

**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.;578.8.;619.;821.

Азанбекова Молдир Абдилдаевна

**ИРИ МҮЙҮЗДҮҮ МАЛДЫН НОДУЛЯРДЫК ДЕРМАТИТ
ВИРУСУНУН ЭПИЗОТИЯЛЫК ШТАММЫНЫН
БИОЛОГИЯЛЫК КАСИЕТТЕРИ**

03.01.06 – биотехнология

Биология илимдеринин кандидаты окумуштуулук
даражасын изденип алуу үчүн жазылган диссертациянын
авторефераты

БИШКЕК – 2024

Иш Казакстан Республикасынын Саламаттык сактоо министрлигинин «Биологиялык коопсуздук проблемалары илимий-изилдөө институту» Республикалык мамлекеттик ишканасында жана Кыргыз Республикасынын Улуттук илимдер академиясынын Биотехнология институтунун лабораториясында аткарылды.

Илимий

Жунушов Асанкадыр Темирбекович

жетекчи:

ветеринария илимдеринин доктору, профессор, Кыргыз Республикасынын Улуттук илимдер академиясынын академиги, Кыргыз Республикасынын Улуттук илимдер академиясынын Биотехнология институтунун директору

Расмий

Керимжанова Бакытжан Фазылжановна ветеринария илимдеринин доктору, профессор, Казакстан Республикасынын «Инфекцияга каршы препараттар илимий борбору» акционердик коомунун эл аралык илимий байланыш бөлүмүнүн жетекчисинин орун басары

оппоненттери:

Орозов Жайлообек Чоконевич

биология илимдеринин кандидаты, Кыргыз Республикасынын Арстанбек Дуйшеев атындагы Кыргыз ветеринария илим-изилдөө институтунун директору

Жетектөөчү

Федералдык мамлекеттик бюджеттик илимий мекеме «Федералдык вирусология жана микробиология илим-изилдөө борбору», Молекулярдык вирусология жана жаныбарлар үчүн дары каражаттары лабораториялары (Россия Федерациясы, Вольгин шаарчасы, Академик Бакулова көч, 1)

мекеме

Диссертациянын коргоосу 2024-жылдын 19-апрелде саат 13-00дө биология илимдеринин доктору (кандидаты) окумуштуулук даражасын коргоо боюнча Кыргыз Республикасынын Улуттук илимдер академиясынын Биотехнология институту жана тең уюштуруучу Кыргыз Республикасынын Улуттук илимдер академиясынын Бийик тоо физиологиясы жана медицинасы институтуна караштуу Д 03.23.680 диссертациялык кеңешинин отурумунда өткөрүлөт. Дареги: 720071, Бишкек ш., Чүй просп., 265, 303-кабинет. Диссертацияны коргоонун видеоконференциясынын шилтемеси - <https://vc.vak.kg/b/032-kpg-yve-qhh>

Диссертация менен Кыргыз Республикасынын Улуттук илимдер академиясынын китепканасынан (720071, Бишкек ш. Чүй просп., 265а) жана https://vak.kg/wp-content/uploads/2024/01/Dissertaciya_-Azanbekova-moldir-19.04.2024.pdf сайтынан таанышууга болот.

Автореферат 2024-жылдын 11-мартта таркатылды.

Диссертациялык кеңештин окумуштуу катчысы
биология илимдеринин кандидаты



А. А. Казыбекова

ИШТИН ЖАЛПЫ МҮНӨЗДӨМӨСҮ

Диссертациялык теманын актуалдуулугу. Бодо малдын нодулярдык дерматити (НД) - бул калтыратма же ысытма, лимфа системасынын бузулушу, тери астындагы бездердин шишиши, тери түйүндөрүнүн пайда болушу, көздүн, дем алуу жана тамак синирүү органдарынын былжырлуу кабыкчаларынын бузулушу менен мүнөздөлүүчү бодо малдын трансмиссивдүү, өтө жугуштуу, өзгөчө трансчегаралык вирустук оору [С. Н. Annandale et al, 2010; E. S. Tuppurainen, 2011; M. A. Alkhamis et al, 2012].

Оорунун экономикалык мааниси негизинен өлүмгө эмес, ооруга чалдыгуунун жогорку деңгээли менен шартталган, анткени өлүм көрсөткүчү 10% дан ашпайт [J. Brenner et al, 2006; F. A. Salib, 2011]. Экономикалык жоготуулар ошондой эле эпизоотиялык кырдаалды жөнгө салуу жана ооруну жок кылуу үчүн келтирилген чыгымдардан турат, анын ичинде СПИДге каршы эмдөөлөр, дезинфекциялоочу жана эпизоотияга каршы иш-чаралар, жаныбарлардын кыймылына жана соодасына чектөөлөр кирет. Тери сырьёлору жараксыз болуп калат же сапаты начар болуп калат.

2016-жылы Казакстанда (Атырау облусунда) туберкулез менен ылаңдаган малдын саны 6894кө жетип, анын ичинен 5750 баш айыгып, 1119 баш өлгөн [https://www.inform.kz/ru/vakcinu-dlya-skota-ot-nodulyarnogo-dermatita-zhdut-v-atyrau_a3008217].

Нодулярдык дерматит пайда болгондо, бодо малды союп, продуктуларын экспорттоого тыюу салынышы керек, бул мамлекетибиз үчүн мал продукциясын экспорттоого багыттоого абдан маанилүү.

Оорунун жалпыланган формасында малдын денесинде диаметри 2-7 см болгон нодулалар (туберкулез шишиктери, түйүндөр) пайда болот, тактап айтканда баш, моюн, желинде жана жамбашта, дененин айрым жерлеринде түйүндөр биригип, жараларды пайда кылат [<http://zhukov-vet.ru/stati/nodulyarnyij-dermatit.html>].

Буга чейин оору Түштүк Африканын көпчүлүк өлкөлөрүндө, Мадагаскарда, Индияда катталган [F. G. Davies, 1991; E. S. Tuppurainen, 2011]. Эл аралык эпизоотиялык бюронун (ЭАЭБ) маалыматы боюнча, 1976-1980-жылдары Борбордук жана Түштүк Африканын 29 өлкөсү жабыркаган [P. M. Beard, 2016].

Бодо малдын кургак учугунун козгогучу - бул ДНК камтыган капталган вирус, Capripoxvirus тукумуна, Poxviridae тукумуна таандык [E. С. Орлова, 2006; W. S. Awad et al., 2010; E. S. Tuppurainen, 2013]. Neethling вирусу кургак учуктун козгогучунун прототиби болуп саналат. Бул

козгогуч эчкинин чечек вирусунан антигендик жактан тиешелүү [E. R. Tulman, 2001; A. Q. King, 2012; M. Ш. Щапиев, 2016].

Ушуга байланыштуу, Казакстанда бодо малдын НД пайда болгондон кийин ири мүйүздүү малды жана ар кандай лабораториялык жаныбарларды пайдалануу менен вирустун бөлүнгөн эпизоотиялык штаммынын биологиялык касиеттерин изилдөө зарылдыгы жана илимий-изилдөө жана өндүрүштүк иштерди жүргүзүү үчүн пайдаланууга мүмкүн болгон биологиялык моделди изилдөө зарылдыгы жөнүндө маселе курч турган.

