

Министерство здравоохранения Республики Казахстан
Национальный научный центр особо опасных инфекций имени М. Айкимбаева

ОСОБО ОПАСНЫЕ ИНФЕКЦИИ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ



Алматы

Выпуск 7
2024



Национальный научный центр особо опасных инфекций имени Масгута Айкимбаева
Министерства здравоохранения
Республики Казахстан

Учредитель:

Национальный научный центр
особо опасных инфекций им.
Масгута
Айкимбаева

Журнал зарегистрирован
в Министерстве информации и
общественного развития Рес-
публики Казахстан Комитет
информации:
№ KZ23VPY00037930
от 16.07.2021

ISSN: 2789-4991

ISSN: 2958-9002

Главный редактор,
кандидат медицинских наук
З.Б.Жумадилова

Редактор выпуска, д.м.н.
Т. В. Мека-Меченко

Мнение авторов статей не всегда
совпадает с мнением редакцион-
ной коллегии

Редколлегия имеет право от-
клонять от публикации рукопи-
си, получившие отрицательные
отзывы или не отвечающие
правилам для авторов

Адрес редакции: 050054,
Казахстан, г. Алматы,
Жахангер, 14, ННЦООИ
им. М. Айкимбаева,
тел. (8727) 2233821,
nscedi@nscedi.kz

Особо опасные инфекции и биологическая безопасность

№ 7 (спецвыпуск)

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Жумадилова З.Б., ННЦООИ, к.м.н., Алматы
Айкимбаев А. М., ННЦООИ, д.м.н., профессор, Алматы
Атшабар Б. Б., ННЦООИ, д. м. н., Алматы
Ахметова З.Д., Комитет санитарно-эпидемиологического контроля МЗ РК, Астана
Балахонов С.В., директор ФКУЗ «Иркутский ордена Трудового Красного Знамени научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», д.м.н., профессор РФ
Ковалева Г. Г., ННЦООИ, к.м.н., Алматы
Кутырев В. В., директор Российского научно-исследовательского проти-
вочумного института «Микроб», д. м. н., профессор, академик РАН, РФ
Лукас Пейнтнер, PhD, менеджер проекта «Германско-казахстанское со-
трудничество по биобезопасности», ФРГ
Мека-Меченко Т. В., ННЦООИ, д.м.н., Алматы
Мотин В., профессор, США
Садвакасов Н. О., Комитет санитарно-эпидемиологического контроля МЗ РК, Астана
Токмурзиева Г. Ж., ННЦООИ, д.м.н., Алматы
Hong Tang, д.м.н., профессор, генеральный директор Шанхайского Инсти-
тута Пастера, КАН, КНР
Jinghua Cao., генеральный секретарь Альянса международных научных организаций, д.м.н., профессор, КНР

Алматы, 2024

ОСОБО ОПАСНЫЕ ИНФЕКЦИИ И БИОЛОГИЧЕСКАЯ БЕЗОПАСНОСТЬ
№ 7, Алматы, 2024, 91 с.

АСА ҚАУПТІ ИНФЕКЦИЯЛАР ЖӘНЕ БИОЛОГИЯЛЫҚ ҚАУІПСІЗДІК
№ 7, Алматы, 2024, 91 с.

ESPECIALLY DANGEROUS INFECTIONS AND BIOLOGICAL SAFETY
№ 7, Almaty, 2024, 91 с.

Рецензент:

Д.м.н., профессор **А.М. Айкимбаев**

Техническое оформление – **Т.В. Мека-Меченко, А.Л. Шин, С.К. Умарова**

Печатается по результатам реализации научно-технической программы «Совершенствование мер обеспечения биологической безопасности в Казахстане: противодействие опасным и особо опасным инфекциям» на основании решения Ученого совета № 4 от 13 сентября 2024 г



Уважаемые читатели и авторы!

С 2023 года АО Национальный холдинг «QazBioPharm» реализует научно-техническую программу BR218004/0223 «Совершенствование мер обеспечения биологической безопасности в Казахстане: противодействие опасным и особо опасным инфекциям» (НТП), финансируемой Министерством науки и высшего образования РК 2023-2025 годы, соисполнителями которой являются ННЦООИ, КазНИВИ, НЦБ, НИИПББ, РКМ, НТБ, OtarBioPharm и НАЦ Биомедпрепарат.

В специальном выпуске нашего журнала представлены результаты исследований учреждениями-соисполнителями в период реализации НТП.

Надеюсь, что статьи будут интересны и полезны ученым разного профиля, а практика обмена научными публикациями будет успешно продолжена в будущем.

Хочу выразить свое признание и уважение всем авторам и редакторам, кто принимал активное участие в подготовке данного спец выпуска.

