

**НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
ИНСТИТУТ БИОТЕХНОЛОГИИ**

**НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК КЫРГЫЗСКОЙ РЕСПУБЛИКИ
ИНСТИТУТ ГОРНОЙ ФИЗИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ**

Диссертационный совет Д 03.23.680

На правах рукописи
УДК 578.:578.8.:619.:821.

Азанбекова Молдир Абдилдаевна

**БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЭПИЗООТИЧЕСКОГО ШТАММА
ВИРУСА НОДУЛЯРНОГО ДЕРМАТИТА КРУПНОГО РОГАТОГО
СКОТА**

03.01.06 – биотехнология

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

БИШКЕК – 2024

Диссертационная работа выполнена в Республиканском государственном предприятии «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности» Министерства здравоохранения Республики Казахстан и в Институте биотехнологии Национальной академии наук Кыргызской Республики.

Научный руководитель:	Жунушов Асанкадыр Темирбекович доктор ветеринарных наук, профессор, академик Национальной академии наук Кыргызской Республики, директор Института биотехнологии Национальной академии наук Кыргызской Республики
Официальные оппоненты:	Керимжанова Бахытжан Фазылжановна доктор ветеринарных наук, профессор, заместитель начальника отдела международного сотрудничества Акционерное общество «Научный центр противоифекционных препаратов» Республики Казахстан, г. Алматы Орозов Жайлообек Чоконович кандидат биологических наук, директор Кыргызского научно-исследовательского института ветеринарии имени Арстанбека Дуйшеева, Кыргызской Республики
Ведущая организация:	Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный исследовательский центр вирусологии и микробиологии», лаборатории Молекулярной вирусологии и лекарственных средств для животных (Российская Федерация, Владимирская обл., Петушинский р-н, пос. Вольгинский, ул. Академика Бакулова, стр. 1)

Защита диссертации состоится 19 апреля 2024 года в 13:00 часов на заседании диссертационного совета Д 03.23.680 при Институте биотехнологии и Институте горной физиологии и медицины Национальной академии наук Кыргызской Республики по адресу: 720071, г. Бишкек, пр. Чуй, 265а, 303 ауд. <https://vc.vak.kg/b/032-kpg-yve-qhh>

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Национальной академии наук Кыргызской Республики, по адресу: г. Бишкек, пр. Чуй, 265а и на сайте <https://vak.kg/wp-content/uploads/2023/11/Dissertaciya-ND- Moldir-12.12.2023.pdf>

Автореферат разослан 11 марта 2024 года.

Ученый секретарь диссертационного совета
кандидат биологических наук



А. А. Казыбекова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. Нодулярный дерматит крупного рогатого скота (КРС) – это трансмиссивная, высококонтагиозная, эмерджентная трансграничная вирусная болезнь крупного рогатого скота, характеризующаяся лихорадкой, поражением лимфатической системы, отеками подкожной клетчатки, образованием кожных узлов, поражением глаз и слизистых оболочек органов дыхания и пищеварения [С. Н. Annandale et al, 2010; E. S. Tuppurainen, 2011; M. A. Alkhamis et al, 2012].

Экономический ущерб от переболевания болезнью обуславливается, в основном, из-за высокого уровня зараженности, а не смертности, так как показатели летальности не превышают 10 % [J. Brenner et al, 2006; F. A. Salib, 2011]. Экономические потери складываются также из затрат, проводимых для контроля эпизоотической ситуации и ликвидации болезни, к которым относятся прививки против нодулярного дерматита (НД), дезинфекционные средства и противоэпизоотические меры, ограничения на перемещение и торговлю животными. Непригодным или низкосортным становится кожевенное сырье.

В 2016 году в Казахстане (в Атырауской области) количество зараженных бугорчаткой животных достигло 6894, из них 5 750 голов удалось вылечить, 1119 голов погибло [https://www.inform.kz/ru/vakcinudlya-skota-ot-nodulyarnogo-dermatita-zhdut-v-atyrau_a3008217].

При вспышке нодулярного дерматита может быть введен запрет на экспорт крупного рогатого скота и продуктов убоя этого вида животных, что очень важно для нашего государства, ориентированного на экспорт животноводческой продукции.

При генерализованной форме болезни на теле животного появляются нодулы (бугры, узелки), диаметром 2-7 см, на голове, шее, вымени и в промежности, на отдельных участках тела происходит слияние узелков, образование язв [<http://zhukov-vet.ru/stati/nodulyarnyy-dermatit.html>].

Ранее болезнь регистрировали в большинстве стран Южной Африки, на Мадагаскаре, в Индии [F. G. Davies, 1991; E. S. Tuppurainen, 2011]. По данным МЭБ в 1976-1980 гг. по причине НД были неблагополучными 29 стран Центральной и Южной Африки [P. M. Beard, 2016].

Возбудителем бугорчатки крупного рогатого скота является ДНК-содержащий оболочечный вирус, относящийся к группе Neethling, роду Capripoxvirus, семейству Poxviridae [Е. С. Орлова, 2006; W. S. Awad et al., 2010; E. S. Tuppurainen, 2013]. Вирус Neethling является прототипным возбудителем бугорчатки. Этот патоген имеет антигенное родство с вирусом оспы коз [E. R. Tulman, 2001; A. Q. King, 2012; М. Ш. Щапиев, 2016].

В связи с этим, после появления нодулярного дерматита среди крупного рогатого скота в Казахстане остро встал вопрос о необходимости изучения биологических свойств выделенного эпизоотического штамма вируса с использованием крупного рогатого скота, различных лабораторных животных для установления пути передачи возбудителя, и разработки биологической модели, используемой для проведения научно-исследовательских и производственных работ.

Связь темы диссертации с научными программами (проектами) и основными научно-исследовательскими работами, проводимыми образовательными и научными учреждениями. Диссертационная работа выполнена на базе научно-исследовательского института проблем биологической безопасности (НИИПББ) в рамках инициативного проекта на тему «Разработка средств и методов стандартизации иммуногенности вакцины против нодулярного дерматита, разработанной в НИИПББ» в 2019 г.

Цель исследования. Целью настоящей работы являлось изучение биологических свойств эпизоотического штамма вируса нодулярного дерматита КРС, используемого в биотехнологии для разработки ветеринарных препаратов.

Задачи исследования:

1. Оптимизировать системы культивирования штамма вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота.
2. Определить параметры культивирования штамма вируса нодулярного дерматита КРС в выбранной системе (доза заражения, сроки и температура инкубирования, содержание сыворотки крови крупного рогатого скота в ростовой питательной среде и среде поддержания) с целью получения культуральной биомассы с высокой биологической активностью, пригодной для биотехнологии.
3. Изучить спектры патогенности вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота для различных видов животных (крупные рогатые скоты, мелкие рогатые скоты, кролики, мыши, морские свинки) и его антигенной активности.
4. Изучить динамику накопления вируса нодулярного дерматита в организме чувствительных животных.
5. Изучить антигенное родство между вирусами нодулярного дерматита крупного рогатого скота и оспы коз, оспы овец.

Научная новизна работы:

1. Впервые в Казахстане определена чувствительность различных культур клеток к вирусу нодулярного дерматита крупного рогатого скота и отработаны параметры его культивирования для получения культуральной биомассы, используемой в биотехнологии биопрепаратов.