Диссертациянын темасынын приоритеттүү илимий багыттар, ири илимий (долбоорлор), билим берүү жана илимий мекемелер тарабынан жүргүзүлүүчү негизги илимий-изилдөө иштери менен болгон байланышы. Диссертациялык иш 2019-жылы "БКПИИИда иштелип чыккан нодулярдык дерматитке каршы вакцинанын иммуногендүүлүгүн стандартташтыруу каражаттарын жана методун иштеп чыгуу" темасында демилгелүү долбоордун алкагында Биологиялык коопсуздук проблемалары илимий-изилдөө институтунун (БКПИИИ) базасында аткарылды.

Изилдөөнүн максаты. Ветеринардык препараттарды иштеп чыгуу үчүн биотехнологияда колдонулуучу ири мүйүздүү малдын нодулярдык дерматит вирусунун эпизоотиялык штаммынын биологиялык касиеттерин изилдөө болуп саналат.

Изилдөөнүн милдеттери:

1. Ири мүйүздүү малдын нодулярдык дерматит вирусунун штаммынын оптималдуу өстүрүү системасын аныктоо.
2. Биотехнологияга ылайыктуу жогорку биологиялык активдүүлүккө ээ культуралык биомассаны алуу максатында тандалып алынган өстүрүү системасында бодо малдын нодулярдык дерматит вирус штаммын өстүрүүнүн параметрлерин (инфекциянын дозасы, инкубациялоо убактысы жана температурасы, өсүүчү азык жана багуу чөйрөсүндөгү бодо малдын кан сывороткасынын көлөмүн) аныктоо.
3. Жаныбарлардын ар кандай түрлөрүнө (бодо мал, майда жандыктар, коендор, чыккандар, деңиз чочколору) жана анын антигендик активдүүлүгү үчүн нодулярдык дерматит вирусунун патогендүүлүк спектрин баалоо.
4. Ийкемдүү жаныбарлардын организмде нодулярдык дерматит вирусунун топтолуу динамикасын аныктоо.
5. Бодо малдын нодулярдык дерматити менен эчки жана кой чечек (күл) вирустарынын ортосундагы антигендик байланышты изилдөө.

Алынган натыйжалардын илимий жаңылыгы:

1. Казакстанда биринчи жолу бодо малдын нодулярдык дерматит вирусунан ар кандай клетка культураларынын сезгичтиги аныкталып, биотехнологияда колдонулган культуралык биомассаны алуу үчүн аны өстүрүү параметрлери иштелип чыкты.

2. Малдын ар кандай түрлөрү үчүн НОДУЛЯРДЫК дерматит вирусунун Патогендүүлүк спектри жана антигендик активдүүлүгү аныкталып, ийкемдүү (сезгич) жаныбарлардын организмде нодулярдык дерматит вирусунун топтолуу динамикасы изилденди.

3. Бодо малдын нодулярдык дерматити менен эчки жана кой чечек (күл) вирустарынын ортосундагы антигендик байланышы изилденди.

Алынган натыйжалардын практикалык маанилүүлүгү.

Казакстандын аймагында бөлүнүп алынган НД вирусунун "НИИПББ-2019/К" штаммынын биологиялык касиеттерин ар тараптуу изилдегенден кийин БКПИИИнун өзгөчө коркунучтуу инфекцияларынын козгогучтарынын Депозитарийинде сакталып, ал нодулярдык дерматитке каршы диагностикалык жана алдын алуучу каражаттарды өндүрүү жана контролдоо үчүн колдонулат.

Алынган натыйжалардын экономикалык маанилүүлүгү.

Алынган НИПБВ-2019/К бодо малдын кесек дерматит вирусунун эпизоотиялык штамы Казакстан Республикасынын Айыл чарба министрлиги аркылуу мамлекеттик заказ боюнча даярдалган кесек дерматитке каршы вакцинанын өндүрүштүк партияларынын коргоочу касиеттерин көзөмөлдөө үчүн колдонулат. Учурда вакцинанын 20 миллион дозасы сатылды.

Диссертациянын коргоого коюлуучу негизги жоболору:

1. Клетка культурасынын линияларында бодо малдын нодулярдык дерматит вирусун өстүрүүнүн параметрлери;

2. Нодулярдык дерматит вирусунан ар кандай жаныбарлардын сезгичтиги;

3. Ар кандай жаныбарлардын организмдеги нодулярдык дерматит вирусунун көбөйүү динамикасы жана тропизми;

4. Нодулярдык дерматитти жаныбарларга жуктуруунун ар кандай ыкмалары менен көбөйтүү;

5. Ири мүйүздүү малдын нодулярдык дерматити менен эчки жана кой чечек (күл) вирустарынын ортосундагы антигендик байланышы.

Издөнүүчүнүн жеке салымы. Диссертациялык иштин бардык бөлүмдөрү автордун жеке катышуусу менен аткарылган.

Изилдөөнүн натыйжаларын апробациялоо. Диссертациянын негизги материалдары Казакстандын көз карандысыздыгынын 30 жылдыгына арналган "COVID-19 пандемиясынын мезгилиндеги биотехнология, ветеринария жана медицина үчүн заманбап чакырыктар"

эл аралык илимий-практикалык конференциясында (2021 жылдын 14 декабры, Казакстан, Гвардия ш-сы., 2021. - 67-72 б.); эл аралык илимий-практикалык конференциясында жана Биологиялык коопсуздук проблемалары илимий-изилдөө институтунун 65 жылдыгына арналган «Биотехнология жана биологиялык коопсуздук: жетишкендиктер жана өнүгүү перспективалары» практикалык конференциясында (6-8-сенКТбрь, 2023-ж., Казакстан, Алматы, 2023. – Б. 25-26) баяндалган.

Диссертациянын натыйжаларынын жарыяланышы. Изилдөөнүн натыйжалары 8 илимий эмгекте жарыяланган, анын ичинен 1 макала Scopus жана Web of Science маалымат базасында рецензияланган журналдарда IF=3,6, 2 макала КР Президентине караштуу Улуттук аттестациялык комиссиянын президиуму тарабынан сунушталган басылмаларда, 1 макала Казакстан Республикасынын ББИМ сунуштаган КОКСОН тизмесине кирген журналда жана 1 патент Казакстан Республикасынын Юстиция министрлигинин «Улуттук интеллектуалдык менчик институту» РМК тарабынан алынган.

Диссертациянын түзүлүшү жана көлөмү. Диссертация 153 беттен турат, анын ичинде 36 сүрөт, 17 таблица жана кириш сөздөн, адабияттарга сереп салуудан, изилдөө ыкмаларынан, өздүк изилдөөлөрдүн натыйжаларынан жана аларды талкуулоодон, корутундулардан жана колдонуудан турат. Колдонулган адабияттардын тизмесинде 235 булак, анын ичинде 175 чет элдик авторлордун эмгектери камтылган. Тиркемеде жүргүзүлгөн изилдөөлөрдүн аныктыгын ырастоочу документтер берилген.

ДИССЕРТАЦИЯНЫН НЕГИЗГИ МАЗМУНУ

Киришүүдө иштин актуалдуулугу жана ири мүйүздүү малдын нодулярдык дерматит вирусунун эпизоотиялык штаммынын биологиялык касиеттерин изилдөө зарылдыгы көрсөтүлгөн.