З.Б. Жумадилова
Генеральный директор
Национального научного центра
особо опасных инфекций
имени Масгута Айкимбаева,
главный редактор журнала
«Особо опасные инфекции и
биологическая безопасность»

УДК: 578.821.21:616-036.22616.98:619

МЕТОДИКИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ВСПЫШЕК И МЕРЫ ПО КОНТРОЛЮ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ОСПЫ ОВЕЦ И КОЗ В КАЗАХСТАНЕ

Остапчук Е.О., Жигайлов А.В., Перфильева Ю.В., Бисенбай А.О.,
Мамадалиев С.М., Скиба Ю.А.

*Филиал ТОО "Национальный центр биотехнологии", АО «Национальный холдинг
"QazBioPharm"*

Оспа овец и коз – высоко контагиозная особо опасная болезнь мелкого рогатого скота, характеризующаяся лихорадкой, образованием в эпителии кожи и слизистых оболочек папулезно-пустулезных поражений, а также поражением легких. Болезнь наносит овцеводству огромный ущерб за счет потерь от падежа, вынужденного убоя животных, снижения продуктивности, затрат на проведение ветеринарно-санитарных и охранно-карантинных мероприятий. Оспа овец и оспа коз эндемична в Африке к северу от экватора, на Среднем Востоке и в Азии, в том числе и в Казахстане. В некоторых странах недавно были зарегистрированы вспышки этих болезней, включая Болгарию, Китайский Тайбей, Израиль, Казахстан, Кыргызстан, Монголию, Марокко, Грецию и Россию. В связи с глобализацией экономических отношений многих стран мира, в число которых стремительно входит и Республика Казахстан, эпизоотическая ситуация становится все уязвимей для проникновения и распространения опасных и особо опасных инфекционных болезней, в том числе оспы овец и коз. В настоящей статье приводятся методики для оценки эпизоотологической ситуации и прогнозирования вспышек, а также рекомендации по проведению ветеринарных мероприятий и контролю оспы овец и коз в Казахстане, основанные на результатах проведенного мониторингового исследования эпизоотологической ситуации и анализа рисков распространения оспы овец и коз на территории Казахстана в 2021-2023 гг.

Ключевые слова: оспа мелкого рогатого скота, вирус оспы овец, SPPV, вирус оспы коз, GTPV, прогнозирования вспышек, ветеринарные мероприятия, Казахстан

Введение

Овцеводство в Казахстане является традиционной отраслью животноводства. Одной из наиболее значимых в экономическом плане болезней мелкого рогатого скота (МРС) является оспа овец и коз. Оспа овец и коз – высоко контагиозная особо опасная болезнь МРС, характеризующаяся лихорадкой, образованием в эпителии кожи и слизистых оболочек папулезно-пустулезных поражений, а также поражением легких [1]. Крупные вспышки этой инфекции обычно имеют циклический характер (с повторением на одной территории через 3-5 лет) [1]. Эндемичными считаются азиатские и африканские страны. На регулярной основе вирус детектируется в граничащем с Казахстаном Китае.

Вызывают оспу овец и коз два близкородственных вируса из рода каприпоксвирусов (Capripox virus) семейства поксвирусов (Poxviridae), SPPV и GTPV, которые объединяют в единый надвидовой комплекс – каприпоксвирус мелких жвачных животных [2, 3]. Если SPPV в основном поражает овец, то GTPV – преимущественно коз. Однако, некоторые линии SPPV и GTPV одинаково эффективно поражают как коз, так и овец, вызывая у них сходные симптомы [4]. Эти два вируса разделимы генетически, но серологически дифференцировать их не представляется возможным даже используя реакцию нейтрализации [2, 3]. Оба каприпоксвируса могут присутствовать в популяциях как коз, так и овец [4]. Как и все поксвирусы, SPPV и GTPV являются крупными ДНК-вирусами. Помимо SPPV и GTPV, к каприпоксвирусам также относится вирус нодулярного дерматита (Lumpy skin disease virus, LSDV). Нуклеотидная идентичность геномов SPPV, GTPV и LSDV составляет не менее 95% [5]. Геном каприпоксвирусов представлен двунизовой линейной ДНК, свернутой в гантелеподобные структуры (~ 150 тыс. п.о.).

Случаи заражения человека каприпоксвирусами неизвестны, поэтому оспа МРС не считается зоонозной инфекцией. Согласно Всемирной организации по охране здоровья животных (МЭБ), оспа овец и коз относится к болезням, подлежащим уведомлению, из-за быстрого распространения инфекции и значительного экономического ущерба, который она может причинить [3, 6-9].

Основные пути заражения: аэрогенный (через воздух), контактный и алиментарный (через пищу) [8]. Кроме того, кровососущие стабильные мухи (*Stomoxys calcitrans*) были вовлечены в инфекции посредством механической передачи каприпоксвирусов [8]. Эти мухи-гемофаги распространены по всей территории РК, поэтому нет необходимости вносить этот параметр в оценку рисков распространения инфекции. Мухи лишь вносят вклад в сезонность распространения оспы овец и коз. Однако, следует отметить, что трансмиссивный путь передачи вируса не играет первостепенного значения. При поражении молочной железы вирус выделяется с молоком, но у ягнят, родившихся от болеющих животных, как правило, первые недели сохраняются антитела матери.