2. Определен спектр патогенности и антигенная активность вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота для различных видов животных, а также изучена динамика накопления вируса нодулярного дерматита в организме чувствительных животных.

3. Изучено антигенное родство между вирусами нодулярного дерматита крупного рогатого скота и оспы коз, оспы овец.

Практическая значимость полученных результатов. Выделенный от крупного рогатого скота на территории Казахстана штамм «НИИПББ-2019/К» вируса нодулярного дерматита после всестороннего изучения биологических свойств был депонирован в Депозитарии возбудителей особо опасных инфекций научно-исследовательского института проблем биологической безопасности (НИИПББ), который будет использован для производства и контроля диагностических и профилактических средств против нодулярного дерматита.

Экономическая значимость полученных результатов. Полученный эпизоотический штамм НИИПББ-2019/К вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота используется для контроля протективных свойств производственных серий вакцины против нодулярного дерматита, изготавливаемых в рамках государственного заказа по линии Министерство сельского хозяйства Республики Казахстан. К настоящему времени реализовано 20 млн. доз вакцины.

Основные положения диссертации, выносимые на защиту:

1. Параметры культивирования вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота в линиях культур клеток.

2. Чувствительность различных видов животных к вирусу нодулярного дерматита.

3. Динамика репродукции и тропизм вируса нодулярного дерматита в организме различных видов животных.

4. Воспроизведение нодулярного дерматита различными методами заражения животных.

5. Антигенное родство между вирусами нодулярного дерматита крупного рогатого скота и оспы коз, оспы овец.

Личный вклад соискателя. Все разделы диссертационной работы выполнены при личном участии автора.

Апробация результатов исследований. Основные материалы диссертации доложены: на международной научно-практической конференции «Современные вызовы для биотехнологии, ветеринарии и медицины в период пандемии COVID-19», посвященной 30-летию Независимости Казахстана, 2021» (14 декабря 2021 года, Казахстан, - пгт. Гвардейский, 2021. - С. 67-72); на международной научно-практической конференции «Биотехнология и биологическая безопасность: достижения и

перспективы развития», посвященной 65-летию научно-исследовательского института проблем биологической безопасности» (6-8 сентября 2023 года, Казахстан, г. Алматы, 2023. – С. 25-26).

Полнота отражения результатов диссертации в публикациях. По теме диссертации всего опубликовано 8 научных работ, из них 1 статья в рецензируемом журнале, индексируемом в базе данных Scopus квартиль 1; импакт фактор 3,6, 2 статьи в журнале, входящем в список рекомендуемой президиумом Национальной аттестационной комиссией при Президенте Кыргызской Республики, 1 статья в журнале, входящем в список рекомендуемых КОКСОН МОН Республики Казахстан и получен патент на изобретение РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности» Министерства юстиции Республики Казахстан.

Объем и структура диссертации. Диссертация изложена на 153 страницах компьютерного текста и состоит из введения, обзора литературы, методов исследования, собственных исследований, обсуждения полученных результатов, заключения, списка использованной литературы и приложений. Работа иллюстрирована 17 таблицами и 36 рисунками, а также дополнена приложениями. Диссертационная работа процитирована 235 источниками литературы, в том числе 175 зарубежных авторов. В приложении представлены документы, подтверждающие достоверность проведенных исследований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении изложена актуальность проблемы и необходимость изучения биологических свойств эпизоотического штамма вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота.

В главе 1 «Обзор литературы» представлены и анализированы отечественные и зарубежные литературные источники по распространению болезни, причисляемый экономический ущерб, биологические свойства вируса, эпизоотическая ситуация, противоэпизоотические мероприятия и специфическая профилактика.

В главе 2 «Материалы и методы исследований» приведены объект исследования, а также вирусологические, биотехнологические и иммунологические методы.

Штамм «НИИПББ-2019/К» выделен в 2019 г. из штамма «Dermatitis nodulares/2016/Atyrau/KZ», выделенного в 2016 году от вынужденно убитых КРС (хозяйство Курмангазинского района Атырауской области) с характерными проявлениями клинических признаков НД.

Объектами исследования являлись вирулентный штамм вируса НД КРС, культуры клеток и различные виды животных (крупный рогатый скот, овцы, козы, кролики, морские свинки, суслики, белые мыши).

Предмет исследования

1. Параметры культивирования вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота.
2. Воспроизведение нодулярного дерматита различными методами.
3. Динамика репродукции и тропизм вируса нодулярного дерматита.
4. Чувствительность различных видов животных к вирусу нодулярного дерматита.
5. Антигенное родство между вирусами нодулярного дерматита.
6. Подбор стабилизирующих компонентов для сохранения вируса.

2.2 Методы исследования

2.2.1 Параметры культивирования вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота. В опытах использованы первичные культуры клеток тестикулы ягненка (ТЯ), почки ягненка (ПЯ), перевиваемая линия культур клеток почки африканской зеленой мартышки (Vero), перевиваемая линия культур клеток почки эмбриона свиньи версенсизированная (СПЭВ) и перевиваемая линия культур клеток почки теленка (MDBK), перевиваемая монослойно-сuspensionная сублиния клеток почки новорожденного сирийского хомячка (ВНК-21).

2.2.2 Воспроизведение нодулярного дерматита различными методами. Для заражения животных вирусом или испытуемой пробой биоматериала использованы методы подкожного, внутривенного и внутривенного их введения. Эффективность методов оценена по заболеваемости инфицированных животных, качеству проявления и динамике развития клинических признаков, а также по исходу у них болезни.

2.2.3 Динамика репродукции и тропизм вируса НД КРС. Для определения репродуктивности вируса образцы вируса в виде патологических материалов или тканевой и культуральной суспензии использованы для постановки биологической пробы на чувствительной культуре клеток и/или восприимчивых животных – крупный рогатый скот.

Тропизм вируса определяли путем выявления органов и тканей, которые продуцируют и резервируют вирус в наибольших концентрациях. Для этого в период проявления и развития болезни отобраны образцы органов и тканей инфицированного/больного животного, которые затем подвергнуты изучению на содержание и полноценность возбудителя болезни. Содержание репродуктивного вируса установлена биопробой в культуре клеток на цитопатическое действие (ЦПД) или на крупном рогатом скоте по патогенному воздействию, а полноценность – электронной микроскопией вирионов вируса. Идентификация вируса проведена с помощью реакции нейтрализации (РН) в культуре клеток или на крупном рогатом скоте, а также молекулярно-генетическим исследованием с

помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР), выявлением антигенов в реакции диффузной преципитации (РДП) и иммуноферментного анализа (ИФА).

2.2.4 Чувствительность различных видов животных. Для экспериментального изучения патогенности эпизоотического штамма вируса нодулярного дерматита использованы клинически здоровые животные, не содержащие в крови антител против данного типа вируса:

- белые лабораторные мыши 5-6-недельного возраста живой массой 20-25 гр.;

- морские свинки 2-мес. возраста живой массой 200-250 гр.;

- кролики 5-6 мес. возраста живой массой 2,5-3 кг;

- суслики;

- овцы 8-12 мес. возраста живой массой 25-30 кг;

- козы 12-18 мес. возраста живой массой 20-25 кг;

- телята 12-18 мес. возраста живой массой 150-200 кг.