1-бап. Адабий серептер. Оорунун жайылышы, экономикалык зыяны, вирустун биологиялык касиеттери, эпизоотиялык кырдаал, эпизоотияга каршы иш-чаралар жана өзгөчө алдын алуу боюнча ата мекендик жана чет өлкөлүк адабий булактар берилген жана талданган.

2-бап. Изилдөөнүн материалдары жана методдору. Изилдөө изилдөө объектиси, ошондой эле вирусологиялык, биотехнологиялык жана иммунологиялык ыкмалар методдор келтирилген.

"НИИПББ-2019/К" штаммы 2019-жылы НДтин клиникалык белгилеринин мүнөздүү көрүнүштөрү 2016-жылы аргасыздан өлтүрүлгөн ири мүйүздүү малдан (Атырау облусунун Курмангазин районунун чарбасы) алынган «Dermatitis nodulares/2016/Atyrau/KZ» штаммынан бөлүнүп алынган.

Изилдөө объектиси. Ири мүйүздүү малдын вирусунун вируленттүү штаммы, клетка культураны жана жаныбарлардын ар кандай түрлөрү (ири мүйүздүү мал, кой, эчки, коен, деңиз чочкосун, гофер, ак чычкан) болушту.

Изилдөөнүн предмети.

1. Бодо малдын нодулярдык дерматит вирусун өстүрүү параметрлери.
2. Ар кандай ыкмаларды колдонуу менен нодулярдык дерматиттин көбөйүшү.
3. Нодулярдык дерматит вирусунун көбөйүү динамикасы жана тропизми.
4. Жаныбарлардын ар кандай түрлөрүнүн сезгичтиги.
5. Нодулярдык дерматит вирустарынын ортосундагы антигендик байланыш.
6. Вирусту сактоо үчүн турукташтыруучу компоненттерди тандоо.

2.2 Изилдөөнүн методдору.

2.2.1 Бодо малдын нодулярдык дерматит вирусун өстүрүүнүн параметрлери. Тажрыйбаларда козунун тестикулунун (КТ), козунун бөйрөгүнүн (КБ) баштапкы клетка культуралары, африкалык жашыл маймылынын бөйрөк клетка культураларынын линиясы (Vero), чочко эмбрионунун бөйрөк клетка культураларынын версияланган линиясы (СПЭВ) жана торпоктун бөйрөк клеткасынын культураларынын линиясы (MDBK), Сириялык хомяктын жаңы төрөлгөн ымыркайынын бөйрөк клеткасынын бир катмарлуу суспензиялуу сублиниясы (ВНК-21) колдонулган.

2.2.2 Нодулярдык дерматитти ар кандай ыкмалар менен көбөйтүү. Жаныбарларды биоматериалдын вирусу менен жуктуруу же сыналышы үчүн аларды тери астына, тери ичине жана кан тамырга киргизүү ыкмалары колдонулган. Методдордун натыйжалуулугу ылаңдаган жаныбарлардын оорусу, клиникалык белгилеринин сапаты жана өнүгүү динамикасы, ошондой эле алардын ооруларынын жыйынтыгы боюнча бааланат.

2.2.3 Бодо малдын НД вирусунун көбөйүү динамикасы жана тропизми. Вирустун репродуктивдүү жөндөмдүүлүгүн белгилөө үчүн сезгич клетка культуранына же кабыл алган жаныбарларга - бодо малга биологиялык тест жүргүзүү үчүн патологиялык материалдар же ткань жана культуралык суспензиялар түрүндөгү вирустун үлгүлөрү колдонулган.

Вирустун тропизми вирусту эң жогорку концентрацияда өндүргөн жана сактаган органдарды жана ткандарды аныктоо менен аныкталган. Бул үчүн оору пайда болгон жана өөрчүгөн мезгилде ылаңдаган / оорулуу жаныбардын органдарынын жана ткандарынын үлгүлөрү тандалып алынган, андан кийин алар оорунун козгогучунун кармалышы жана толук болуусун изилдөөгө дуушар болушат. Репродуктивдүү вирустун

кармалышы цитопатиялык аракет (ЦА) клетка культурасында же бодо малда патогендик таасири боюнча биопроб аркылуу, ал эми вирустун вириондорунун толуктугу электрондук микроскопиясы менен аныкталат. Вирусту идентификациялоо клетка культурасында же бодо малда нейтралдаштыруу реакциясынын (НР) жардамы менен, ошондой эле полимераздык чынжыр реакциясынын (ПЧР) жардамы менен молекулярдык-генетикалык изилдөө, диффузиялык жаан-чачындын реакциясыда (ДЖЧР) жана байланышкан иммуноферменттик анализде (ИФА) антигендерди аныктоо аркылуу жүргүзүлдү.

2.2.4 Жаныбарлардын ар кандай түрлөрүнүн сезгичтиги. Нодулярдык дерматит вирусунун эпизоотиялык штаммынын патогендүүлүгүн эксперименталдык изилдөө үчүн канында вирустун бул түрүнө каршы антителолорду камтыбаган клиникалык дени сак жаныбарларга колдонулган:

- 5-6 жумалык ак лабораториялык чычкандар, тирүү салмагы 20-25 гр.;
- жашы 2 айлык деңиз чочколору, тирүү салмагы 200-250 гр.;
- жашы 5-6 айлык коендор, тирүү салмагы 2,5-3 кг;
- суурлар;
- жашы 8-12 айлык койлор, тирүү салмагы 25-30 кг;
- жашы 12-18 ай эчкилер, тирүү салмагы 20-25 кг;
- жашы 12-18 айлык музоолор, тирүү салмагы 150-200 кг.

Жаныбарлар эксперимент жүргүзгөнгө чейин 2 жума бою карантинде кармалып, термометрия жүргүзүлүп, клиникалык кароо жүргүзүлүп, нейтралдаштыруу реакциясында (НР) каприпосквирустарга вируснейтрализациялоочу антителолордун болушуна кан сывороткаларына изилдөө жүргүзүлгөн.

2.2.5 Нодулярдык дерматит вирустарынын ортосундагы антигендик байланыш. Нодулярдык дерматит менен эчкинин жана койдун чечеги вирустарынын антигендик туугандыгын аныктоо үчүн «НИСХИ» аттенуацияланган штаммынан койдун чечеги вирусунан каршы жана «G20-LKV» аттенуацияланган штаммынан эчкинин чечеги вирусунан каршы тирүү вакциналар, ошондой эле эчкинин чечеги вирусунун «Pellor» эпизоотиялык штаммы колдонулган.

2.2.6 Вирусту сактоо үчүн турукташтыруучу компоненттерди тандоо. Бодо малдын НД вирусу үчүн коргоочу чөйрөнү тандоодо биз: 12% пептон + 8% лактоза (I топ); 8% пептон + 1% желатин + 6% сахароза (II топ) жана майсыздандырылган уйдун сүтү (III топ) пайдаланылды. Коргоочу каражаттар 1:1 катышында стерилдүү вирустук суспензиясы менен аралаштырылды. Изилдөөлөрдө контролдоо катары коргоочу чөйрөсү жок вирус суспензиясы колдонулган (IV топ).

