбоорлор), негизги илимий-изилдөөчүлүк иштери менен байланышы. Диссертациялык иш Казахстан Республикасынын Саламаттык сактоо министрлигинин республикалык мамлекеттик ишканасынын (РМИ) чарба жүргүзүү укугунда № ГР 0112РК00301 "Майда кепшөөчү жаныбарлардын чумасына жана койлордун чечегине каршы ассоциацияланган вакцинаны даярдоо технологиясын иштеп чыгуу" гранттык каржылоо долбоорлорунун алкагында аткарылган.

Изилдөөнүн максаты. МКЖКТна жана ККне каршы ассоциацияланган вакцинаны даярдоонун технологиясын өркүндөтүү боюнча илимий-изилдөө иштерин жүргүзүү жана анын иммунобиологиялык касиеттерин баалоо.

Изилдөөнүн милдеттери:

1. КК вирусунун НИСХИ штаммын Vero сиңирүү клеткасынын линиясына ылайыкташтыруу (Африка жашыл маймылынын бөйрөк клеткаларынын линиясы) жана анын иммунобиологиялык касиеттерин баалоо;
2. Vero клеткасында МКЖКТ жана КК вирусун өстүрүү үчүн шарттарды роллер ыкмасы менен өркүндөтүү;
3. МКЖКТ жана КК вирустарынын байланышкан суспензиясын даярдоо технологиясын өркүндөтүү жана эксперименталдык вакцина серияларын иштеп чыгуу;
4. Жакшыртылган вакцинанын иммунобиологиялык касиеттерин баалоо.
5. Ар кандай температура жана убакыт режимдеринде жакшыртылган вакцинанын туруктуулугун баалоо.
6. Өркүндөтүлгөн вакцинанын натыйжалуулугун МКЖКТна жана ККне каршы коммерциялык моновакциналар менен салыштыруу.
7. Даярдоо технологиясын, ошондой эле ага байланыштуу вакцинанын иммунобиологиялык касиеттерин баалоо, ченемдик-техникалык документтерди (ЧТД) иштеп чыгуу жана бекитүү үчүн комиссиялык сыноолорду өткөрүү.

Изилдөөнүн илимий жаңылыгы:

Биринчи жолу КК вирусунун НИСХИ штаммы сиңирилген Vero клеткасынын сызыгына ылайыкташтырылган. КК вирусунун НИСХИ штаммы сиңирилүүчү Vero клеткасынын линиясында көбөйүү учурунда вирусологиялык жана иммунобиологиялык касиеттерин сактап кала турганы аныкталды.

Казакстанда биринчи жолу МКЖКТ жана КК вирусуна каршы Nigeria 75/1 вирусунун НИСХИ штаммдарын колдонуп, МЖЧа жана ККне каршы вакцинаны даярдоо технологиясы иштелип чыкты.

Биринчи жолу МКЖКТна жана ККнө каршы вакцинанын 6-12 айлык койдо пайда болушу, МКЖКТна жана ККнө каршы 12 айга созулган коргонуу

иммундук жообу көрсөтүлдү, ошол эле учурда вакцинацияланган койлордо 100% эпизоотикалык МКЖКТ вирусунан 12 ай бою клиникалык жана вирусологиялык коргоо байкалды.

Изилдөөнүн жаңылыгы коргоо документтери менен тастыкталды «Майда кепшөөчү жаныбарлардын чумасына жана койлордун чечегине каршы вакцинаны даярдоо ыкмасы» (№28903) жана "Майда кепшөөчү жаныбарлардын чумасынын жана кой чечегинин ассоциацияланган биомассасынын вирустарын алуу ыкмасы" (№6883), Казахстан республикасынын Юстиция министрлигинин жана Улуттук интеллектуалдык менчик институту тарабынан берилди.

Алынган натыйжалардын практикалык маанилүүлүгү. Жүргүзүлгөн изилдөөлөрдүн жыйынтыктарынын негизинде Nigeria 75/1 жана НИСХИ штаммдарынан МКЖКТна жана ККнө каршы вакцинаны өндүрүү үчүн жакшыртылган технологиясы иштелип чыгып, Vero клеткасынын линиясында чагылдырылган. Иштелип чыккан технология майда мүйүздүү малдардын (МММ) МКЖКТна жана ККнө каршы зыяндуу, жогорку иммуногендик жана натыйжалуу ассоциаланган вакцинаны алууга мүмкүндүк берди. Вакцина препараты үчүн ЧТД иштелип чыкты жана бекитилди.

Алынган натыйжалардын экономикалык маанилүүлүгү. Бул вирустардын эт багытындагы малдын өндүрүмдүүлүгүнө зыяндуулугун, жашоо жөндөмдүүлүгүнө жана репродуктивдүү функциясынын төмөндөшүнө, териге жана жүнгө зыян келтирүүсүн ж.б. эске алуу менен МКЖКТ жана КК каршы вакцинаны келечекте колдонуу экономикада таасири өтө чоң.

Диссертациянын коргоого коюлуучу негизги жоболору:

1. Үзгүлтүксүз Vero клетка линиясында МКЖКТ жана КК роллдорун өстүрүү үчүн параметрлерди оптималдаштыруу.
2. Вакцинаны иштеп чыгуу үчүн МКЖКТ жана КК вирустарынын ассоциацияланган суспензиясын алуу жолдорун салыштырмалуу баалоо.
3. Табигый сезгич жаныбарларга МКЖКТ жана ККне каршы ассоциацияланган вакцинанын иммунобиологиялык касиеттерин баалоо.
4. МКЖКТна жана ККне каршы коммерциялык моноваленттүү вакциналарга ассоциацияланган вакцинанын иммуногендик натыйжалуулугун баалоо.

Изденүүчүнүн жеке салымы. Диссертациялык иштин бардык бөлүмдөрү автордун жеке катышуусу менен аткарылган. Иштелип чыккан вакцинанын иммунобиологиялык касиеттерин баалоого байланыштуу иштин белгилүү бир этаптарын аткарууга жардам берген биология магистри Д.С. Тарановго, PhD К.Д. Жугунисовко, б.и.к. З.Д Ершебуловго автор терең ыраазычылыгын билдирет.

Изилдөөнүн натыйжаларын апробациялоо. Диссертациянын негизги материалдары "Заманбап илимдин актуалдуу көйгөйлөрү – 2021" (Нур-Султан, 2021) эл аралык илимий конференциясында, "Агроөнөр жай комплексиндеги

ветеринардык фармациянын, экологиянын жана токсикологиянын теориясы жана практикасы" эл аралык илимий конференциясында, Санкт-Петербургдагы фармакология жана токсикология кафедрасынын 100 жылдыгына арналган (Санкт-Петербург, 2021), "Биология, биотехнология, экология жана биокоопсуздуктун актуалдуу маселелери" аттуу эл профессор В.Л. Зайцевдин 80 жылдыгына арналган аралык илимий конференцияда ардактуу окумуштуу, конференциясында (Гвардейский шаарчасы, 2015) баяндалган.

Диссертациянын натыйжаларынын басылып чыгарылышы. Диссертация темасы боюнча жүргүзүлгөн изилдөөлөрдүн натыйжалары 13 илимий эмгекте чагылдырылган, анын ичинде 2 макала Scopus жана Web of Science маалымат базасына кирген рецензияланган эл аралык журналдарда жарыяланган.

Диссертациянын түзүлүшү жана көлөмү. Диссертациялык иш төмөнкү бөлүмдөрдү камтыйт: киришүү, адабий баяндама, өздүк изилдөөлөрдүн натыйжалары жана аларды талкуулоо, корутунду жана колдонмо. Колдонулган адабияттардын тизмесинде 218 булак, анын ичинде 150 чет элдик авторлордун эмгектери бар. Иш 49 сүрөт жана 10 таблица менен сүрөттөлгөн.