Животных до начала экспериментов выдерживали на карантине в течение 2-х недель с проведением термометрии, клинического осмотра и исследованием сывороток крови на наличие вируснейтрализующих антител к каприпосксвирусам в реакции нейтрализации (РН).

2.2.5 Антигенное родство между вирусами нодулярного дерматита. Для определения антигенного родства вирусов нодулярного дерматита и оспы коз, оспы овец использованы живые вакцины против вируса оспы овец из аттенуированного штамма «НИСХИ» и против вируса оспы коз из штамма аттенуированного «G20-LKV», а также эпизоотический штамм «Pellor» вируса оспы коз.

2.2.6 Подбор стабилизирующих компонентов для сохранения вируса. При подборе защитных сред для вируса НД КРС нами использованы: 12 % пептон + 8 % лактоза (группа I); 8 % пептон + 1 % желатин + 6 % сахарозы (группа II) и обезжиренное коровье молоко (группа III). Защитные среды смешивали со стерильной вирусосодержащей суспензией вируса в соотношении 1:1. В качестве контроля использовали суспензию вируса без защитной среды (группа IV).

Лиофилизацию вирусосодержащего материала проводили по следующей схеме:

- глубокая заморозка в течение 12 часов при температуре минус 56 °С.

- лиофилизация при режиме 15 %/15 °С, под вакуумом 0,8-1,0 бар.

- досушивание препарата при температуре 24 °С в материале в течение 8-10 ч;

Для изучения влияния защитных сред на сохраняемость высушенного вируса ампулы были заложены на хранение на 12 месяцев при температуре минус 40,0° ± 1,0 °С.

Все статистические анализы проводили с числом повторностей, обеспечивающей получение достоверных результатов. Статистическую обработку экспериментальных данных проводили с вычислением среднего арифметического значения (\bar{X}) и квадратической ошибки (m) с применением компьютерной программы «Microsoft Office Excel 2010».

В главе 3 представлены результаты собственных исследований и их обсуждение.

3.1 Выбор оптимальной системы культивирования для размножения казахстанского штамма вируса нодулярного дерматита КРС. Проведен скрининг наиболее чувствительной перевиваемой клеточной линии, обеспечивающей размножение вируса НД исследуемого штамма с высокой инфекционной активностью.

Таблица 3.1 - Сравнительная характеристика накопления штамма «НИИПББ-2019/К» вируса НД в различных культурах клеток $n=3$

Наименование штамма	Вид культуры	Начало проявления ЦПД, ч	Срок культивирования, сут	Титр вируса, $\lg \text{TCID}_{50}/\text{cm}^3$ ($\bar{X} \pm m$)
«НИИПББ-2019/К»	ПЯ	72-96	6-7	$3,08 \pm 0,08$
	ТЯ	48-72	4-6	$4,67 \pm 0,22$
	Vero	72-96	6-7	$3,92 \pm 0,08$
	МДВК	72-96	6-7	$4,00 \pm 0,00$
	СПЭВ	72-96	6-7	$3,08 \pm 0,08$
	ВНК-21	72-96	6-7	$3,17 \pm 0,16$

По результатам проведенных исследований установлено, что штамм «НИИПББ-2019/К» вируса НД репродуцируется во всех испытанных клеточных культурах (ПЯ, МДВК, СПЭВ, Vero и ВНК-21). Однако наиболее чувствительной для штамма вируса НД культура клеток ТЯ.

Первые признаки ЦПД вируса в данной культуре в виде сферических образований клеток (конгломератов), приподнимающихся над поверхностью монослоя, отмечали спустя 48-72 ч после инокуляции вируса. Поражение клеточного пласта составляло 80-90 %.

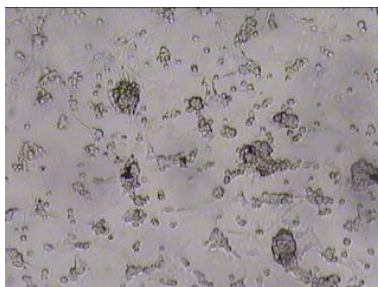


Рисунок 3.1 - Цитопатический эффект вируса нодулярного дерматита КРС в
монослое культуры клеток ТЯ.

Специфичность ЦПД вируса НД исследуемого штамма в клеточных культурах определяли методом электронной микроскопии и ПЦР.

Результаты электронно-микроскопического исследования культуральных суспензий вируса НД представлены на рисунке 3.2.

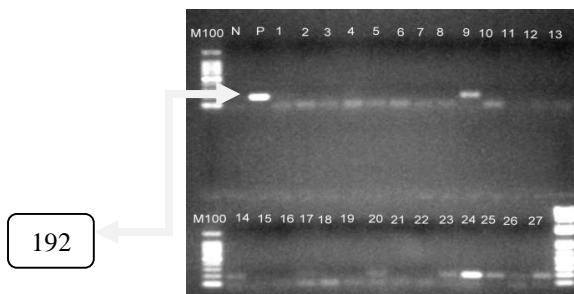


Рисунок 3.2 - Электронная микроскопия изолята вируса нодулярного дерматита
КРС. Негативное контрастирование 2% ФВК, увел. х90000.
(с.н.с. НИИПББ, Кожабергенов Н.Н)

Анализ результатов электронной микроскопии вируса НД КРС показывает, что в исследуемом материале содержатся вирионы, представляющие собой сферические частицы диаметром 270-290 нм.

Детекцию полученных ПЦР продуктов проводили на 1,5 %-ном агарозном геле с бромистым этидием в течение 30 – 60 мин в ТВЕ-буфере и анализировали на гель документирующей системе «BioRad», США.

Результаты экспериментов представлены на рисунке 3.3.



М - маркер ДНК, 1 – 27 - исследуемые пробы; N - отрицательный контроль

Рисунок 3.3 - Электрофореграмма ПЦР продукта вируса НД КРС (192 п.о.), характерная для нодулярного дерматита КРС.

В пробах органо-тканевых и культуральных материалах был выявлен ПЦР продукт размером 192 п.о. характерный для нодулярного дерматита КРС.