Вирусту камтыган материалды лиофилизациялоо процесси төмөнкү схема боюнча жүргүзүлдү:

1. 12 саат бою минус 56 °С температурада өтө тондуруу.
 2. 15 %/15 °С режиминде, 0,8-1,0 бар вакуум астында лиофилизациялоо.
 3. 24 °С температурада препаратты материалда 8-10 саат кургатуу.
- Кургатылган вирустун туруктуулугуна коргоочу чөйрөлөрдүн таасирин изилдөө үчүн ампулалар минус (40,0 ± 1,0) °С температурада 12 ай бою сакталган.

Бардык статистикалык анализдер ишенимдүү натыйжаларды алууну камсыз кылган сандарды кайталоосу менен жүргүзүлдү. Эксперименттик маалыматтарды статистикалык текшерүү «Microsoft Office Excel 2010» компьютердик программасынын жардамы менен орточо арифметикалык маанини (\bar{X}) жана катаны (m) эсептөө менен жүргүзүлдү.

3-бап. Жеке изилдөөлөрдүн жыйынтыктары жана аларды талдоо.

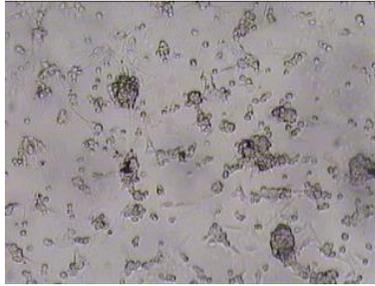
3.1 Бодо малдын нодулярдык дерматит вирусунун казакстандык штаммын көбөйтүү үчүн оптималдуу өстүрүү системасын тандоо. Эң сезгич үзгүлтүксүз клетка линиясы сыналып, жогорку инфекциялык активдүүлүк менен изилденген штаммдын НД вирусунун таралышын камсыз кылынды.

3.1-Таблица. Ар түрдүү клетка культураларында НД вирусунун "НИИПБ-2019/К" штаммынын топтолушунун салыштырма мүнөздөмөсү ($n=3$)

Штаммдын аталышы	Культуранын түрү	ЦАнын көрүнүшүнүн башталышы, с	Культивация мезгили, күн	Вирустун титри, Ig ТЦД ₅₀ /см ³ ($\bar{X} \pm m$)
«НИИПБ-2019/К»	КБ	72-96	6-7	3,08±0,08
	КТ	48-72	4-6	4,67±0,22
	Vero	72-96	6-7	3,92±0,08
	МДВК	72-96	6-7	4,00±0,00
	СПЭВ	72-96	6-7	3,08±0,08
	ВНК-21	72-96	6-7	3,17±0,16

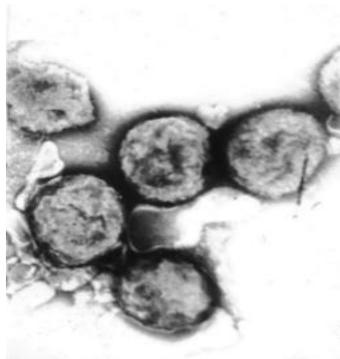
Жүргүзүлгөн изилдөөлөрдүн натыйжалары боюнча НД вирусунун "НИИПБ-2019/К" штаммы бардык сыналган клеткалык культураларда (КБ, МДВК, СПЭВ, ич жана ВНК-21) көбөйтүлөөрү аныкталган. Бирок, сыналган 6 культуранын ичинен вирустун штаммына эң сезгич КТ клеткасынын маданияты болуп чыкты.

Бул культураларда вирустун ЦА биринчи белгилери бир катмардын бетинен жогору көтөрүлгөн клеткалардын (конгломераттардын) сфералык түзүлүшү түрүндөгү вирусту эмдөөдөн кийин 48-72 сааттан кийин байкалган. Клетка катмарынын бузулушу 80-90% түзгөн.



3.1 – сүрөт. Калкан сымал клетка культуранын бир катмарында бодо малдын тери оорусунун вирусунун цитопатиялык таасири.

Клетка культуранында изилденген штаммдын НД вирусунун ЦПД өзгөчөлүгү электрондук микроскопия жана ПЦР аркылуу аныкталган. НД вирусунун культуралык суспензияларын электрондук микроскопиялык изилдөөнүн натыйжалары 3.2-сүрөттө берилген.

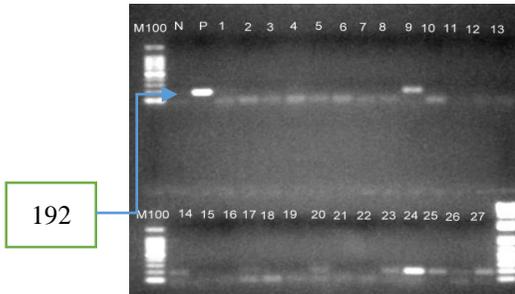


3.2-сүрөт. Бодо малдын нодулярдык дерматит вирусунун изолятынын электрондук микроскопиясы. Терс контраст 2% ФВК, $\times 90000$ эсе жогорулатуу (у.и.к. НИИПББ, Кожабергенов Н. Н)

Бодо малдын НД вирусунун электрондук микроскопиясынын натыйжаларын талдоодо, изилденип жаткан материалда диаметри 270-290 нм болгон шар формасындагы вириондор бар экенин көрсөттү.

Алынган ПЧР продуктуларын аныктоо ТВЕ буфериндеги этидий бромиди менен 1,5% агароз гелинде жүргүзүлдү жана АКШнын «BioRad» гелдик документация системасында талданды.

Жүргүзүлгөн эксперименттердин натыйжалары 3.3-сүрөттө келтирилген.



3.3-сүрөт-бодо малдын нодулярдык дерматитине мүнөздүү ИММ вирусунун ПЦР продуктуларынын ЭЛЕКТРОФОРОГРАММАСЫ (192 п.о.). Эскертүү: М - ДНК маркер, 1 – 27 - изилденүүчү үлгүлөр; N - терс көзөмөл.

Изилдөөлөрдүн натыйжасында орган ткандарынын жана маданий материалдардын үлгүлөрүндө 192 п.о. өлчөмүндөгү бодо малдын нодулярдык дерматитине мүнөздүү ПЦР продуктусу аныкталган..

3.2 нодулярдык дерматит вирусунун "НИИПБ-2019/К" штаммынын генетикалык иденттүүлүгүн жана филогенетикалык таандыктыгын аныктоо. Аткарылган иштин натыйжасында "GPCR" гени үчүн нуклеотиддердин ырааттуулугу алынды:

LSDV_GPCR_GENE

```

TTTTGCATTATCGTTATAAAATACATGACAATACGTTATCCAT
ATACTTTTTTTGTTTCATAAAATAACATTTATTGGAAAGGATTCAATA
GTTGAGACAATCCAAACCACCATACTAAGTACAATTCCATATCGTTT
TGTCSTTATCGGCATTGATTTTACTGGGTGAACACAGCTAGGTATC
TATCAATACTCATCAATGTTATAAATGACATGCTATTGAAAAACCA
ACAAAGTAAACATAGCTTTAAATTTACACAAACAATCTCCTAAAC
TCCATTGTTTAGCGATACTATCGTATAAATTTAAAAGGAAACACCAA
CACGAAAATTTAAATCAGACAGTGTCAAATTAAGCAAAAACWTRTCC
TGTATTRWTTTTATCTTATATTTACGAAGAACAGTTAACACAATTAT
ATTTCCAAATAATCCAAGAAAGAATATAGTCGAATATAAAGTAATC
AGTCCAAAACCTTGAGTATCCACACCATCATCACAATGTGGGATAT
CGACTATGCTCACTTCATAATCATCATAATCATCGCTATAATAAGTT
GTATTATATGCGGTTGTATAATTAGATATCGTTGTTGATTTTCATA
AGTTGAAGGCGTTGTAACATTATTTGATTTGTTGAAATTGACTAA
TAATTGAGTAGCTATAGTGGTAATATTAAGTACTACTATTATACATG
GTTGCGCTACTAAGTACTAAGAGTATAATTCATTTTTGTTGGAGT
TATGCTTTACTTAATCATACACTTTTATTTTATTTTTTTTTTTAATA
AAAACACAGAAATTGGTATCATCATTTATTTTTTTTAAAAAATTTTT
A

```

BLAST базасынын жардамы менен жүргүзүлгөн анализде штамм 2016-жылы Россия Федерациясында бөлүнүп алынган нодулярдык дерматит вирусунун штамдарына 99,55% окшош экени аныкталган.