ДИССЕРТАЦИЯНЫН НЕГИЗГИ МАЗМУНУ

Киришүүдө илимий иштин актуалдуулугун ачылып, изилденип жаткан көйгөйдү жана аны чечүүнүн зарылдыгын, МКЖКТ жана ККнө каршы ассоциацияланган вакцинаны даярдоо процессинде колдонулган ыкмаларды өркүндөтөт.

1-бап. Адабияттык баяндамада оорулардын тарыхына жана өзгөчөлүктөрүнө байланыштуу чет элдик жана ата мекендик адабияттардагы маалыматтар камтылган. МКЖКТ жана ККүн диагностикалоонун жеткиликтүү ыкмаларынын артыкчылыктары жана кемчиликтери сыпатталган жана дүйнөдөгү МКЖКТ жана КК боюнча эпизоотикалык кырдаалга талдоо келтирилген. Ооруларга каршы күрөшүү чаралары баяндалган, МКЖКТ жана ККке каршы атайын каражаттар жөнүндө кыскача маалымат берилген. МКЖКТ жана КК вирусуна сезгич биосистемалар жөнүндө адабий маалыматтар келтирилген.

2-бап. Изилдөөнүн материалдары жана методдору деген главада изилдөө объекттери, материалдар, реактивдер, жабдуулар мүнөздөлүп, эксперименталдык жаныбарлардын мүнөздөмөлөрү берилген жана жаныбарларды изилдөөгө тиешелүү этикалык нормалар баяндалган. Илимий эмгекте изилдөө методдору жана статистикалык анализ ыкмалары келтирилген.

Изилдөө объектиси. Изилдөөнүн объекттери болуп майда кепшөөчү жаныбарлардын чумасынын вирусу, кой чечегинин вирусу, майда мүйүздүү мал, Vero клеткасынын линиясы, ассоциацияланган вакцина болду.

Изилдөөнүн предмети.

1. МКЖКТ жана КК вирусунун вакцина штаммдарынын чөйрөсүнүн касиеттери.

2. МКЖКТ жана КК каршы вакцинаны даярдоо ыкмалары.

3. Табигый сезгич жаныбарларга иштелип чыккан ассоциацияланган вакцинанын натыйжалуулугу жана иммунобиологиялык касиеттери.

Изилдөөнүн методдору. МКЖКТ жана КК вирусун өстүрүү Vero клеткаларынын трансплантацияланган культурасында роллер ыкмасы менен жүргүзүлгөн. Клетка культурасы 0,01 жана 0,1 ТЦД50/кл дозаларында МКЖКТ жана КК вирустары менен ооруган. ДМЕМ чөйрөсү 2% инактивдештирилген бодо малдын сывороткасы жана 1% глутамин каражаты колдонулган. Вирустар (37,0±0,5)°С температурасында инкубацияланган.

Вакцина даярдоо. МКЖКТ жана КК вирусунун стерилдүү суспензиялары 1:1 катышында бириктирилген (бирдей антигендик жүктөрдө). Ассоциацияланган суспензияга алдын ала муздатылган 1:1 катышында (4±1)°С, коргоочу эритме (пептон-сахароза), пенициллин 500000 Б жана стрептомицин 0,5 г-1 $дм^3$ аралашмага кошулган. Идиштин курамы кылдаттык менен аралаштырылып, 2,0 $см^3$ стерилдүү ампулаларга өлчөөчү шприц - автоматтын жардамы менен куюлган.

Вакцинанын коопсуздугу курч жугуштуу оорулар үчүн коопсуз жана серонегативдүү болгон МКЖКТ жана КК вирустарын чарбалардан алынып келинген 6-12 айлык койлорго, лабораториялык жаныбарларга (коёндор жана ак чычкандар) текшерилди. Эксперименталдык жаныбарларды тери астына киргизүү ыкмасы менен эмдөө жүргүзүлдү. Ошол эле учурда, койлорго 5,0 $см^3$ вакцина (125 000 $ТЦД_{50}$), коёндорго 1,0 $см^3$ (25,000 $ТЦД_{50}$) жана ак чычкандарга 0,1 см3 (2500 $ТЦД_{50}$) дозасында сайылды. Изилдөөнүн жыйынтыгы боюнча, эксперименталдык жаныбарлар (кой, коён, ак чычкандар) тирүү болушу керек жана жаныбарлардын физиологиялык абалы клиникалык жактан дени сак жаныбарларга дал келиши керек.

Вакцинанын иммуногендүүлүгү 6-12 айлык койлордо бааланды. Эксперименталдык топтогу койлор 2,0 см3 көлөмүндө вакцинанын бир дозасы менен тери асты менен эмделди. Лиофилизацияланган ассоциацияланган вакцинанын бир жолку дозасында МКЖКТ жана КК вакциналык вирустарынын титрлери $10^{3,0}$ $ТЦД_{50}$/мл түздү. Контролдук топтун жаныбарлары эмдөөдөн өткөн жок.

Бардык эмделген жана контролдогу жаныбарлардан 360 күн бою (7, 14, 21, 30, 90, 180, 270 жана 360 күндүн ичинде) РН жана ИФА антителолорун текшерүү үчүн кан сывороткалары алынды. Вирустук жүктү 14 күн бою

көзөмөлдөө үчүн тампондор (мурун, конъюнктива, ооз жана ректалдык), ошондой эле кан үлгүлөрү алынган, алар ПЦР тест системалары менен анализделди.

Контролдук сыноолор 7, 14, 21, 30, 90, 180, 270 жана 360 күндүк эмдөөдөн өткөрүлдү. Ошол эле учурда, жаныбарлардын эки тобу (эмделген жана эмделбеген койлор) топчолорго бөлүндү, анткени сыноолордо МКЖКТ жана КК вирусунун контролдук штаммдары колдонулду.

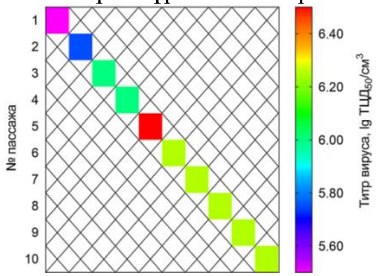
МКЖКТ вирусуна контролдук сыноолорду жүргүзүү үчүн тандалып алынган вакцинацияланган (I(а)) жана контролдук (II(а)) койлорго далынын терисине Кентау-7 вирусунун контролдук штаммын $1,0 \times 10^{5,0}$ $ТЦД_{50}$/мл дозада жуктурулду.

КК вирусуна контролдук сыноолорду жүргүзүү үчүн тандалып алынган вакцинацияланган (I(а)) жана контролдук (II(а)) койлорго куйруктун бүктөлгөн жеринде интрадермалдык жол менен контролдук штаммын $1,0 \times 10^{4,5}$ $ТЦД_{50}$/мл дозада жуктурулду.

Контролдук сыноолор аяктагандан кийин, эксперименталдык жаныбарлар экинчилик инфекцияны болтурбоо үчүн антибиотиктер менен дарыланды, оорунун орточо оордугуна жеткен жаныбарлар гумандуу эвтаназияга дуушар болушту.

Статистикалык анализдер GraphPad Prism 8.0.1 версиясын колдонуу менен аткарылган. Жаныбарлардын дене температурасынын орточо мааниси, серологиялык маалыматтар жана клиникалык баалоо орточо көрсөткүчтүн стандарттык катасын алып салуу менен эсептелген. Бардык жарыяланган маанилердин мааниси биринчи критерий боюнча босого мааниден төмөн болгон жок ($P < 0,05$).

3-бап. Жеке изилдөөлөрдүн жыйынтыктары жана аларды талкулоо. Илимий изилдөөлөрдүн биринчи баскычы КК вирусунун НИСХИ штаммын трансплантацияланган Vero клеткасынын линиясына ылайыкташтыруу жана анын иммунобиологиялык касиеттерин баалоо болду. КК вирусунун НИСХИ штаммын Vero клеткасынын линиясына ылайыкташтыруу боюнча иш 10 катары менен өттү. Натыйжалар 1-сүрөттө келтирилген.