3.2 Определение генетической идентичности и филогенетической принадлежности штамма «НИИПББ-2019/К» вируса нодулярного дерматита. В результате экспериментов была получена нуклеотидная последовательность по «GPCR» гену:

LSDV_GPCR_GENE

```

TTTTGCATTATCGTTATAAAATACATGACAATACGTTATTCCATAT
ACTTTTTTTGTTTCATAAAATAACATTATTGGAAAGGATTCAATAGTTG
AGACAATCCAAACCACCATACTAAGTACAATTCCATATCGTTTTGTCC
TTATCGGCATTGATTTTACTGGGTGAACTACAGCTAGGTATCTATCAAT
ACTCATCAATGTTATAAATGACATGCTATTGTAAAAACCAACAAAGTA
AAACATAGCTTTAAATTTACACAAACAATCTCCTAAACTCCATTGTTTA
GCGATACTATCGTATAAATTAAAAGGAAACACCAACACGAAAATTAA
ATCAGACAGTGTCAAATTAAGCAAAACWTRTCCTGTATTRWTTTTAT
CTTATATTTACGAAGAACAGTTAACACAATTATATTTCCAAATAATCC
AAGAAAGAATATAGTCGAATATAAAGTAATCAGTCCAAAACCTGTAG
TATCCACACCATCATCACAATGTGGGATATCGACTATGCTCACTTCAT
AATCATCATAATCATCGCTATAATAAGTTGTATTATATGCGGTTGTATA
ATTAGATATCGTTGTTGTATTTTCATAAGTTGAAGGCGTTGTAACATTA
TTTTGATTTGTTGAAATTGTACTAATAATTGTAGTAGCTATAGTGGTAA
TATTACTGCTACTATTATACATGGTTGCGCTACTAACTGTACTAAGAGT
ATAATTCATTTTTGTTGGAGTTATGCTTTACTTAATCATACACTTTTATT
TTATTTTTTTTTTTTTTAATAAAAACACAGAATTGGTATCATCATTTATTT
TTTTTAAAAAACTTTTAA

```

При проведении анализа по базе данных BLAST на 99,55 % была установлена идентичность штамма со штаммами вируса нодулярного дерматита, выделенными на территории РФ в 2016 году.

Sequences producing significant alignments						Download ▾	Manage Columns ▾	Show 100
<input checked="" type="checkbox"/> select all 100 sequences selected						GenBank	Graphics	Distance tr
	Description	Max Score	Total Score	Query Cover	E value	Per. Ident		
<input checked="" type="checkbox"/>	Lumpy skin disease virus isolate Kenya, complete genome	802	802	100%	0.0	99.55%		
<input checked="" type="checkbox"/>	Lumpy skin disease virus isolate Samara/1461/2018 G protein-coupled receptor (GPCR) gene, partial cds	802	802	100%	0.0	99.55%		
<input checked="" type="checkbox"/>	Lumpy skin disease virus isolate Kazakhstan/2016 G protein-coupled receptor (GPCR) gene, partial cds	802	802	100%	0.0	99.55%		
<input checked="" type="checkbox"/>	Lumpy skin disease virus isolate Abkhazia/2016 G protein-coupled receptor (GPCR) gene, partial cds	802	802	100%	0.0	99.55%		
<input checked="" type="checkbox"/>	Lumpy skin disease virus isolate Ryazan/2016 G protein-coupled receptor (GPCR) gene, partial cds	802	802	100%	0.0	99.55%		
<input checked="" type="checkbox"/>	Lumpy skin disease virus isolate Rostov/2016 G protein-coupled receptor (GPCR) gene, partial cds	802	802	100%	0.0	99.55%		
<input checked="" type="checkbox"/>	Lumpy skin disease virus isolate Tambov/2016 G protein-coupled receptor (GPCR) gene, partial cds	802	802	100%	0.0	99.55%		
<input checked="" type="checkbox"/>	Lumpy skin disease virus isolate Kalmykiya/2016 G protein-coupled receptor (GPCR) gene, partial cds	802	802	100%	0.0	99.55%		
<input checked="" type="checkbox"/>	Lumpy skin disease virus isolate Kabardino-Balkariya/2016 G protein-coupled receptor (GPCR) gene, partial cds	802	802	100%	0.0	99.55%		
<input checked="" type="checkbox"/>	Lumpy skin disease virus isolate Karachaevo-Cherkessiya/2016 G protein-coupled receptor (GPCR) gene, partial cds	802	802	100%	0.0	99.55%		

3.3 Определение стерильности культуральных суспензий вируса нодулярного дерматита КРС. Стерильность культуральных суспензий штамма «НИИПББ-2019/К» вируса НД проверяли на бактериальных средах МПА, МПБ, Сабура (твердая), Сабура жидкая и тиогликолевая.

Исследования показали, что роста бактериальной или грибковой микрофлоры и микоплазм не обнаружено.

3.4 Определение оптимальных условий культивирования штамма вируса НД *in vitro*

3.4.1 Изучение репродукции штамма вируса НД *in vitro* в зависимости от множественности инфицирующей дозы. Динамику накопления вируса НД исследуемого штамма в культуре клеток ТЯ изучали по данным титрования культуральных суспензий, полученных после инфицирования вируса различными дозами.

Таблица 3.2 - Накопление штамма «НИИПББ-2019/К» вируса НД в культуре клеток ТЯ в зависимости от множественности инфицирующей дозы (n=3)

Наименование штамма	Инфицирующая доза вируса, ТЦД ₅₀ /кл.	Срок культивирования вируса, сут.	Инфекционная активность вируса, lg ТЦД ₅₀ /см ³ (X±m)
«НИИПББ-2019/К»	0, 0001	5-7	4,00±0,16
	0, 001	5-7	4,33±0,16
	0,01	4-6	4,83±0,08
	0,1	4-6	4,91±0,14

Из данных таблицы 3.2 следует, что максимальное накопление штамма

«НИИПББ-2019/К» вируса НД в исследуемой культуральной системе в титрах $(4,91 \pm 0,14)$ и $(4,83 \pm 0,08)$ $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ наблюдается при инфицирующих дозах 0,1 и 0,01 $\text{ТЦД}_{50}/\text{кл.}$ соответственно на 4-6 сутки.

3.4.2 Изучение динамики накопления штамма вируса НД in vitro в зависимости от длительности культивирования. При определении срока культивирования штамма «НИИПББ-2019/К» вируса НД культуру клеток ТЯ инфицировали в дозе 0,01 $\text{ТЦД}_{50}/\text{кл}$ с дальнейшим инкубированием при температуре $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$.

Таблица 3.3 – Динамика накопления штамма «НИИПББ-2019/К» вируса НД в культуре клеток ТЯ в зависимости от длительности культивирования (n=3)

Наименование штамма	Срок культивирования, ч	Титр инфекционной активности, $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3 (X \pm m)$
«НИИПББ-2019/К»	48	$3,25 \pm 0,14$
	72	$3,92 \pm 0,16$
	96	$4,67 \pm 0,08$
	120	$4,87 \pm 0,08$
	144	$4,58 \pm 0,08$

Из данных таблицы 3.3 следует, что штамм «НИИПББ-2019/К» вируса НД в наибольших титрах накапливается при инкубировании в течение 120 ч, инфекционный титр вируса составил $(4,87 \pm 0,08) \lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3$.

3.4.3 Изучение репродукции штамма вируса НД in vitro в зависимости от температуры культивирования. Результаты лабораторных исследований позволяют сделать следующий вывод. Для усиления накопления штаммов «НИИПББ-2019/К» вируса НД в культуре клеток ТЯ культивирование необходимо проводить при температуре $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$.

Таблица 3.4 – Динамика накопления штамма «НИИПББ-2019/К» вируса НД в культуре клеток ТЯ (n=3)

Наименование штамма	Температура культивирования, $^\circ\text{C}$	Срок культивирования, ч	Титр инфекционной активности, $\lg \text{ТЦД}_{50}/\text{см}^3 (X \pm m)$
«НИИПББ-2019/К»	$33 \pm 0,5$	120	$3,58 \pm 0,08$
	$35 \pm 0,5$		$3,92 \pm 0,16$
	$37 \pm 0,5$		$4,75 \pm 0,14$
	$39 \pm 0,5$		$4,25 \pm 0,00$

3.4.4. Изучение репродукции штамма вируса НД in vitro в зависимости от концентрации сыворотки в поддерживающей среде. Возбудитель вируса культивировали в среде с различным содержанием сыворотки: 2, 5, 10 %.