Sequences producing significant alignments		Download	Manage Columns	Show	100
select all 100 sequences selected		GenBank	Graphics	Distance	tree
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-Cherkesskiya/2016 G protein-coupled receptor (GPCR) gene, partial cds	802	802	100%	0.0	99.55%

3.3 НД вирусунун культуралык суспензияларынын стерилдүүлүгүн аныктоо. НД вирусунун "НИИПБ-2019/К" штаммынын культуралык суспензияларынын стерилдүүлүгү бактериялык чөйрөдө МПА, МПБ, Сабуро (катуу), Сабуро (суюк) жана тиогликол катары текшерилген.

Изилдөөлөр көрсөткөндөй, бактериялык же грибоктук микрофлоранын жана микоплазманын өсүшү байкалган эмес.

3.4 НД вирусунун штаммын in vitro шартында өстүрүү үчүн оптималдуу шарттарды аныктоо

3.4.1 Инфекциялык дозанын көптүгүнө жараша нодулярдык дерматит вирусунун штаммынын in vitro репродукциясын изилдөө. КТ клетка культурасында изилденген штаммдын НД вирусунун топтолуу динамикасы вирустун ар кандай дозалары менен инфекциядан кийин алынган маданий суспензияларды титрлөөнүн маалыматтарын колдонуу менен изилденген.

Таблица 3.2 - НД вирусунун "НИИПБ-2019/К" штаммынын инфекциялоочу дозанын көптүгүнө жараша КТ клетка культурасында топтолушу (n=3)

Штаммдын аталышы	Вирустун инфекциялык дозасы, ТЦА ₅₀ /кл.	Вирусту өстүрүүнүн узактыгы, күн.	Вирустун инфекциялык активдүүлүгү, Ig ТЦА ₅₀ /см ³ (X±m)
«НИИПБ-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

3.2-таблицадагы маалыматтардан көрүнүп тургандай, НД вирусунун «НИРВВ-2019/К» штаммынын максималдуу топтолушу изилденүүчү маданият системасында титрлерде $(4,91 \pm 0,14)$ жана $(4,83 \pm 0,08)$ Ig ТЦД₅₀/см³ 4-6-күндө тиешелүүлүгүнө жараша 0,1 жана 0,01 ТЦД₅₀/кл жугуштуу дозаларында байкалат.

3.4.2 Өсүү узактыгына жараша in vitro НД вирусунун штаммынын топтолуу динамикасын изилдөө. «НИИПББ-2019/К» НД вирусунун штаммынын өстүрүүнүн мөөнөтүн аныктоодо ТН клетка культуурасы 0,01 0,01 ТЦД₅₀/кл дозасында инфекцияланган жана андан ары $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ температурада инкубацияланган.

Таблица 3.3 – Культивациянын узактыгына жараша «НИИПББ-2019/К» НД вирусунун штаммынын КТ клетка культуурасында топтоо динамикасы (n=3)

Штаммдын аталышы	Культивациялоо мөөнөтү, с	Инфекциялык активдүүлүктүн титри, Ig ТЦА ₅₀ /см ³ (X±m)
«НИИПББ-2019/К»	48	3,25±0,14
	72	3,92±0,16
	96	4,67±0,08
	120	4,87±0,08
	144	4,58±0,08

3.3-таблицадагы маалыматтардан көрүнүп тургандай, НД вирусунун "НИИПБ-2019/К" штаммы эң көп титрлерде 120 саат бою инкубациялоодо топтолот, мында вирустун инфекциялык титри $(4,87 \pm 0,08)$ Ig ТЦД₅₀/см³ түзгөн.

3.4.3 Культивация температурасына жараша НД вирусунун штаммынын in vitro көбөйүшүн изилдөө. Бул изилдөөлөрдүн натыйжалары НД вирусунун «НИИПББ-2019/К» штаммдарын ТУ клетка культуурасында көбүрөөк топтоо үчүн стационардык культивациялоо ыкмасын $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ температурада жүргүзүү керек деген тыянак чыгарууга мүмкүндүк берет. .

Таблица 3.4 – Культивация температурасына жараша «НИИПББ-2019/К» НД вирусунун штаммынын КТ клетка культуурасында топтолуу динамикасы (n=3)

Штаммдын аталышы	Өстүрүү температурасы, °C	Культивация мөөнөтү, с	Инфекциялык активдүүлүктүн титри, Ig ТЦА ₅₀ /см ³ (X±m)
«НИИПББ-2019/К»	33 ± 0,5	120	3,58 ± 0,08
	35 ± 0,5		3,92 ± 0,16
	37 ± 0,5		4,75 ± 0,14
	39 ± 0,5		4,25 ± 0,00

3.4.4. ND вирусунун штаммынын репродукциясын in vitro чөйрөсүндө кан сары суусунун концентрациясына жараша изилдөө. Бул козгогуч 2, 5, 10 % сывороткадагы ар кандай чөйрөдө өстүрүлдү.

3.5-Таблица-"НИИПБ-2019/К" штаммынын КТ клетка культуурасында колдоочу чөйрөнүн курамындагы сыворотканын концентрациясына жараша НД вирусунун топтолушу (n=3)

Штаммдын аталышы	Кармалчу чөйрөдө бодо малдын кан сывороткасынын концентрациясы, %	Клетка культуурасында ЦП Днын пайда болуу мөөнөтү, с	Инфекциялык активдүүлүктүн титри, $1g \text{ ТЦА}_{50}/\text{см}^3 (X \pm m)$
«НИИПБ-2019/К»	2	48	$4,75 \pm 0,14$
	5	48	$4,83 \pm 0,08$
	10	48	$4,92 \pm 0,16$
	Сывороткасы жок	72-96	$3,67 \pm 0,16$

3.5-таблицадагы маалыматтардан көрүнүп тургандай, КТ клетка культуурасындагы НД вирусунун "НИИПБ-2019/К" штаммы ($4,75 \pm 0,14$) $1g \text{ ТЦД}_{50}/\text{см}^3$ титринде 2% камтыган сывороткада кармалчу чөйрөнүн курамында топтолот.

3.5 Тандалып алынган өстүрүү системасына НД вирус штаммылайыкташуу. Клетка культуурасында узакка созулган өстүрүүдө НД вирусунун "НИИПБ-2019/К" штаммынын репродуктивдүү касиеттерин изилденди.