3.1 – сүрөт. Бөлүү деңгээлине жараша Vero клеткалык культурасында НИСХИ штаммынын топтолушунун динамикасы

Алынган изилдөөлөрдүн жыйынтыктарынын негизинде кийинки эксперименттерди жүргүзүү үчүн 5- пассажда 6,50 Ig $ТЦД_{50}/см^3$ вирус титри менен алынган вирус камтыган материл (ВКМ) колдонулган. КК вирусунун ДНКсы бар экендиги үчүн ПЦР ыкмасы менен 5-пассаждагы үлгүнү изилдегенде, вирустук материал КК вирусуна мүнөздүү болуп чыкты.

Кийинки тажрыйбалардын КК ВКМ сериясында биологиялык активдүүлүгү 6,50 Ig $ТЦД_{50}$/мл, 5-пассаждык деңгээлде алынган (5% -3%) стабилдештирүүчү пептон-сахароза чөйрөсүнүн айкалышы менен бириктирилип жана лиофилизация ыкмасы менен кургатылды. Натыйжада, биологиялык активдүүлүгү 6,25 Ig $ТЦД_{50}$/мл болгон НИСХИ стерилденип, лиофилденген штаммы алынды.

3 койго вирус 2,0 $ 105,0 $ТЦД_{50}$ дозасында тери астына сайылганда КК вирусунун НИСХИ штаммы койлор үчүн зыянсыз болуп чыкты. Иммунизацияланган койлордун ректалдык температурасы нормалдуу чектерде болгон.

Vero клеткаларынын сиңирүү культурасына ылайыкташтырылган КК вирусунун НИСХИ штаммы $2,0×10^{5.0}$ $ТЦД_{50}$ дозада 3 койго зыянсыз болду. 30 күн бою эксперименталдык жаныбарлар кадимки жүрүм-турумду жана тамактанууну сактап турушту. Иммунизацияланган койлордун ректалдык температурасы нормалдуу чектерде болду.

НИСХИ штаммынын иммуногенетикасын баалоодо койлордун эксперименталдык топтору (3 топтун ар биринде 3 баш кой) $1,0×10^{3.0}$ $ТЦД_{50}/см^3$ дозасында иммунизацияланды. Жаныбарлардын эксперименталдык топторуна НИСХИ штаммы киргизилгенден кийин 7, 14 жана 21 күндөн кийин, гомологдук агенттерге вирусту нейтралдаштыруучу антителолордун (ВНА) титрлери 1,8-4,33 log_2 диапазонунда болду. Контролдук койлордун топторунун канында (3 топтун ар биринде 2 баш кой) КК вирусуна антителолор жок болчу.

Койлордун эки тобунун тең А вирустук штаммы менен жуктурууда, тажрыйба тобундагы койлор 14 күндүк байкоо мөөнөттө ККнин вирусуна туруктуу экени аныкталган, ал эми эмделбеген койлор клиникалык белгилери менен ооруп калышкан.

Алынган маалыматтарды анализдөө менен, НИСХИ штаммы өзүнүн вирусологиялык жана иммунобиологиялык касиеттерин Vero клетка линиясында сактайт деген тыянак чыгарууга болот.

Vero роллердик ыкмасы менен клетка культурасында МКЖКТ жана КК вирустарын көбөйүүсүнүн оптималдуу параметрлерин тандоо. МКЖКТ жана КК вирустарынын көбөйүү (репродуктивдүү) касиеттерин баалоо үчүн пробиркада өстүрүлгөн 2 күндүк Vero клеткаларынын культурасы колдонулган. Клетка культурасы МКЖКТ жана КК вирустары менен 0,001ден 1,0 ТЦД50/клеткага чейин, вирустун ар бир дозасы үчүн 5 түтүккө менен

эмделди. МКЖКТ жана КК вирустары менен эмделген түтүктөр 7-10 күн бою туруктуу температурада (37 ± 0,5) ° С болгон термостатка жайгаштырылды.

Изилдөөнүн натыйжасында, Vero клеткасынын культурасында роллердик өстүрүү учурунда Нигериянын 75/1 (6,67 Ig $ТЦД_{50}$/см3) штаммынын максималдуу топтолушу 0,01 $ТЦД_{50}$/кл инфекциялоочу дозада белгиленди, ал эми НИСХИ штаммынын эң чоң активдүүлүгү (6,42 Ig $ТЦД_{50}$/см3) вирустун инфекцияланган дозасында 0,1 $ТЦД_{50}$/кл инфекциялоочу дозада байкалган.

МКЖКТ жана КК вирусун өстүрүүнүн узактыгы бул вирустарды Vero клеткасынын культурасында роллер ыкмасы менен 1-10 күн (37±0,5)°С температурасында өстүрүп, андан кийин инфекциялык активдүүлүгүн аныктоо менен жогоруда аталган биосистемада микротитирлөө методу менен аныкталды.

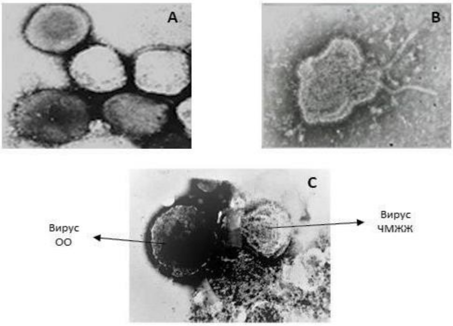
Vero клеткаларынын сиңирүү культурасында МКЖКТ вирусун роллердик өстүрүү учурунда жүргүзүлгөн иштердин натыйжасында, 4-5 күн бою өстүрүлгөн вирустун максималдуу чыгышы (6,50 Ig $ТЦД_{50}/см^3$) байкалып, ал эми ОО вирусунун эң жогорку чыгышы культивациялоонун 5-6 күнүндө белгиленди (6,25 Ig $ТЦД_{50}/см^3$).

Ошентип, МКЖКТ жана КК вирустарын өз-өзүнчө өстүрүүдө культивациялоонун оптималдуу параметрлери аныкталды, мында МКЖКТ жана КК вирусун жуктуруунун оптималдуу дозасы тиешелүү түрдө 0,01 жана 0,1 $ТЦД_{50}$/кл түздү; вирустарды культивациялоо мөөнөтү 4-5 жана 5-6 күндү түздү (тийиштүүлүгүнө жараша); колдоочу чөйрөнүн курамындагы сыворотканын оптималдуу концентрациясы 2,0% ды түздү.

Vero клетка культурасында бирге өстүрүлгөн МКЖКТ жана КК вирустарынын репродуктивдүү касиеттерин изилдөө жана вирустук агенттердин ортосундагы интерференциянын бар экендигин аныктоо. Nigeria 75/1 вакцина штаммдарынын жана МКЖКТ жана КК НИСХИI вирустарынын Vero клеткаларынын үзгүлтүксүз культурасында өз ара аракеттенүүсү, аларды бир убакта жана интервалдуу системага вирустарды бирдей көп сандагы инфекцияны (0,01 $ТЦД_{50}$/кл) киргизүү менен биргелешип өстүрүү аркылуу изилденди.

Биосистемада 5 жана 6 күндүн ичинде МКЖКТ жана КК вирустарын өзүнчө өстүрүүнүн натыйжасында, вирустардын биологиялык активдүүлүгү 6,42 6,67 Ig $ТЦД_{50}/см^3$ жана 6,08 6,67 Ig $ТЦД_{50}/см^3$ чейин жеткен. Биосистемага вирустарды 1:1 катышында бир убакта МКЖКТ жана КК вирус киргизүү 5,50 lg $ТЦД_{50}/см^3$ жана 5,83 lg $ТЦД_{50}/см^3$ (тиешелүүлүгүнө жараша) чейин титрлерин төмөндөтүүгө алып келди. Бул учурда, вирусту өстүрүү узактыгы 6-7 күн болду. Вирустун инфекциялык активдүүлүгүнүн титри биосистемага 3 күн аралыкта МКЖКТ вирусун, андан кийин КК вирусун өз-өзүнчө киргизүүдө 5,17 lg $ТЦД_{50}/см^3$ жана 5,50 lg $ТЦД_{50}/см^3$ чейин кыскарган, мында вирустарды өстүрүү мезгили 9 күнгө чейин көбөйгөн.