Таблица 3.5 - Накопление штамма «НИИПББ-2019/К» вируса НД в культуре клеток ТЯ.

Наименование штамма	Концентрация сыворотки крови КРС в поддерживающей среде, %	Срок появления ЦПД в культуре клеток, ч	Титр инфекционной активности, lg ТЦД ₅₀ /см ³ (X±m)
«НИИПББ-2019/К»	2	48	4,75 ± 0,14
	5	48	4,83 ± 0,08
	10	48	4,92 ± 0,16
	без сыворотки	72-96	3,67 ± 0,16

Установлен, что штамм «НИИПББ-2019/К» вируса НД в культуре клеток ТЯ накапливается в титре (4,75 ± 0,14) lg ТЦД₅₀/см³ при 2 %-ном содержании сыворотки в составе поддерживающей среды.

3.5 Адаптация штамма вируса НД к выбранной системе культивирования. Были изучены репродуктивные свойства штамма «НИИПББ-2019/К» вируса НД в зависимости длительности пассирования в культуре клеток.

Таблица 3.6 - Адаптация штамма «НИИПББ-2019/К» вируса НД к культуре клеток ТЯ (n=3)

Наименование штамма	Пассажный уровень	Титр инфекционной активности, lg ТЦД ₅₀ /см ³ (X±m)
«НИИПББ-2019/К»	1	4,50±0,14
	2	4,75±0,14
	3	4,92±0,16
	4	5,08±0,08
	5	5,17±0,08

Из данных таблицы 3.6 следует, что штамма «НИИПББ-2019/К» вируса НД успешно адаптировался к культуре клеток ТЯ за 2-3 пассажа.

3.6 Определение активности воспроизведения вируса нодулярного дерматита при заражении животных различными методами. Вирусный материал первому животному вводили внутрикожно, в области подхвостовой бесшерстной складки и в кожу за лопаткой по 0,5 см³, второму – подкожно, в области средней трети шеи и третьему – в яремную вену в дозе по 1,0 см³ при каждом методе.

У животного №4, инфицированного вирусом путем инокуляции внутривенно, клинических признаков заболевания спустя 8 суток после заражения не отмечено. Гипертермия у этого животного появилась только на 9 сутки после заражения и колебалась в пределах 39,8-40,8 °С до конца наблюдения. В процессе протекания болезни развился конъюнктивит с гнойными выделениями из глазной щели, лимфаденит, катаральный ринит с эрозийными изъязвлениями носового зеркала, хромота на одну конечность, пенистое слюнотечение, единичные кожные узлы на разных

участках тела, кровавый понос. Болезнь завершилась падежом на 26 сутки больного животного.

У животного №5, которому вирус вводили внутрикожно, в первый день болезни резко повысилась температура тела до 41,0 °С, в последующие два дня колебалась в пределах 39,5-40,0 °С. На второй и третий день гипертермии на месте введения вирусного материала отмечали отечную припухлость тяжёлообразной формы, около 7 см в длину, 1,5 см в ширину и толщину, слабую хромоту задней левой конечности, конъюнктивит с незначительным серозным истечением, общее умеренное угнетение, снижение аппетита. Животное постепенно истощалось, больше лежало, передняя конечность опухла от отека. Наличие кожных узелков постепенно увеличивалось. Животное на 23 сутки было в состоянии агонии и вынужденно убито.

У животного №6, зараженного подкожно, в первые 3-е суток отмечали только невысокую гипертермию, в пределах 39,6-40,4 °С. На 4-ые сутки температура тела была в пределах нормы, но отмечали появление единичных (гороховых) узелков на коже в области шеи. С 12 по 19 сутки отмечали стабильную гипертермию в пределах 40,1 – 40,8 °С, угнетение общего состояния, ослабление аппетита, увеличение поверхностных регионарных лимфатических узлов, образование дополнительно единичных кожных узелков на теле, хромоту, исхудание. Болезнь у животного после длительного времени закончилась выздоровлением.

Результаты исследований показали, что вирус НД, полученный из кожных узелков в титре 6,18 Ig ТЦД₅₀/г при подкожной, внутрикожной и внутривенной инокуляции вызывает острую форму нодулярного дерматита с ярким проявлением характерных клинических признаков болезни. Значительно тяжелее болезнь протекает при внутрикожном и внутривенном заражении животных. При подкожном заражении болезнь протекает со средней тяжестью и с меньшим проявлением клинических признаков.

3.7 Изучение динамики репродукции и тропизма вируса нодулярного дерматита в организме крупного рогатого скота. Наличие вируса в организме и его концентрацию устанавливали по титру антигена в РДП, ДНК вируса в ПЦР и по титрам на животных и в культуре клеток.

С нормализацией температуры тела животного до физиологической нормы из проб крови вирус не выделялся. Вирус в крови проявлялся на 14 сутки после заражения или на 8 день после начала лихорадки. Его наличие обнаруживалось на втором слепом пассаже в культуре клеток. Образцы, собранные в другие сроки (до и после лихорадки), стимулировали формирование ЦПД только на третьем слепом пассаже, которое указывало на сравнительно меньшую концентрацию в них вируса.

В нескольких опытах для выделения вируса вместо цельной крови, использовали ее лейкоцитарную фракцию. При этом отмечали сравнительно ускоренное выделение вируса из этой фракции по сравнению с цельной кровью. Если из крови вирус выявлялся на третьем слепом пассаже, то из лейкоцитов - на втором пассаже.

В период болезни у животного на 11 сутки появились нодулярные узелки в коже диаметром 0,5-1,0 см, исследование которых на 14 сутки после заражения показало, что в них вирус содержится в больших концентрациях, чем в крови или выделениях. Титр тканевого вируса составил $10^{6,18}$ ТЦД₅₀/г.

Наиболее высокие инфекционные титры вируса при генерализации кожных поражений отмечали на 14 - 22 сутки после заражения, или с третьего по пятые сутки после появления вторичных узлов. Титр вируса во вторичных узлах в указанные сроки составил от $10^{4,33}$ ИД₅₀/0,5см³ до $10^{6,34}$ ИД₅₀/0,5см³.

При вскрытии заболевших животных обнаружены следующие патологоанатомические изменения. На коже головы, шеи, груди, брюшной стенки и бедер на поверхности и в толще мышц видны характерные узелки. При удалении кожи животных, пораженных НД КРС, обнаруживали обширную желто-красную отечную жидкость в подкожной клетчатке, связанную с поражениями. Размеры узелков разные, часто встречаются узелки диаметром 8-10 мм, однако имеются и крупные.

При вскрытии грудной и брюшной полостей телят обнаруживали точечные кровоизлияния в костальной плевре, под серозной оболочкой органов желудочно-кишечного тракта.

Легкие в состоянии острой катаральной пневмонии, верхушечные, сердечные доли легких увеличены, темно-красного цвета. Воспаленные участки легких плотные, на разрезе типичный дольчатый рисунок органа не прослеживается.