3.6-Таблица-НД вирусунун "НИИПБ-2019/К" штаммынын КТ клетка культуурасына адаптацияланышы (n=3)

Штаммдын аталышы	Пассаждык деңгээли	Инфекциялык активдүүлүктүн титри, $1g \text{ ТЦА}_{50}/\text{см}^3 (X \pm m)$
«НИИПБ-2019/К»	1	$4,50 \pm 0,14$
	2	$4,75 \pm 0,14$
	3	$4,92 \pm 0,16$
	4	$5,08 \pm 0,08$
	5	$5,17 \pm 0,08$

Жүргүзүлгөн изилдөөлөрдүн натыйжасында (3.6-табл.), НД вирусунун "НИИПБ-2019/К" штаммы 2-3 өтүүдө КТ клетка культуурасына ийгиликтүү ыңгайлашканы аныкталды.

3.6 Нодулярдык дерматиттин ар кандай ыкмаларды колдонуу менен жаныбарларды жугузууда көбөйүү натыйжалуулугун аныктоо. Вирустук материал биринчи жаныбарга интрадермалдык жол менен куйруктун түксүз бүктөмдүн аймагына жана далынын артындагы териге $0,5 \text{ см}^3$ дозада, экинчисине - үчүнчү моюндун орто бөлүгүнө тери астына, ал эми үчүнчүсү - ар бир ыкмада күрөө тамырына $1,0 \text{ см}^3$ дозада сайылды.

Венага эмдөө жолу менен вирус жуктурган №4 малда инфекция жуккандан кийин 8 күндүн ичинде оорунун клиникалык белгилери байкалган эмес. Бул жаныбарда гипертермия инфекция жуккандан кийин 9-күнү гана пайда болуп, оору аяктаганга чейин 39,8-40,8°С арасында өзгөрүп турган. Оорунун жүрүшүндө көздөн ириңдин агуусу менен конъюнктивит, лимфаденит, мурунда эрозиялык жаралары менен капталган катаралдык ринит, бир буту аксашы, көбүктүү шилекей агуусу, дененин ар кайсы жерлеринде тери без шишиктери жана кандуу ич өтүү пайда болду. Оору 26-күнү оорулуу жаныбардын өлүмү менен аяктады.

Вирусту тери ичине киргизген №5 жаныбардын дене табы оорунун биринчи күнүндө кескин 41,0 °С га чейин көтөрүлүп, ал эми кийинки эки күндө ысытма деңгээли 39,5-40,0 °С чегинде өзгөрүлүп турду. Бул жаныбардын экинчи жана үчүнчү гипертермия күндөрүндө вирустук материал киргизилген жерде көлөмү узундугу 7 см, туурасы жана калыңдыгы 1,5 см, арткы сол бутунун билинбес аксактыгы, чылпактуу конъюнктивит, жалпы абалдын орточо жана табиттин төмөндөшү байкалды. Жаныбар бара-бара чарчап, көбүрөөк жатып, алдыңкы буту шишип, тери бездеринин саны бара-бара көбөйүп, жаныбар 23 сутка бою кыйналып өлтүрүлдү.

Тери астына жуккан №6 жаныбарда алгачкы бир нече суткада (3 суткада) 39,6-40,4°С да болгон гипертермия байкалган. 4-күнү дене температурасы нормалдуу чегинде болгон, бирок буурчак өлчөмүндө мойнуна бир (эки) тери бездери пайда болду. Андан кийин 12-19 сутка аралыгында 40,1 – 40,8 °С чегинде туруктуу гипертермия, жалпы абалдын чөгүшү, табиттин начарлашы, сырткы лимфа түйүндөрүнүн чоңоюшу, денедө кошумча тери бездеринин пайда болушу, аксоо, арыктоо байкалды. Узакка созулган катуу оорудан кийин жаныбардын айыгуу менен аяктады.

Изилдөөнүн жыйынтыгы көрсөткөндөй, тери бездеринен алынган, 6,18 Ig TCD50/г вирус титери камтыган, тери астына, териге жана кан тамырга эмдөөдө ири мүйүздүү малдарда оорунун мүнөздүү клиникалык белгилери ачык көрүнүп, нодулярдык дерматиттин курч формасын пайда кылат. Оору салыштырмалуу тери ичине жана кан тамырга инфекция киргизгенде кыйла оор болот. Тери астына инфекцияны киргизүү оорунун орточо оордукта жана азыраак клиникалык белгилери менен өтөт.

3.7 Бодо малдын денесиндеги нодулярдык дерматит вирусунун көбөйүү динамикасын жана тропизмин аныктоо. НД вирусунун патогендүүлүгүн аныктоо боюнча вирустун концентрациялануучу жерин жана аларда аны сактоо мөөнөтүн изилдөө менен коштолду. Вирустун болушу жана анын концентрациясы РДПдагы антигендин титри, ПЧРдагы вирустун ДНКсы жана жаныбарлардын жана клетка культурасынын титрлери менен белгиленди.

Вирус кан үлгүлөрүнөн физиологиялык нормага чейин жаныбардын дене температурасынын нормалдашуусу менен айырмаланган эмес. Канда вирус жуккандан кийин 14-күнү же ысытма башталгандан кийин 8-күнү топтолгон, анткени анын катышуусу клетка культуурасындагы экинчи пассажга өтүүдө байкалган. Башка мөөнөттөрдө (ысытмага чейин жана андан кийин) чогултулган үлгүлөр үчүнчү пассажда гана ЦПДнын пайда болушуна түрткү берди, бул вирустун салыштырмалуу азыраак концентрациясын көрсөттү.

Бир нече тажрыйбаларда вирусту кан менен кошо бөлүп алуу үчүн, ошондой эле анын лейкоциттик фракциясы колдонулган. Бул учурда, бүт канга салыштырмалуу бул фракциядан вирустун салыштырмалуу тездетилген изоляциясы белгиленди. Эгерде үчүнчү пассажда кандан вирус аныкталса, экинчи пассажда лейкоциттерден байкалды.

Оору мезгилинде жаныбарда 11 күн бою диаметри 0,5-1,0 см болгон териде нодулярдык түйүндөр пайда болгон, аларды изилдөө инфекциядан кийин 14 күн же түйүн пайда болгондон кийин 3 күн аларда вирус канга же секретияга караганда кыйла чоң концентрацияда болгонун көрсөткөн. Клетка маданиятын титрлөөдө кыртыш вирусунун титри $10^{6,18}$ ТЦД₅₀/г болгон.

Теринин жабыркашынын жалпыланышында вирустун эң жогорку инфекциялык титрлери инфекциядан кийин 14 - 22-күнү же экинчи түйүндөр пайда болгондон кийин үчүнчүдөн бешинчи күнгө чейин белгиленген. Экинчи түйүндөрдөгү вирустун титри көрсөтүлгөн мөөнөттө $10^{4,33}$ ИД₅₀/0,5см³ дан $10^{6,34}$ ИД₅₀/0,5см³ чейин болду.

Ооруган бодо малды ичин ачууда төмөнкүдөй патологоанатомиялык өзгөрүүлөр табылган. Баштын терисинде, моюнда, көкүрөктө, ичтин дубалында жана сандарда булчундардын бетинде жана жоонураак жагында мүнөздүү түйүндөр байкалат. КРС НД жабыркаган жаныбарлардын терисин алып салууда тери астындагы ткандарда жабыркоо менен байланышкан кеңири сары-кызыл шишик суюктук табылган. Түйүндөрдүн өлчөмдөрү ар башка, көбүнчө диаметри 8-10 мм болгон түйүндөр бар, бирок чондору да бар.