Электрондук микроскоптун жардамы менен кийинки изилдөөлөрдү бир биосистемада чогуу өстүрүүдө вирустук агенттердин ортосунда интерференция бар экенин аныкталды. Электрондук-микроскопиялык изилдөөлөрдүн жыйынтыктары 2-сүрөттө берилген (А, В, С).



3.2 - МКЖКТ жана КК вирустарынын электрондук микроскопиясы. Терс контраст менен чоңойтуу x100,000. (A) КК вирусу; (B) МКЖКТ вирусу; (C) МКЖКТ жана КК вирустарынын аралашмасы.

Электрондук микроскопиялык изилдөөлөрдүн натыйжасында МКЖКТ жана КК вирус камтыган (ВК) тандалган үлгүлөрүндө, ошондой эле МКЖКТ жана КК суспензияларынын тиешелүү үлгүлөрүндө эч кандай дефект интерференциялоочу бөлүККөлөр табылган жок, бул бир эле биосистемада МКЖКТ жана КК вирустарын бирге өстүрүү мүмкүнчүлүгүн көрсөттү.

Vero клетка культурасында роллер методу менен МКЖКТ жана КК вирустарынын репродукциялоо үчүн оптималдуу параметрлерди тандоо. МКЖКТ жана КК вирусунун биологиялык активдүүлүгүнө инфекциянын көп түрдүүлүгүнүн таасирин аныктоо максатында, роллер идиштеринде өстүрүлгөн Vero клетка культурасы бир эле учурда аталган вирустар менен 1,0 ТЦД$_{50}$/кл дозаларында жуккан; 0,1 ТЦД$_{50}$/кл; 0,01 ТЦД$_{50}$/кл; 0,001 ТЦД$_{50}$/кл жана 2 күндөн кийин чөйрөнү алмаштыруу менен (37 ± 0,5) °С температурада өстүрүлдү. Клеткаларды вирустар 85-90% жок кылганда вирустун инкубациясы токтотулган.

Изилдөөлөрдүн натыйжасында МКЖКТ жана КК вирустарынын максималдуу чыгышы (5,75 lg ТЦД$_{50}$/см^3 жана 6,08 lg ТЦД$_{50}$/см^3 тиешелүүлүгүнө жараша**)** 0,01 ТЦД$_{50}$/кл дозасында Vero клетка культурасын жуктурганда байкалды.

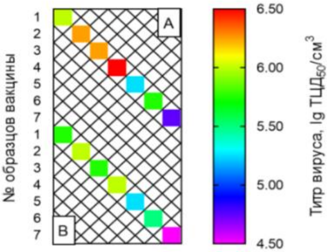
МКЖКТ жана КК вирустарын биргелешип өстүрүүнүн узактыгы биосистеманы бул вирустар менен бир убакта тиешелүү түрдө 0,01 ТЦД$_{50}$/кл дозасында жуктуруу жолу менен жана (37 ± 0,5) °С температурада культивациялоодо 2 күндөн кийин өзгөрүшү менен жүрдүү. Натыйжада

Veroнун клетка линиясында МКЖКТ жана КК вирустарын биргелешип өстүрүүнүн узактыгы 6-7 күн экени аныкталды.

Vero клетка культурасындагы МКЖКТ жана КК вирустарын камтыган үлгүлөрдү салыштырмалуу баалоо. Vero клетка культурасында МКЖКТ жана КК вирустарын өзүнчө жана биргелешип өстүрүүнүн мурда иштелип чыккан параметрлери боюнча изилдөөлөрдү жүргүзүү үчүн бул вирустардын кармалган үлгүлөрү (ВКҮ) иштелип чыккан. Жүргүзүлгөн иштердин натыйжасында эки вирусту өз-өзүнчө өстүрүү менен алынган ВКҮдө МКЖКТ жана КК вирусунун активдүүлүгү (6,67 lg ТЦД$_{50}$/см^3 жана 6,33 lg ТЦД$_{50}$/см^3**)** титрге салыштырмалуу суспензиядан (5,50 lg ТЦД$_{50}$/см^3 жана 5,83 lg ТЦД$_{50}$/см^3**)** жогору экендиги аныкталды.

Эксперименттик ассоциацияланган вакцинаны даярдоо үчүн МКЖКТ жана КК вирустары кармалган үлгүлөрдү иштеп чыгууда Vero клетка культурасына МКЖКТ жана КК вирустарын өзүнчө өстүрүү жолу менен ишке ашырылды. Аткарылган иштердин натыйжасында биологиялык активдүүлүгү 6,67 lg ТЦД$_{50}$/см^3 жана 6,25 lg ТЦД$_{50}$/см^3 болгон стерилдүү МКЖКТ жана КК вирустары кармалган үлгүлөрү өндүрүлдү.

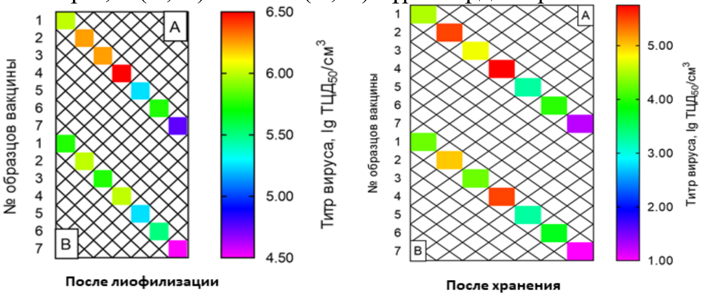
Ассоциацияланган вакциналардын эксперименталдык үлгүлөрүн даярдоо үчүн ар кандай турукташтыруучу чөйрөлөрдүн касиеттерин изилдөө. Буга чейин даярдалган МКЖКТ ВКУ жана КК ВКУ бир бөлүгү 1:1 катышында бириктирилди. Натыйжадагы байланышкан суспензия 100 см3 кадамдар менен бөлүштүрүлдү жана бирдей көлөмдө (1:1) стабилдештирүү каражаттарынын (6 формула) ар кандай комбинациялары менен айкалыштырылды жана сублимация жолу менен кургатылган. Түпнуска жана кургатылган материалдардын титрлеринин айырмасы текшерилген чөйрөнүн коргоочу касиеттерин баалоо үчүн колдонулган (сүрөт 3. А жана В).



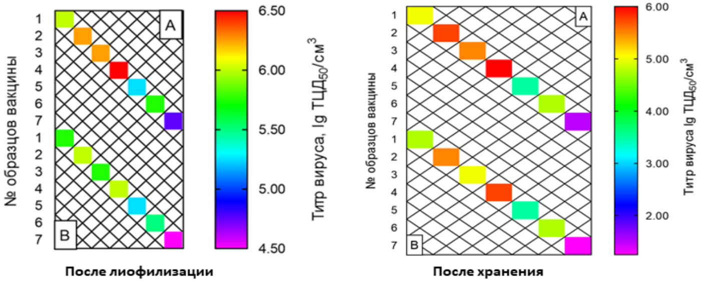
3.3–сүрөт. Лиофилизациядан кийин сыналган чөйрөлөрдүн протективдүүлүгү (n=3). (А) – вакцина үлгүлөрүн лиофилизациялоодон кийин МКЖКТ вирусунун титрлери; (В) – вакцина үлгүлөрүн лиофилизациялоодон кийин КК вирусунун титрлери.

Иштин жүрүшүндө лиофилизацияланганда пептон (5%) жана сахарозанын (3%) комбинациясын камтыган №4 вакцина үлгүсү эң жакшы коргоочу касиетке ээ экени аныкталган.