3.8 Гистологические изменения. В неповрежденном участке кожи эпидермис представлен многослойным плоским ороговевшим эпителием одинаковой толщины. Отдельные группы клеток эпидермиса, преимущественно в шиповатом слое, были набухшими и имели умеренную гидролическую дистрофию. В поврежденном участке кожи роговой слой эпидермиса отсутствует. В воспалительный процесс вовлечены клетки эпидермиса и вся соединительная основа кожи, от сосочкового слоя до подкожной клетчатки. Некоторые пораженные эпидермальные клетки имели внутрицитоплазматические эозинофильные вирусные включения.

Иногда микровакуоли присутствовали в цитоплазме клеток базального слоя. Многие эпителиальные клетки волосных фолликулов в состоянии дистрофии и некроза.

Дерма сильно утолщена, отечная, многие кровеносные сосуды гиперемированы. Под микроскопом поражения кожи характеризовались множественными некротизированными участками и воспалительной инфильтрацией дермы. Сосочковый слой несколько утолщен, многие кровеносные сосуды гиперемированы, стенки их утолщены, эндотелиальные клетки набухшие и просветы сужены. В пораженных участках сосочкового слоя стенки некоторых кровеносных сосудов некротизированы и имеют бесструктурный гомогенный вид. Вокруг кровеносных сосудов имеется скопление отечной жидкости и инфильтрация клеток, состоящая из лимфоцитов, плазматических клеток, макрофагов и единичных нейтрофилов.

Вблизи некротизированной ткани в просветах венозных сосудов обнаружены тромбы и перваскулярная клеточная инфильтрация. Подкожная клетчатка местами инфильтрирована небольшим количеством лимфоцитов, плазматических клеток и макрофагов. Встречаются очаги некроза в подкожной клетчатке.

В подкожной мышечной ткани наблюдали коагуляционный некроз. Пораженные мышечные волокна набухшие, гомогенные, поперечные и продольные исчерченности отсутствуют, окрашены эозином в розовый цвет. Ядра находятся в состоянии рексиса и лизиса. Пораженные участки мышечных волокон неравномерно окрашены, имеют неодинаковую толщину, в отдельных участках вздуты в виде колб и распались в отдельные фрагменты и глыбки.

Лимфатические узлы - лимфатические фолликулы увеличены в размере, многие фолликулы имеют четко выраженные центры размножения.

В светлых центрах можно различить ретикулярные клетки, макрофаги, а также единичные клетки плазмцитопоза.

В селезенке - лимфатические фолликулы различной степени увеличены в размерах за счет гиперплазий. В большинстве фолликулов выраженное просветление реактивных центров. Стенки центральных артерий фолликулов утолщены за счет выраженного гиалиноза. Капсула селезенки не утолщена.

Печеночные клетки в состоянии набухания, зернистой дистрофии, некробиоза со спикнотичными ядрами. Синусоидные капилляры слабо наполненные, они сдавлены дистрофическими измененными гепатоцитами. Отмечено полнокровие центральных вен и вен портальных трактов. Отдельные портальные тракты слабо расширены, в их строении диффузная слабо умеренная лимфогистиоцитарная инфильтрация, единичные сегментоядерные лейкоциты.

3.9 Экспериментальное изучение чувствительности различных видов животных к штамму вируса нодулярного дерматита КРС.

Инфицирование животных проводили внутрикожно в дозах 10 тыс. ЭИД₅₀/50 мкл для мышей, 10000 ЭИД₅₀/0,5 см³ для морских свинок, сусликов, кроликов, овец, коз и телят.

Болезнь у теленка протекала остро с проявлением характерных клинических признаков нодулярного дерматита: гипертермия (39,6-40,9 °C), общее угнетение, конъюнктивит со слезотечением, отек одной конечности с развитием хромоты, снижение аппетита, исхудание, общая слабость, образование узелков (ограниченное количество - 10-12 узелков) в коже, в области шеи, груди и бедра.

У подопытной козы наблюдалась не высокая температурная реакция (39,9-40,0 °C) в течение 6 суток.

В ходе ежедневного клинического осмотра у овцы и козы болезнь проявлялась в виде незначительного истечения из глаз и носа, ограничивалась только местной реакцией в виде кожных узлов в месте введения цельного вируса. При вскрытии животных наблюдали реакцию в местах введения вируса в разведениях от 10⁻¹ до 10⁻⁴.

У морских свинок болезнь протекала с повышением температуры тела, угнетением, отсутствием аппетита, а также формированием кожных нодулярных узелков на разных участках тела.

Экспериментальные исследования по чувствительности мышей, кроликов и сусликов к штамму вируса НД КРС показали их нечувствительность.

В сыворотках крови инокулированных вирулентным штаммом вируса НД телят были обнаружены ВНА к вирусу в титрах 1:16-1:32. При исследовании сывороток крови овец и коз также были выявлены ВНА к вирусу НД в титрах 1:8-1:16.

Репродуктивный вирус нодулярного дерматита у КРС, овец, коз и морских свинок с его специфическим антигеном и ДНК были выявлены из всех кожных узлов. При этом титр преципитирующего антигена составил 2-4 log₂, а в ПЦР и ИФА на уровне положительного контроля образовалась четкая линия.

3.10 Изучение антигенного родства между вирусами нодулярного дерматита крупного рогатого скота и оспы коз, оспы овец. Изучение антигенного родства между вирусами НД и оспы овец, а также оспы коз проводили в двух вариантах. В первом варианте крупный рогатый скот иммунизировали гетерологичными вакцинами, т.е. вакцинами против оспы овец и против оспы коз с последующим контрольным заражением эпизоотическим штаммом вируса НД. Во-втором варианте коз заражали внутрикожно эпизоотическим штаммом «НИИПББ-2019/К» вируса НД КРС.

В группе привитых животных иммунизированной вакциной против оспы овец на месте заражения вируса 10^{-3} разведения отмечали уплотнения в размере от 0,5 до 4 см.

Вакцина против оспы коз у животных создавала прочный иммунитет, так как после контрольного заражения вирулентным штаммом «Dermatitis nodulares/2016/Atyrau/KZ» вируса НД КРС у вакцинированных животных не наблюдались какие-либо признаки болезни, характерные для нодулярного дерматита.

У переболевших коз вирусом нодулярного дерматита, вырабатываются антитела к вирусу оспы коз.

3.11 Подбор стабилизирующих компонентов для сохранения вируса. Сохранность испытанных образцов вируса НД зависела от температуры и срока хранения, а также от состава защитной среды. Полученные результаты исследований позволили выбрать оптимальную защитную среду для данного вируса, которой является трехкомпонентная комплексная защитная среда пептон/желатин/сахароза, добавляемая в вирусную суспензию в соотношении 1:1.

ВЫВОДЫ

1. По результатам проведенных исследований установлено, что штамм «НИИПББ-2019/К» вируса НД репродуцируется во всех испытанных клеточных культурах (ПЯ, МДБК, СПЭВ, Vero и ВНК-21). Однако наиболее чувствительной для штамма вируса НД является культура клеток ТЯ.

2. При определении оптимальных параметров культивирования штамма «НИИПББ/К-2019» вируса НД установлено, что для получения активной вирусной биомассы с высоким титром необходимо инфицировать культуру клеток ТЯ дозой вируса 0,01 или 0,1 ТЦД₅₀/кл с 2 % концентрацией сыворотки в составе питательной среды и инкубировать при температуре $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ в течение 120 ч.