Музоонун көкүрөк жана ич көндөйүн ачканда сөөктүү плеврада, ашказан-ичеги трактынын органдарынын сероздук кабыкчасынын астында чекиттүү кан агуулар табылган.

Өпкө курч катаралдык пневмонияда, өпкөнүн үстүнкү жана медиалдык бөлктөрү чоңоюп, кочкул кызыл түстө болот. Өпкөнүн сезгенген жерлери тыгыз, органдын жара кесилген жеринде мындай тыгыздалуу байкалбайт.

3.8 Гистологиялык өзгөрүүлөр. Теринин жабыркабаган жеринде эпидермис бирдей калыңдыктагы катмарлуу жалпак муйүзсүмал эпителий

менен көрсөтүлөт. Эпидермис клеткаларынын айрым топтору, негизинен тикенектүү катмарда, көпкөн же орточо гидропиялык дистрофияга ээ болгон. Теринин жабыркаган жеринде эпидермистин мүйүздүү катмары жок. Эпидермис клеткалары жана папиллярдык катмардан тери астындагы кыртышка чейинки теринин бүт тутумдаштыргыч негизи сезгенүү процессине катышат. Айрым жабыркаган эпидермис клеткаларында интрацитоплазмалык эозинофилдик вирустук кошулмалар болгон.

Кээде микро вакуолдор базалдык катмардагы клеткалардын цитоплазмасында болгон. Көптөгөн эпителий клеткалары чач фолликулалары дистрофия жана некроз абалында.

Дерма абдан коюуланып, шишип, көптөгөн кан тамырлар гиперемияланган. Микроскоп астында, теринин жабыркашы бир нече некротикалык аймактар жана дермистин сезгенүү инфильтрациясы менен мүнөздөлгөн. Папиллярдык катмар бир аз коюуланып, көптөгөн кан тамырлар гиперемияланган, дубалдары коюуланган, эндотелий клеткалары, шишик жана люмендер тарылган. Папиллярдык катмардын жабыркаган жерлеринде айрым кан тамырлардын дубалдары некротикалык жана структурасыз бир тектүү көрүнүшкө ээ. Лимфоциттерден, плазма клеткаларынан, макрофагдардан жана жалгыз нейтрофилдерден турган кан тамырлардын айланасында шишик суюктугунун топтолушу жана клетка инфильтрациясы бар.

Некротизацияланган ткандардын жанында тромбдор жана периваскулярдык клеткалык инфильтрация Вена тамырларынын люмендеринде кездешет. Тери астындагы ткань аз сандагы лимфоциттер, плазма клеткалары жана макрофагдар менен инфильтрацияланган. Некроздун очоктору тери астындагы кыртышта кездешет.

Тери астындагы булчуң тканында коагуляция некрозу байкалат. Жабыркаган булчуң жипчелери шишип, бир тектүү, туурасынан кеткен жана узунунан сызыктар жок, алар эозин менен кызгылт түскө боелгон. Ядролор Рекс жана лизис абалында. Катуу жабыркаган аймактар булчуң жипчелери бирдей эмес боелгон, калыңдыгы бирдей эмес, айрым жерлерде колба түрүндө шишип, өзүнчө фрагменттерге жана блокторго бөлүнгөн.

Лимфа бездери-лимфа фолликулалары чоңойгон, көптөгөн фолликулаларда көбөйүү борборлору так аныкталган.

Жарык борборлордо ретикулярдык клеткаларды, макрофагдарды, ошондой эле плазмацитопоздин жалгыз клеткаларын айырмалоого болот.

Көк боор-гиперплазиядан улам ар кандай даражадагы лимфа фолликулдары чоңойгон. Көпчүлүк фолликулаларда реактивдүү борборлордун ачык люминациясы байкалат. Фолликулдардын Борбордук артерия дубалдары көрүнүктүү гиалиноздон улам калыңдайт. Көк боордун капсуласы коюуланган эмес.

Боор-боор клеткалары шишип, гранулдуу дистрофия, пикнотикалык ядролор менен некробиоз абалында. Синусоиддик капиллярлар начар толтурулган, алар дистрофиялык өзгөрүлгөн гепатоциттер менен кысылат. Борбордук тамырлар жана порталдык трактаттардын тамырлары толук кандуу. Айрым портал тракттары начар кеңейтилген, алардын стромасында диффузиялык начар-орточо лимфохистиоциттик инфильтрация, жалгыз сегменттик лейкоциттер.

3.9 Бодо малдын нодулярдык дерматит вирусунун штаммына жаныбарлардын ар кандай түрлөрүнүн сезгичтигин эксперименталдык изилдөө. Жаныбарларга жуктурууну тери ичине чыккандар үчүн 10 миң ЭИД₅₀/50мкл дозада; 10000 ЭИД₅₀/0,5 см³ деңиз чочколору, гоферлер, коендор, койлор, эчкилер жана музоолор үчүн жүргүзүлдү.

Музоонун оорусу нодулярдык дерматиттин мүнөздүү клиникалык белгилеринин көрүнүшү: гипертермия (39,6-40,9 °С), жалпы алсыроо, көздөн жаш агуу менен коштолгон конъюнктивит, бир буттун шишиши аксоо менен, табиттин төмөндөшү, арыктоо, жалпы алсыздык, моюн, көкүрөк жана сан аймактарынын терисинде түйүндөрдүн (чектелген саны - 10-12 түйүн) пайда болушу менен курч өтүү.

Сыналган эчкиде 6 сутка бою төмөн температуралык реакция (39,9-40,0 с) байкалган жок.

Кой-эчкини күнүмдүк клиникалык текшерүүдө оору көздүн жана мурундун анча-мынча суунун агышы көрсөтүлүп, бүтүндөй вирус киргизилген жерде тери түйүндөрү түрүндөгү жергиликтүү реакция менен гана чектелген. Жаныбарларды союуда 10⁻¹ ден 10⁻⁴ чейин суултууган вирус киргизилген жерлерде белгиленген реакциялар көрүнгөн жок.

Гвинея чочколорунда дене табынын көтөрүлүшү, алсыроо, табиттин жоктугу, ошондой эле дененин ар кайсы жерлеринде теринин нодулярдык түйүндөрүнүн пайда болушу менен байкалды.

Чыккандардын, коендордун жана суурларда вирустун штаммына сезгичтигин изилдөө боюнча эксперименталдык изилдөөлөр алардын сезгичтиги жоктугун көрсөттү.

Вирустун вируленттүү штаммы менен эмделген музоолордун кан сывороткаларында ВНА вируска 1:16-1:32 титрлеринде табылган. Кой-эчкинин кан сывороткаларын изилдөөдө да 1:8-1:16 титрлеринде НД вирусуну ВНА аныкталган.

Бардык тери түйүндөрүнөн бодо мал, кой, эчки жана деңиз чочколорундагы нодулярдык дерматиттин репродуктивдүү вирусу аныкталган. Бул учурда, чөккөн антигендин титри 2-4 10⁶ болгон, ал эми ПЧРде жана ИФАда оң көзөмөл деңгээлинде так сызык пайда болду.