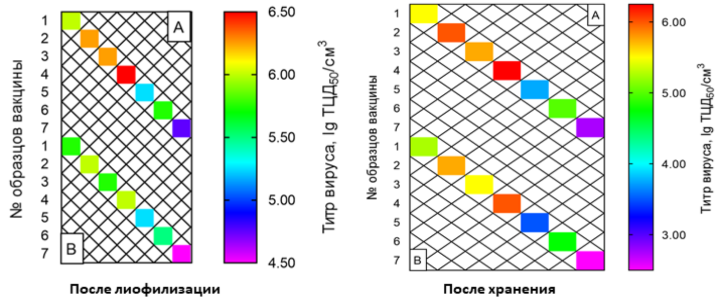
Кыска мөөнөттүү жана узак мөөнөттүү сактоодо эксперименталдык вакцинанын сакталышын изилдөө. Вакцина үлгүлөрүн төмөнкү температуралык жана убакыттык шарттарда сактоодо стабилдештирүү чөйрөлөрүнүн коргоочу касиеттери изилденди: (35-37)ºС, (20-22)ºС 5 жана 7 күн (тиешелүүлүгүнө жараша), ошондой эле температурада (2-8)ºС жана (-20)ºС 12 айдын ичинде. Активдүүлүктүн төмөндөшүнүн даражасы баштапкы жана сакталган материалдагы титрдин айырмасы менен бааланган. Натыйжалар 4, 5 (А, В) жана 6. (А, В) сүрөттөрдө берилген.



3.4 – сүрөт. (35-37)ºС температурада МКЖКТ жана КК каршы тиешелүү вакцина үлгүлөрүнүн сакталуусу (n=3). (А) – вакцина үлгүлөрүн лиофилизациялоодон жана сактоодон кийинки МКЖКТ вирусунун титрлери; (В) – вакцина үлгүлөрүн лиофилизациялоодон жана сактоодон кийин КК вирусунун титрлери.



3.5 – сүрөт. (20-22)°С температурада МКЖКТ жана КК каршы тиешелүү вакцина үлгүлөрүнүн сакталуусу (n=3). (А) – вакцина үлгүлөрүн лиофилизациялоодон жана сактоодон кийинки МКЖКТ вирусунун титрлери; (В) – вакцина үлгүлөрүн лиофилизациялоодон жана сактоодон кийин КК вирусунун титрлери.



3.6 – сүрөт. (2-8)°С температурада МКЖКТ жана КК каршы тиешелүү вакцина үлгүлөрүнүн сакталуусу (n=3). (А) – вакцина үлгүлөрүн лиофилизациялоодон жана сактоодон кийинки МКЖКТ вирусунун титрлери; (В) – вакцина үлгүлөрүн лиофилизациялоодон жана сактоодон кийин КК вирусунун титрлери.

Изилдөөлөрдүн жыйынтыгында тиешелүү вакцинанын үлгүлөрүн (35-37)ºС, (20-22)ºС температурада 5 жана 7 күн бою кыска мөөнөттө сактоодо №4 вакцина үлгүлөрү пептондун (5%) жана сахарозанын (3%) коргоочу чөйрөлөрүнүн айкалышын камтыган эң мыкты коргоочу касиетке ээ экендиги аныкталган. Бул вакцина үлгүсүнүн термикалык туруктуулугу плюс (35-37)°С температурада 5 күн жана (20-22)°С температурада 7 күн болгон.

Тиешелүү вакцинанын үлгүлөрүн 12 ай сактоо менен (2-8)°С температурада №4 үлгүдөн башка вакцинанын бардык үлгүлөрүндө МКЖКТ жана КК вирусунун жоголушу байкалган, ал эми (-20)°С сактоо температурасында төмөндөшү байкалган, ал эми МКЖКТ жана КК вирустарынын активдүүлүгү байкалган эмес.

МКЖКТ жана КК каршы тиешелүү вакцинанын эксперименталдык лабораториялык серияларын даярдоо. МКЖКТ жана КК вирустарынын активдүүлүгү менен ассоциаланган вакцинанын 3 эксперименталдык сериясы 6,33 жана 6,00 lg ТЦД$_{50}$/см^3 ылайык даярдалды. Кургатылган ассоциаланган вакциналар боздон ачык күрөңгө чейин бирдей таблетка түрүндө болгон.

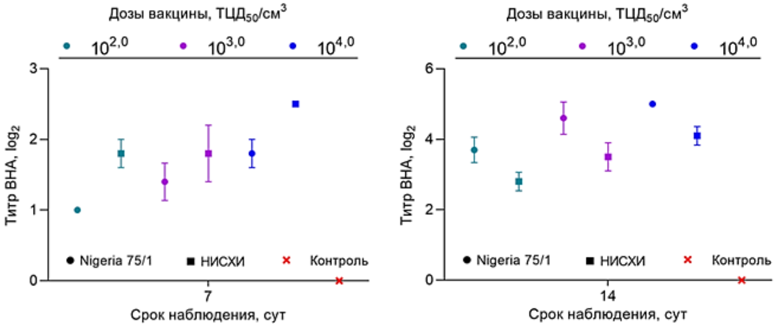
МКЖКТ жана КК каршы тиешелүү вакцинанын даярдалган эксперименталдык үлгүлөрү стерилдүү болуп, физиологиялык эритмеде 60 секунданын ичинде эрип, вакциналардын орточо pH=7,2 болуп, вакциналардагы нымдуулуктун массалык үлүшү 4% түздү.

МКЖКТ жана КК каршы эксперименталдык ассоциацияланган вакцинанын коопсуздугун жана реактогендүүлүгүн баалоо. Койлорго, коендорго жана ак чычкандарга 125 000 ТЦД$_{50}$, 25 000 ТЦД$_{50}$ жана 2500 ТЦД$_{50}$ дозаларында эксперименталдык ассоциацияланган вакцинаны тери астына киргизүүдө 10-14 күндүн ичинде жаныбарларда физиологиялык нормадан

четтөө белгилерин жаратпастыгы, бул иштелип чыккан вакцинанын зыянсыздыгын көрсөтөт.

МКЖКТ жана КК каршы эксперименталдык ассоциацияланган вакцинанын оптималдуу иммундаштыруучу дозасын аныктоо.

Оптималдуу иммунизациялоочу дозаны (ИмД) аныктоо үчүн ар кандай иммунизациялоочу дозалары бар эксперименталдык ассоциацияланган вакцинанын 3 үлгүсү колдонулуп: 102,0; 103,0 жана 104,0 ТЦД$_{50}$, алар жаныбарлардын 3 тобуна киргизилген. 50% ИмД$_{50}$ вакцинасын аныктоонун негизинде оптималдуу ИмД ассоциацияланган вакцина аныкталды. Изилдөөнүн натыйжалары 7-сүрөттө берилген.



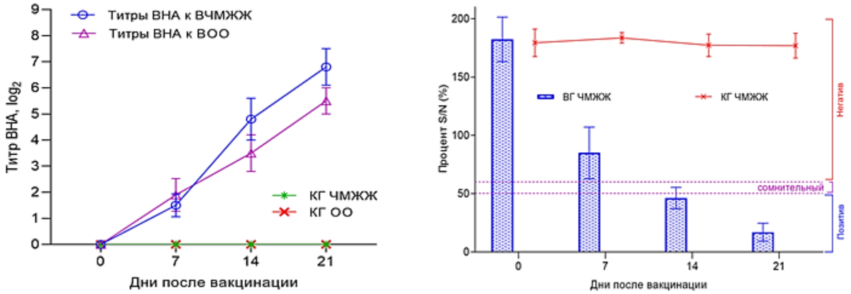
3.7 – сүрөт. МКЖКТ жана КК каршы ИмД$_{50}$ менен ассоциацияланган вакцинаны аныктоо.

Изилдөөнүн натыйжасында вакцинанын оптималдуу ИмД аныкталды, ал МКЖКТ жана КК вирусу үчүн 103,0 ТЦД$_{50}$/см^3 болду.