3. Анализ результатов исследований по воспроизведению нодулярного дерматита при заражении животных различными методами показал, что вирус НД при подкожной, внутрикожной и внутривенной инокуляции вызывает у крупного рогатого скота острую форму нодулярного дерматита с ярким проявлением характерных клинических признаков болезни. Тяжелее болезнь протекает при внутрикожном и внутривенном заражении.

4. При экспериментальном воспроизведении нодулярного дерматита вместе с лихорадкой в организме развивается виремия, вследствие которого вирус разносится по всему организму и приводит к репродукции его в

эпителиальных клетках слизистых оболочек верхних дыхательных путей, пищеварительного тракта и дермы.

5. Экспериментальные исследования по изучению чувствительности мышей, сусликов, морских свинок, кроликов, телят, овец и коз к штамму «НИИПББ-2019/К» вируса НД показали, что штамм является патогенным в отношении морских свинок, телят, овец и коз.

6. При изучении антигенного родства между вирусами нодулярного дерматита крупного рогатого скота и оспы коз, оспы овец установлено, что у переболевших вирусом нодулярного дерматита коз, вырабатываются антитела к вирусу оспы коз.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Выделенный на территории Казахстана штамм НИИПББ/К-2019 вируса НД после всестороннего изучения биологических свойств был депонирован в Депозитарии возбудителей особо опасных инфекций НИИПББ и может быть использован для производства и контроля диагностических и профилактических средств против нодулярного дерматита.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ:

1. Azanbekova, M. A. Goatpox virus (G20-LKV) vaccine strain elicits a protective response in cattle against lumpy skin disease at challenge with lumpy skin disease virulent field strain in a comparative study/K. Zhugunissov, Ye. Bulatov, M. Orynbayev, L. Kutumbetov, Ye. Abduraimov, Ye. Shayakhmetov, D. Taranov, Zh. Amanova, M. Mambetaliev, Zh. Absatova, M. Azanbekova, B. Khairullin, K. Zakarya, E. Tuppurainen/Veterinary Microbiology//Received 10 January 2020, 0378-1135. The same: [Electronic resource]. - Access mode: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32456811/>
2. Азанбекова, М. А. Чувствительность клоновых популяций клеточной культуры тестикул ягнят к вирусу нодулярного дерматита [Текст] / [Б. Ш. Мырзахметова, Л. Б. Кутумбетов, А. К. Наханов и др.] // Вестник КазАТУ. – №1 (104). – 2020. – С. 131-141; То же: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=53815329>
3. Азанбекова, М. А. Подбор стабилизирующих компонентов для сохранения вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота в условиях лаборатории [Текст] / [М. А. Азанбекова, Ж. С. Абсатова, М. К. Кенжебаева и др.] // Биобезопасность и биотехнология, 2020. - №1. – С. 16-21. То же: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=53815329>

4. Азанбекова, М. А. Определение эффективности воспроизведения нодулярного дерматита крупного рогатого скота при заражении животных различными методами [Текст] / [М. А. Азанбекова, Л. Б. Кутумбетов, Б. Ш. Мырзахметова и др.] // Международной научно-практической конференции «Современные вызовы для биотехнологии, ветеринарии и медицины в период пандемии COVID-19», посвященной 30-летию Независимости Казахстана // 65 – 67 стр. То же: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=53815329>
5. Азанбекова, М. А. Клиническое проявление нодулярного дерматита крупного рогатого скота у различных видов животных в эксперименте [Текст] / [М. А. Азанбекова, Л. Б. Кутумбетов, А. Т. Жунушов и др.] // Известия Национальной Академии наук Кыргызской Республики. – Б., 2023. – №2. – С. 28-39. То же: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=53815329>
6. Азанбекова, М. А. Изучение антигенное родство между вирусами нодулярного дерматита крупного рогатого скота и оспы коз [Текст] / [М. А. Азанбекова, М. Мамбеталиев, М. К. Кенжебаева и др.] // Международной научно-практической конференции «Биотехнология и биологическая безопасность: достижения и перспективы развития» посвященная 65-летию Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности» // Казахстан, - г. Алматы, 2023. – С. 25-26. То же: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=53815329>
7. Азанбекова, М. А. Патоморфологическая характеристика у крупного рогатого скота после заражения вирусом нодулярного дерматита [Текст] / [М. А. Азанбекова, М. Мамбеталиев, А. Т. Жунушов и др.] // Наука, новые технологии и инновации Кыргызстана. – Бишкек, 2023. – № 6. – С. 18-22; То же: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=53815329>

Патент:

8. Азанбекова, М. А. Штамм вируса нодулярного дерматита «НИИПББ-2019/К», используемый для контроля иммуногенности живых и инактивированных вакцин против нодулярного дерматита крупного рогатого скота// Кутумбетов Л. Б., Орынбаев М. Б., Хайруллин Б. М., Закарья К. Д., Султанкулова К. Т., Исимов А. М., Абдураимов Е. О., Нисанова Р. К., Керимбаев А. А., Мырзахметова Б. Ш., Наханов А. К., Бурабаев Б. К., Кошметов Ж. К., Нурабаев С. Ш., Мамбеталиев М., Азанбекова М. А., Касенов М. М. // пгт. Гвардейский. – № 34908 – 2019/0814.1. – 26.02.2021. То же: [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://gosreestr.kazpatent.kz/Invention/DownloadFilePdf?patentId=320364&lang=ru>

Азанбекова Молдир Абдилдаевнанын "Ири мүйүздүү малдын нодулярдык дерматит вирусунун эпизоотиялык штаммынын биологиялык касиеттери" деген темада 03.01.06 – биотехнология адистиги боюнча биология илимдеринин кандидаты окумуштуулук даражасын алуу үчүн жазылган диссертациясынын

РЕЗЮМЕСИ

Негизги сөздөр: нодулярдык дерматит, патогендүүлүк, диагностика, өзгөчөлүк, вируленттүүлүк, вирус, штамм.

Изилдөөнүн объектиси: ири мүйүздүү малдын нодулярдык дерматит тумоосунун вируленттүү штаммы, клетка маданияты жана ар түрдүү жаныбарлар (ири мүйүздүү мал, кой, эчки, коен, деңиз чочкосу, суур, ак чычкан).

Изилдөөнүн предмети: ири мүйүздүү малдын нодулярдык дерматитинин вирусунун эпизоотиялык штаммынын биологиялык касиеттерин изилдөө жана вирустун үлгүлөрүнүн патогендүүлүгүн баалоо, андан кийин диагностикалык, профилактикалык жана вируска каршы дары-дармектерди баалоодо оорунун кепилдүү көбөйүшүнө мүмкүндүк берүүчү патогендик штаммды жана аны малга жугузуу ыкмасын алуу.

Изилдөөнүн максаты: ветеринардык препараттарды иштеп чыгуу үчүн биотехнологияда колдонулган ири мүйүздүү малдын нодулярдык дерматит вирусунун эпизоотиялык штаммынын биологиялык касиеттерин изилдөө.

Изилдөөнүн ыкмалары: вирусологиялык, биотехнологиялык.