3.10 Бодо малдын нодулярдык дерматити менен эчки жана кой чечек вирустарынын ортосундагы антигендик байланышты изилдөө. НД жана кой чечек вирустарынын, ошондой эле эчки чечек вирустарынын ортосундагы антигендик байланышты изилдөө эки вариантта жүргүзүлдү. Биринчи вариантта ири мүйүздүү мал гетерологиялык вакциналар менен, б.а. койлордун чечегине жана эчкинин чечегине каршы вакциналар менен иммунизацияланып, кийин эпизоотиялык штамм менен эпизоотиялык инфекция жуккан, экинчи вариантта - бодо малдын НД вирусунун "НИИПББ-2019/К" эпизоотиялык штаммы эчкилерге жугузулду.

Чечекке каршы вакцина менен эмделген койлордун тобунда 10^{-3} чейин суюлтулган вирусу жуккан жерде 0,5 смден 4 смге чейинки өлчөмдөгү катуулануу байкалган.

Жаныбарларда эчкинин чечегине каршы вакцина күчтүү иммунитетти жаратты, анткени «Dermatitis nodulares/2016/Atyrau/KZ» вируленттүү штаммынан кийин вакцинацияланган жаныбарларда жогоруда айтылган белгилер нодулярдык дерматитке мүнөздүү белгилери такыр байкалган жок.

Нодулярдык дерматит вирусу менен ооруган эчкилерде эчкинин чечек вирусуна антителолор пайда болду.

3.11 вирусту сактоо үчүн турукташтыруучу компоненттерди тандоо. Вирустун сыналган үлгүлөрүнүн сакталышы температурага жана сактоо мөөнөтүнө, ошондой эле коргоочу чөйрөнүн курамына жараша болгон. Изилдөөнүн жыйынтыктары бизге берилген вирус үчүн оптималдуу коргоо чөйрөсүн тандоого мүмкүндүк берди, бул үч компоненттүү пептон/желатин/сахароза комплекстүү коргоо чөйрөсү 1:1 катышында вирустук суспензияга кошулат.

КОРУТУНДУ

1. Жүргүзүлгөн изилдөөлөрдүн натыйжалары боюнча НД вирусунун "НИИПББ-2019/К" штаммы бардык сыналган клеткалык культураларда (КБ, МДВК, СПЭБ, ич жана ВНК-21) репродукцияланат көбөйтүлөөрү аныкталган. Бирок, сыналган 6 культуранын ичинен НД вирусунун штаммына эң сезгич КТ клеткасынын культурасы болду.
2. НД вирусунун "НИИПББ/К-2019" штаммын өстүрүүнүн оптималдуу параметрлерин аныктоодо жогорку титрдүү активдүү вирустук биомассаны алуу үчүн КТ клеткаларын культурасын вирустун дозасы менен 0,01 же 0,1 ТЦД₅₀/кл менен азыктандыруу чөйрөсүнүн курамындагы сыворотканын 2% концентрациясы менен жуктуруу жана $(37,0 \pm 0,5)$ °С температурасында 120 саат бою инкубациялоо зарыл экендиги аныкталды.

3. Жаныбарларга нодулярдык дерматитти көбөйтүү боюнча ар кандай ыкмалар менен жуктурууда изилдөөлөрдүн жыйынтыктарын талдоодо тери алдындагы, тери ичиндеги жана кан тамырга эмдөөдө НД вирусу ири мүйүздүү малдарда оорунун мүнөздүү клиникалык белгилери ачык көрүнүп, нодулярдык дерматиттин курч формасын пайда кылаарын көрсөттү. Салыштырмалуу оор оору тери ичине жана кан тамырга жуктурууда пайда болот.
4. Жүргүзүлгөн изилдөөлөрдүн натыйжалары нодулярдык дерматитти эксперименттик көбөйтүүдө ысытма менен бирге организмде вирусия пайда болуп, анын натыйжасында вирус бүткүл организмге тарайт жана жогорку дем алуу жолдорунун, тамак сиңирүү жолдорунун жана дерманын былжырлуу кабыкчаларынын эпителий клеткаларында анын репродукциясына алып келет.
5. Чычкандардын, суурлардын, деңиз чочкolorунун, коендордун, музоолордун, койлордун жана эчкилердин НД вирусунун "НИИПБ-2019/К" штаммына сезгичтигин изилдөө боюнча эксперименталдык изилдөөлөр штамм деңиз чочкolorунда, музоолордо, койлордо жана эчкилерде патогендүү экенин көрсөттү.
6. Изилдөөдө бодо малдын нодулярдык дерматит вирусу менен эчкинин жана койдун чечегинин ортосундагы антигендик байланыш нодулярдык дерматит вирусу менен ооруган эчкилерде эчкинин чечек вирусунан антителолор пайда болоору аныкталды.

ПРАКТИКАЛЫК СУНУШТАР

Казакстандын аймагында бөлүнүп алынган НД вирусунун штаммы биологиялык касиеттерин ар тараптуу изилдегенден кийин БКПНИИИнун өзгөчө коркунучтуу инфекцияларынын козгогучтарынын Депозитарийинде сакталып, ал нодулярдык дерматитке каршы диагностикалык жана алдын алуучу каражаттарды өндүрүү жана контролдоо үчүн колдонулат.

ДИССЕРТАЦИЯНЫН ТЕМАСЫ БОЮНЧА ЖАРЫККА ЧЫККАН ЭМГЕКТЕРДИН ТИЗМЕСИ

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. Mambetaliyev, 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., Кошеметов 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 оценку патогенности имеющихся образцов вируса, а в последующем на получение патогенного штамма и способа

инфицирования им восприимчивого скота, позволяющих гарантированно воспроизводить болезнь при оценке диагностических, профилактических и антивирусных препаратов.

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

Методы исследования: вирусологический, биотехнологический.

Полученные результаты и их новизна: в результате исследований был подобран образец эпизоотического вируса, обладающего способностью вызывать болезнь, проявляющейся с характерными клиническими признаками, изучены биологические свойства (патогенность, вирулентность, антигенность, репродуктивность *in vivo* и *in vitro*, трансмиссивность) популяции этого образца вируса в процессе последовательного пассирования на животных, установлены и оценены результативные методы заражения для воспроизведения нодулярного дерматита, отработана методика титрования целевого вируса, установлены общие и характерные клинические признаки болезни в эксперименте, изучена биология репродукции вируса в организме инфицированного животного, определена эффективная биологическая модель для выделения вируса из первичных источников, разработана методика получения, приготовления, консервирования, хранения тканевого вируса, составлена методика заражения животных вирусом при контроле иммуногенности вакцины против нодулярного дерматита, которая с использованием вируса апробирована и применена в практике стандартизации иммуногенности экспериментальных и производственных серий вакцины против нодулярного дерматита, изготавливаемых в НИИПББ из аттенуированного отечественного штамма «Neethling-RIBSP».

Рекомендации по использованию: в настоящее время 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 passing 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.

Форматы: 60x84/16. Офсет кагазы.
Көлөмү: 1.75 б.т. Нускасы:20

«Махprint» басмасында басылды.

ИЗДАТЕЛЬСТВО
MAXPRINT
БАСМАСЫ

Дарек: 720045, Бишкек шаары, Ялта көчөсү 114
Тел.: (+996 555) 57-47-98
(+996 505) 92-12-02
e-mail: maxprint@mail.ru