Вакцинацияланган малда иммунитеттин пайда болуу мөөнөтүн жана узактыгын аныктоо. МКЖКТ жана КК каршы ассоциацияланган вакцинанын иммуногендүүлүгүн аныктоо үчүн 32 баш койлорго $10^{3,0}$ ТЦД$_{50}$/мл дозада вакцина менен тери астына иммунизацияланган.

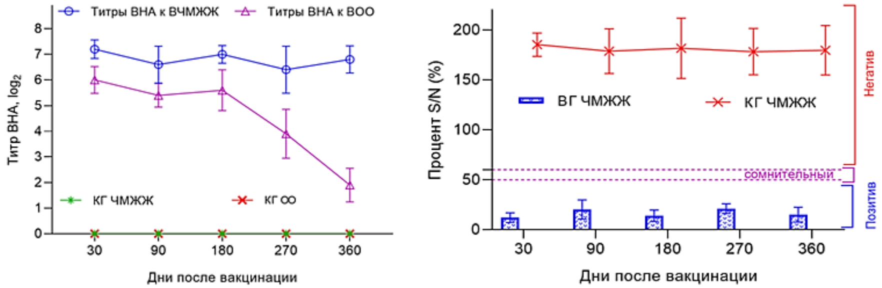
Серологиялык изилдөөлөрдүн натыйжасында эмдөөнүн 21-күнүндө 100% коргоочу ВНА титрлери аныкталган, ошол эле учурда МКЖКТ жана КК вирусуна карата орточо ВНА титрлерине ылайык 6,8 log$_2$ жана 5,5 log$_2$ ге чейин жеткен. Койлордун контролдук топторунда кандын сарысуусунда эки вируска тең антителолор болгон эмес.

Ифадагы МКЖКТ вирусуна антителолор бар экендигине иммунизацияланган койлордун кан сарысуусу боюнча кошумча изилдөөлөрдүн анализи эксперименталдык топтогу койлор эмдөөнүн 21-күнүндө эпизоотиялык МКЖКТ вирусунан 100% корголгонун көрсөттү, анткени орточо көрсөткүч 17% га чейин төмөндөгөн. Изилдөөнүн толук жыйынтыктары 8-сүрөттө берилген.



3.8 – сүрөт. Ассоциацияланган вакцина менен эмдөөдөн кийин эксперименталдык жана контролдук койлордун топторундагы антителолордун топтолушу.

Иммунизацияланган койлордун кан сарысуусундагы МКЖКТ вирусуна карата ВНА титринин эң жогорку чеги (7,2 log_2) эмдөөнүн 30-күнүндө аныкталган. Көрсөтүлгөн ВНА титри эмдөөнүн 360-күнүнө чейин бир аз термелүү (P≥0,05) менен сакталды (9-сүрөт).



3.9 – сүрөт. Ассоциацияланган вакцина менен эмдөөдөн кийин эксперименталдык жана контролдук койлордун топторундагы антителолордун кармалышынын узактыгы.

Вакцинацияланган койлордо КК вирусуна карата орточо ВНА титринин чокусу (6,00 log_2) эмдөөдөн бир ай өткөндөн кийин байкалган. Эмдөөнүн 30-күнүндө өндүрүлгөн ВНА 6 айга чейин сакталды (P≥0,05). Андан кийин КК вирусуна антителолордун титринин туруктуу төмөндөшү байкалып, тажрыйбанын аягында (360 күндөн кийин) антителолордун деңгээли 1,9 log_2 болгон (9-сүрөттү караңыз).

Атаандаш ИФА (c-ELISA) ыкмасы менен эмделген жаныбарлардын кан сарысуусун изилдөө бардык эмделген жаныбарларды изилдөөнүн аягына чейин (360 күн) МКЖКТ вирусунан коргоону көрсөттү.

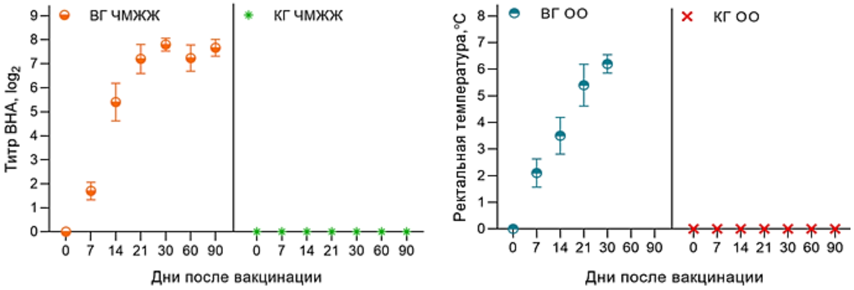
Вакцинацияланган койлордун вируленттүү МКЖКТ жана КК вирустары менен күрөшүүгө туруктуулугун текшерүүдө вакциналанган койлордо бул оорулардын клиникалык белгилери байкалган жок, алардын ректалдык температурасы нормалдуу чектерде болду. Вирусту контролдоо менен эмделген койлордун бардыгында МКЖКТ жана КК вирусуна мүнөздүү клиникалык белгилер байкалган.

Жүргүзүлгөн изилдөөлөрдүн натыйжасында иштелип чыккан ассоциацияланган вакцина койлорду $10^{3,0}$ ТЦД$_{50}$/мл дозада бир жолу иммунизациялоодо 7-күндөн баштап КК каршы жана 14-күндөн баштап 1 жылга чейинки МКЖКТга каршы чыңалган иммунитетти пайда кылаары аныкталган. Ошол эле учурда эмделген койлордун 100% МКЖКТ вирусуна каршы коргонуу иммунитети 12 ай бою сакталды.

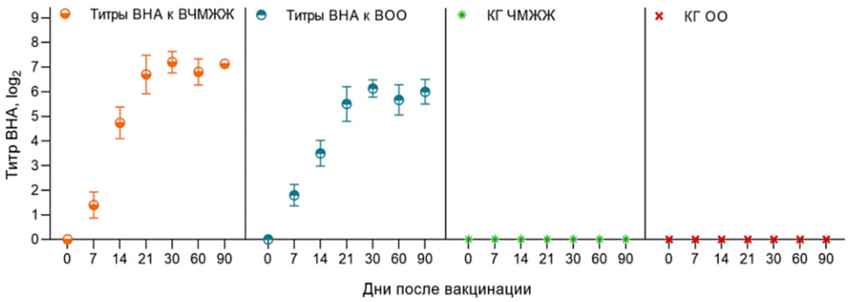
МКЖКТ жана КК каршы эксперименталдык ассоциацияланган вакцинанын жана моновакцинанын натыйжалуулугун салыштырма баалоо.

Изилдөө иштеринин жүрүшүндө 9 баш койлордон турган 3 эксперименталдык жана 6 баш койлордон 2 контролдоо тобу түзүлдү. Койлордун биринчи тобуна МКЖКТго каршы моновалентүү вакцина, экинчи топко ККнө каршы моновалентүү вакцина жана үчүнчү топко МКЖКТ жана ККне каршы **ассоциацияланган** вакцина коюлган. Иммунизация тери астына $10^{3,0}$ ТЦД$_{50}$/см^3 дозада сайылды. Контролдук инфекция эмдөөдөн кийин 1, 2 жана 3 айдан кийин жүргүзүлдү.

Вакциналардын натыйжалуулугу эмделген жаныбарлардын контролдук МКЖКТ жана КК вирустары менен ооруганда ооруга туруштук берүү жөндөмдүүлүгү, ошондой эле эмделген жаныбарлардын кан сары суусунда ВНА топтолуу деңгээли боюнча бааланды (10 жана 11-сүрөт).



3.10 – сүрөт. МКЖКТжана ККө каршы моновакцина менен иммунизацияланган койлордо ВНА пайда болуу динамикасы.



3.11 – сүрөт. Ассоциаланган МКЖКТ вакцинасы менен иммунизацияланган койлордо антителолордун пайда болуусу.