Алынган натыйжалар жана алардын жаңылыгы: изилдөөлөрдүн натыйжасында мүнөздүү клиникалык белгилери менен көрүнгөн ооруну пайда кылуу жөндөмүнө ээ эпизоотиялык вирустун үлгүсү тандалып алынды, бул вирус үлгүсүнүн популяциясын жаныбарларга ырааттуу жугузуу процесси аркылуу биологиялык касиеттери (патогендүүлүгү, вируленттүүлүгү, антигендүүлүгү, тректердин жана тректердин репродуктивдүүлүгү, трансмиссивдүүлүгү) изилденди, нодулярдык дерматитти көбөйтүү үчүн жуктуруунун натыйжалуу ыкмалары аныкталды жана бааланды, максаттуу вирусту титрлөө ыкмасы иштелип чыкты, экспериментте оорунун жалпы жана мүнөздүү клиникалык белгилери аныкталды, ылаңдаган жаныбардын организмде вирустун көбөйүү биологиясы изилденди, вирусту баштапкы булактардан бөлүп алуунун натыйжалуу биологиялык модели аныкталды, ткандык вирусун алуу, даярдоо, консервациялоо, сактоо ыкмасы иштелип чыкты, нодулярдык дерматитке каршы вакцинанын иммуногендүүлүгүн контролдоодо жаныбарларга вирус жуктуруу ыкмасы түзүлдү, ал вирусту колдонуу менен

апробацияланган жана Биологиялык коопсуздук маселелери боюнча илимий-изилдөө институтунда атамекендик аттенуацияланган штаммдан «Neethling-RIBSP» даярдалган нодулярдык дерматитке каршы вакцинанын эксперименттик жана өндүрүштүк серияларынын иммуногендүүлүгүн стандартташтыруу практикасында колдонулду.

Колдонуу боюнча сунуштар: азыркы учурда ири мүйүздүү малдын нодулярдык дерматит вирусунун НИИПББ/К-2019 эпизоотиялык штаммы 2020-жылдан тартып Казахстан республикасынын Саламаттыкты сактоо Министрлигинин Биологиялык коопсуздук проблемаларын изилдөө институтунун илимий жана өндүрүштүк ишмердүүлүгүндө активдүү колдонулууда.

Колдонуу тармагы: биотехнология, вирусология, ветеринария.

РЕЗЮМЕ

диссертации Азанбековой Молдир Абдилдаевны на тему: «Биологические свойства эпизоотического штамма вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота» на соискание кандидата биологических наук по специальности 03.01.06 – биотехнология

Ключевые слова: нодулярный дерматит, патогенность, диагностика, специфичность, вирулентность, вирус, штамм.

Объект исследования: вирулентный штамм вируса НД КРС, культуры клеток и различные виды животных (крупный рогатый скот, овцы, козы, кролики, морские свинки, суслики, белые мыши).

Предмет исследования: изучение биологических свойств эпизоотического штамма вируса нодулярного дерматита крупного рогатого скота и оценка патогенности имеющихся образцов вируса, а в последующем получение патогенного штамма и способа инфицирования им восприимчивых животных, позволяющего гарантированно воспроизводить болезнь и оценку эффективности диагностических, профилактических и антивирусных препаратов.

Цель исследования: изучение биологических свойств эпизоотического штамма вируса нодулярного дерматита КРС, используемого в биотехнологии по разработке ветеринарных препаратов.

Методы исследования: вирусологические, биотехнологические.

Полученные результаты и их новизна: подобран образец эпизоотического вируса, обладающего способностью вызывать болезнь НД, с характерными клиническими признаками; изучены биологические свойства (патогенность, вирулентность, антигенность, репродуктивность *in vivo* и *in vitro*, трансмиссивность). Популяции этого образца вируса путем последовательного пассирования на животных, разработаны результативные методы заражения для воспроизведения нодулярного дерматита, отработана методика титрования целевого вируса, определены в эксперименте, общие и характерные клинические признаки болезни изучена биология репродукции вируса в организме инфицированного животного, определена эффективная биологическая модель по выделению вируса из первичных источников, разработана методика выделения вируса, приготовления вирусной массы, консервирования, хранения тканевого вируса; составлена методика заражения животных вирусом при контроле иммуногенности вакцины против нодулярного дерматита. Препарат апробирован и применяется при стандартизации иммуногенности экспериментальных и производственных серий вакцины против нодулярного дерматита, изготавливаемых НИИПББ из аттенуированного отечественного штамма «Neethling-RIBSP».

Рекомендации по использованию: эпизоотический штамм НИИПББ/К-2019 вируса нодулярного дерматита КРС активно используется в научной и производственной деятельности Научно-исследовательского института проблем биологической безопасности (НИИПББ) МЗ РК, с 2020 года.

Область применения: биотехнология, вирусология, ветеринария.

SUMMARY

of the dissertation of Azanbekova Moldir Abdildaevna on the topic: "Biological properties of the epizootic strain of the nodular dermatitis virus of cattle" for the candidate of biological sciences in the specialty 03.01.06 – biotechnology

Key words: nodular dermatitis, pathogenicity, diagnosis, specificity, virulence, virus, strain.

Objects of research: a virulent strain of the cattle ND virus, cell cultures and various animal species (cattle, sheep, goats, rabbits, guinea pigs, ground squirrels, white mice).

Subject of research: the study of the biological properties of the epizootic strain of the nodular dermatitis virus in cattle and the assessment of the pathogenicity of available virus samples, and subsequently to obtain a pathogenic

strain and a method of infecting susceptible cattle with it, allowing guaranteed reproduction of the disease when evaluating diagnostic, preventive and antiviral drugs.

Purpose of the work: to study the biological properties of the epizootic strain of the nodular dermatitis virus of cattle, used in biotechnology for the development of veterinary drugs.

Research methods: virological, biotechnological.

The results obtained and their novelty: as a result of the research, a sample of an epizootic virus with the ability to cause a disease manifested with characteristic clinical signs was selected, the biological properties (pathogenicity, virulence, antigenicity, *in vivo* and *in vitro* reproduction, transmissivity) of the population of this virus sample in the process of sequential passaging on animals were studied, effective methods of infection were established and evaluated to reproduce nodular dermatitis, a method of titration of the target virus has been developed, the general and characteristic clinical signs of the disease were established in the experiment, the biology of virus reproduction in the body of an infected animal was studied, an effective biological model for isolating the virus from primary sources was determined, a method for obtaining, preparing, preserving, storing tissue virus was developed, a method for infecting animals with the virus was compiled while controlling the immunogenicity of a vaccine against nodular dermatitis, which, using the virus, has been tested and applied in the practice of standardizing the immunogenicity of experimental and production series of nodular dermatitis vaccines manufactured at NIIPBB from the attenuated domestic strain "Neethling-RIBSP".

Recommendations for use: currently, the epizootic strain NIIPBB/K-2019 of the nodular dermatitis virus of cattle is actively used in scientific and industrial activities of the Scientific Research Institute of Biological Safety Problems (NIIPBB) of the Ministry of Health of the Republic of Kazakhstan, since 2020.

Scope: biotechnology, virology, veterinary medicine.

Формат 60x84/16. Печать офсетная.
Объем 1,75 п.л. Тираж 20 экз.