Контролдук сыноолордун жыйынтыгы көрсөткөндөй, бардык иммунизацияланган эксперименталдык жаныбарлар 14 күндүн ичинде (байкоо мөөнөтү) контролдук МКЖКТ жана КК вирустарына туруктуулугун көрсөттү.

Изилдөөлөрдүн жыйынтыгында, иштелип чыккан ассоциацияланган вакцина иммуногендүүлүгү боюнча бул инфекцияларга каршы коммерциялык моноваленттүү вакциналардан кем калбаганы, ошол эле учурда МКЖКТ жана КК каршы алдын алуунун пайдалуу каражаты экендиги аныкталды.

МКЖКТга жана ККне каршы ассоциацияланган вакцинаны иштеп чыгууга багытталган лабораториялык изилдөөлөрдүн циклинин акыркы этабы вакцинанын физикалык жана иммунобиологиялык касиеттерин, ошондой эле пилоттук өндүрүш шарттарында даярдоо технологиясын баалоо үчүн вакцинага комиссиялык сыноолорду жүргүзүү болду (УМИББнын Башкы директорунун 2014-жылдын 31-январындагы № 10б буйругу).

МКЖКТга жана ККнө каршы ассоциацияланган вакцинаны өндүрүү үчүн иштелип чыккан технологиясы илимий-техникалык документацияда көрсөтүлгөн долбоордун талаптарына толук жооп берет.

КОРУТУНДУ

1. НИСХИ штаммы КК вирусу үзгүлтүксүз Vero клетка линиясына ылайыкташтырылган жана анын иммунобиологиялык касиеттери аныкталды;
2. Vero клетка линиясында МКЖКТ жана КК вирусун ролл ыкмасы менен өстүрүү шарттары аныкталды;
3. МКЖКТ жана КК вирустарынын ассоциацияланган суспензиясын даярдоо технологиясы жакшыртылды жана вакцинанын эксперименталдык партиялары чыгарылды;
4. Даярдалган ассоциацияланган вакцина койлор, коёндор жана ак чычкандар үчүн зыянсыз жана ареактогендик экендиги аныкталган. Ассоциацияланган вакцина менен эмделген жаныбарларда иммунитет МКЖКТ каршы 14-күнү, ККнө каршы 7-күнү эмдөөдөн кийин 12 айга

созулган. Ошол эле учурда эмделген жаныбарларда МКЖКТ вирусуна каршы антителолордун коргоочу титрлери 12 айга чейин сакталды;
5. МКЖКТ жана ККгө каршы иштелип чыккан ассоциацияланган вакцина 12 ай бою (2-8) °С туруктуу бойдон калууда;
6. Өркүндөтүлгөн технологияны колдонуу менен даярдалган ассоциацияланган вакцина иммуногендүүлүгү боюнча МКЖКТ жана ККнө каршы коммерциялык моноваленттүү вакциналардан кем калбаганы, ошону менен бирге профилактиканын кыйла эффективдүү каражаты экендиги аныкталды;
7. МКЖКТ жана ККнө каршы ассоциацияланган вакцинаны даярдоо технологиясына, физикалык жана иммунобиологиялык касиеттерине комиссиялык сыноолор жүргүзүлдү, алардын жыйынтыгы боюнча вакцина препаратына илимий-техникалык документтер иштелип чыкты жана бекитилди.

ПРАКТИКАЛЫК СУНУШТАР

МКЖКТ жана ККнө каршы ассоциацияланган вакцинаны өндүрүүнүн өркүндөтүлгөн технологиясын ММЖ үчүн зыянсыз жана эффективдүү вакцинаны даярдоо үчүн биологиялык өнөр жайда колдонуу сунушталууда.

Вакцина препаратына ИТД комплекси иштелип чыкты жана бекитилди:

1. Вакцина препаратын уюштуруу стандарты СТ 405-1919-04 ГП-083-2014. Чакан мүйүздүү малдардын чечегине жана койлордун күлүнө каршы ассоциацияланган вакцина.

2. Чакан мүйүздүү малдардын чумасына жана кой күлүнө каршы ассоциацияланган вакцинаны даярдоо жана контролдоо боюнча убактылуу нускамалар.

3. Чакан мүйүздүү малдардын чумасына жана кой күлүнө каршы ассоциацияланган вакцинаны колдонуу боюнча убактылуу көрсөтмө.

ДИССЕРТАЦИЯНЫН ТЕМАСЫ БОЮНЧА ЖАРЫККА ЧЫККАН ЭМГЕКТЕРДИН ТИЗМЕСИ

1. Пат. №28903 Казахстан, МПК: A61K 39/12, C12N 7/00. Способ изготовления ассоциированной вакцины против чумы мелких жвачных животных и оспы овец [Текст] / А.Р. Сансызбай, К.Б. Баракбаев, Е.О. Абдураимов, Е.А. Булатов, Ж.Б. Кондибаева, Д.С. Таранов, З.Д. Ершебулов, Ж.Т. Аманова, Ж.Ж. Саметова; Гвардейский. НИИПББ. – 2013/1283.1; заявл. 30.09.2013; опубл. 15.09.2014, Бюл. № 9. – 3 с. : ил.

2. Аманова, Ж.Т. Оценка эффективности ассоциированной вакцины против чумы мелких жвачных животных и оспы овец [Текст] / Ж.Т. Аманова, Д.С. Таранов, З.Д. Ершебулов [и др.] // Ветеринария. – 2016. – № 9. – С. 21-23.

3. Аманова, Ж.Т. Безопасность и реактогенность ассоциированной вакцины против чумы мелких жвачных животных и оспы овец [Текст] / Ж.Т. Аманова,

Д.С. Таранов, К.Д. Жугунисов [и др.] // Наука и Образование. – 2019. – № 1(54). – С. 234-240.
4. Аманова, Ж.Т. Иммуногенность ассоциированной вакцины против чумы мелких жвачных животных и оспы овец [Текст] / Ж.Т. Аманова, Д.С. Таранов, К.Д. Жугунисов [и др.] // Известия ВУЗов Кыргызстана. – 2019. – № 7. – С. 94-98.
5. Аманова, Ж.Т. Оценка эффективности стабилизирующих сред при лиофилизации и хранении ассоциированной вакцины против чумы мелких жвачных животных и оспы овец [Текст] / Ж.Т. Аманова, К.Д. Жугунисов, Е.А. Булатов [и др.]// Известия НАН КР. – 2020. – № 2. – С. 25-34.
6. Аманова, Ж.Т. Возможность совместного культивирования вирусов чумы мелких жвачных животных и оспы овец и выявление наличия интерференции между вирусными агентами [Текст] / Ж.Т. Аманова, К.Д. Жугунисов, Е.А. Булатов [и др.] // Биологические науки Казахстана. – 2020. – № 3. – С. 103-110.
7. Пат. на полезную модель № 6883 Казахстан, МПК: A61K 39/295 A61P 31/00. Способ получения ассоциированной биомассы вирусов чумы мелких жвачных животных и оспы овец [Текст] / Ж.Т. Аманова, К.Б. Баракбаев, К.Д. Жугунисов, Е.А. Шаяхметов, Е.А. Булатов, Е.О. Абдураимов, К.Д. Закарья; Гвардейский. НИИПББ. – 2021/0624.2; заявл. 22.06.2021; опубл. 24.06.2022.
8. Amanova, Z. Duration of protective immunity in sheep vaccinated with a combined vaccine against peste des petits ruminants and sheep pox [Text] / Z. Amanova, K. Zhugunissov, K. Barakbayev [et all] // Vaccines. – 2021. –Vol. 9(8), 912.
9. Аманова, Ж.Т. Сроки формирование иммунитета у овец, вакцинированных ассоциированной вакциной против чумы мелких жвачных животных и оспы овец [Текст] / Ж.Т. Аманова, К.Д. Жугунисов, К.Б. Баракбаев [и др.] // Биологические науки Казахстана. – 2021. – № 1. – С. 26-35.
10. Amanova, Z. Adaptation of the sheep pox virus (Poxviridae: Capripoxvirus: Sheeppox virus) to African green monkey kidney cell line and evaluation of its immunobiological properties / Z. Amanova, Z. Sametova, Y. Bulatov [et all] // Voprosy Virusologii. – 2022. – Vol. 67(5). – P. 450-458.

Аманова Жанат Темирбаевнанын «Майда кепшөөчү жаныбарлардын кара тумоосуна жана койлордун күл оорусуна каршы ассоцияланган вакцинаны даярдоо технологиясын жакшыртуу» деген темада 03.01.06 – биотехнология адистиги боюнча биология илимдеринин кандидаты даражасын алуу үчүн жазылган диссертациясынын кыскача

КОРУТУНДУСУ

Негизги сөздөр: Майда кепшөөчү жаныбарлардын кара тумоосу, койлордун күл (чечек) оорусу, технология, профилактика, ассоцияланган вакцина, иммуногендүүлүк.

Изилдөөнүн объектиси: Майда кепшөөчү жаныбарлардын кара тумоосу ылаңынын вирусу, койлордун күл оорусу ылаңынын вирусу, майда мал, Vero клеткаларынын культурасы, ассоцияланган вакцина.

Изилдөөнүн предмети: Майда кепшөөчү жаныбарлардын кара тумоосу жана койлордун күл оорусу вирустарынын культуралдык касиеттери, майда кепшөөчү жаныбарлардын кара тумоосуна жана койлордун күл оорусуна каршы ассоцияланган вакцинаны даярдоо, ассоцияланган вакцинанын коопсуздугу жана иммуногендик активдүүлүгү.

Иштин максаты: Майда кепшөөчү жаныбарлардын кара тумоосуна жана койлордун күл оорусуна каршы ассоцияланган вакцинаны даярдоо технологиясын жакшыртуу жана анын иммунобиологиялык касиетин баалоо.

Изилдөөнүн ыкмалары: биотехнологиялык, вирусологиялык, серологиялык жана иммунологиялык.

Алынган натыйжалар жана алардын жаңычылыгы: Биринчи жолу койлордун күл оорусунун НИСХИ штаммы Vero клеткаларынын линиясына ылайыкташтырылган.

Казахстанда биринчи жолу майда кепшөөчү жаныбарлардын кара тумоосу вирусунун Nigeria 75/1 жана койлордун күл оорусу вирусунун НИСХИ тирүү аттенуацияланган штаммдарын колдонуу менен майда кепшөөчү жаныбарлардын кара тумоосуна жана койлордун күл оорусуна каршы ассоцияланган вакцинаны даярдоо технологиясы иштелип чыкты.

Биринчи жолу 6-12 айлык койлордо майда кепшөөчү жаныбарлардын кара тумоосуна жана койлордун күл оорусуна каршы ассоцияланган вакцинанын аталмыш ооруларга каршы 12 айга созула турган протективдүү ассоциацияланган иммундук жоопту түзөтүү мүмкүнчүлүгү көрсөтүлдү. Дагы вакцинацияланган койлодо 12 ай бою майда кепшөөчү жаныбарлардын кара тумоосунун эпизоотиялык вирусунан 100% клиникалык жана вирусологиялык коргоо байкалган, бул койлордо майда кепшөөчү жаныбарлардын кара тумоосуна каршы вакцинациядан кийинки узак (1 жылдан ашык) иммунитеттин пайда болушун көрсөтөт.

Колдонуу боюнча сунуштар: Майда кепшөөчү жаныбарлардын кара тумоосу жана койлордун чечек оорусуна каршы ассоцияланган вакцинанын жакшыртылган даярдоо технологиясын майда мүйүздүү малдар үчүн коопсуз жана иммуногендик вакцина даярдоодо биологиялык өнөр жайда колдонуу сунушталат.

Колдонулуучу чөйрө: биотехнология, вирусология, ветеринария.

РЕЗЮМЕ
диссертации Амановой Жанат Темирбаевны на тему: «Совершенствование технологии изготовления ассоциированной вакцины против чумы мелких жвачных животных и оспы овец» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 - биотехнология

Ключевые слова: чума мелких жвачных животных, оспа овец, технология, профилактика, ассоциированная вакцина, иммуногенность.

Объект исследования: вирус чумы мелких жвачных животных, вирус оспы овец, мелкий рогатый скот, клеточная линия Vero, ассоциированная вакцина.

Предмет исследования: культуральные свойства вируса чумы мелких жвачных животных и оспы овец, составление ассоциированной вакцины против чумы мелких жвачных животных и оспы овец, безопасность и иммуногенная активность ассоциированной вакцины.

Цель работы: Совершенствование технологии изготовления ассоциированной вакцины против чумы мелких жвачных животных и оспы овец и оценка ее иммунобиологических свойств.

Методы исследования: биотехнологический, вирусологический, серологический и иммунологический.

Полученные результаты и их новизна: Впервые штамм НИСХИ вируса ОО адаптирован к перевиваемой линии клеток Vero.

Впервые в Казахстане разработана технология изготовления ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО, с использованием живых аттенуированных штаммов Nigeria 75/1 вируса ЧМЖЖ и НИСХИ вируса ОО и изучены её иммунобиологические свойства.

Впервые продемонстрирована возможность ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО формировать у 6-12 мес. овец, протективный комбинированный иммунный ответ против этих болезней длительностью 12 мес. В то же время вакцинированные овцы демонстрировали 100% клиническую и вирусологическую защиту от эпизоотического вируса ЧМЖЖ в течение 12 мес., что свидетельствует о формировании у овец более длительного (более 1 года) поствакцинального иммунитета против ЧМЖЖ.

Рекомендации по использованию: Совершенствованную технологию изготовления ассоциированной вакцины против ЧМЖЖ и ОО предлагается использовать в биологической промышленности для создания безопасной и иммуногенной вакцины для мелкого рогатого скота.

Область применения: биотехнология, вирусология, ветеринария.

SUMMARY

Dissertation of the Amanova Zhanat on the title: “Improving the technology for manufacturing the combined vaccine against peste des petits ruminants and sheep pox” for the degree of candidate of biological sciences in specialty 03.01.06 – Biotechnology

Key words: peste des petits ruminants, sheep pox, technology, prevention, combined vaccine, immunogenicity.

Object of the study: peste des petits ruminants virus, sheep pox virus, small cattle, Vero cell line, combined vaccine.

Object of the research: The cultural properties of the peste des petits ruminants and sheep pox viruses, preparation the combined vaccine against peste des petits ruminants and sheep pox, safety and immunogenic activity of the combined vaccine.

Objective: Improving the technology for manufacturing the combined vaccine against peste des petits ruminants and sheep pox and evaluation its immunobiological properties.

Research methods: biotechnological, virological, serological, and immunological.

The obtained results and their novelty: For the first time, the Niskhi strain of the SPP virus has been adapted to the transplantable Vero cell line.

For the first time in Kazakhstan, a technology was developed for manufacturing a combined vaccine against peste des petits ruminants and sheep pox using the live attenuated PPRV strain Nigeria 75/1 and SPPV strain Niskhi and studied its immunobiological properties.

For the first time, the possibility of the combined vaccine against PPR and SPP to form a protective combined immune response for 12 months in sheep aged 6–12 months was demonstrated, at the same time, vaccinated sheep showed 100% clinical (according to the clinical signs of PPR, assessed by the score system) and virological (according to the titer of antibodies in the blood sera of immunized sheep) protection against epizootic PPRV for 12 months, what indicates the formation of a longer (more than 1 year) post-vaccination immunity in sheep to the PPRV.

Recommendations for use: The improved manufacturing technology for the combined vaccine against PPR and SPP is proposed for use in the biotechnology industry to develop a safe and immunogenic vaccine for small cattle.

Applications: biotechnology, virology, veterinary medicine.