Если пораженное животное не умирает во время острой фазы болезни, вызванные вирусом папулы и ранки зачастую провоцируют развитие сопутствующих бактериальных и грибковых инфекций, которые также могут приводить к ассоциированной с болезнью смертности овец и коз и к более тяжелым клиническим проявлениям. Поражение тканей ротовой полости приводит к снижению потребления пищи и к истощению больных животных, а поражение глаз – к конъюнктивиту, образованию бельма и слепоте [1]. Качество шерсти больных и переболевших животных резко снижается. Кроме того, снижаются удои и происходит увеличение аборт. Общие потери, связанные с болезнью, оцениваются в 30–43% от общего годового дохода от овцеводства, при этом восстановление стада после эпидемии может занять до шести лет [10].

Клинические проявления болезни: опухают веки, из глаз и носа начинают вытекать выделения (сначала серозно-слизистые, затем серозно-гнойные). Дыхание у животных становится затрудненным и сопящим, наблюдается гипертермия (до 40-41°C). Начинает проявляться оспенная сыпь на голове, губах, вокруг глаз, на передних и задних конечностях, на мошонке и крайней плоти у самцов, а также на коже вымени и слизистой оболочке срамных губ у самок. При этом сыпь вначале имеет вид небольших круглых розоватых пятнышек, которые затем превращаются в плотные округлые папулы, которые с течением времени увеличиваются в размере. Через 1-3 дня эпидермис на периферии папул приподнимается. Папулы в это время пропитаны прозрачной слегка желтоватой серозной жидкостью. Везикулы и пустулы обычно не образуются. На пораженных участках кожи под струпом образуются соединительнотканые рубцы. Струп у больных животных отпадает через 4-6 дней после начала проявления симптомов. В том случае, если оспенный процесс осложнился, то у больного животного наблюдаются признаки поражения дыхательных путей и желудочно-кишечного тракта. Вызванные вирусом папулы и ранки зачастую провоцируют развитие сопутствующих бактериальных и грибковых инфекций, которые также могут приводить к ассоциированной с болезнью смертности овец и коз. Поражение тканей ротовой полости приводит к снижению потребления пищи и к истощению больных животных, а поражение глаз – к конъюнктивиту, образованию бельма и слепоте [1].

Болезнь распространяется в виде эпизоотий. Через 2-4 недели в стаде, если не приняты своевременно меры, зараженными в стаде оказываются большинство животных. Летальность при вспышке оспы в эндемичных по болезни регионах от самой болезни невысокая (до 2-5%), хотя может достигать 100% в неэндемичных районах, а также среди импортированного скота [2]. Летальность среди молодняка значительно выше, чем среди взрослых животных.

Оспа овец и коз широко распространена в мире, в особенности на территории государств с развитым овцеводством.

Для Казахстана эта болезнь считается эндемичной. Вспышки оспы овец и коз прежде происходили в Казахстане. За период с 1961 по 2000 гг. на территории страны было зафиксировано 186 вспышек этой инфекции [11]. За последние 10 лет вспышки фиксировались в Кызылординской (2013), Туркестанской (2013 и 2015), Восточно-Казахстанской (ВКО) (2015), Западно-Казахстанской (ЗКО) (2015, 2019), Мангистауской (2019) и Атырауской (2019) [19-21]. Прежде болезнь регистрировалась и в других областях, например, в Павлодарской области (2010 год).

Поэтому проведение широкомасштабного мониторинга на регулярной основе, а также разработка методик для оценки эпизоотологической ситуации с целью предупреждения возникновения вспышек оспы овец и коз, а также разработка рекомендаций по проведению ветеринарных мероприятий и контролю оспы овец и коз в Казахстане является важной задачей отечественного животноводства и эпидемиологии.

1. Методики, принципы и порядок прогнозирования вспышек оспы овец и коз

Для анализа рисков заноса и распространения оспы овец, а также для оценки уровня потенциально экономического урона, который может быть связан с распространением возбудителя этой болезни МРС, важно оценить следующие факторы: история вспышек оспы овец и коз на заданной территории; плотность и общее поголовье восприимчивых к вирусу животных в регионах; способ передачи возбудителя; наличие превентивных способов минимизации рисков, связанных с распространением инфекции (например, наличие вакцин), и степень внедрения этих методов на практике (доступность для хозяйств), наличие способов лечения; генотип возбудителя, опосредующий степень симптоматических проявлений, уровень летальности и уровень инфекционности; фактическое состояние эпизоотологического процесса по оспе овец в данном регионе (стране), включая средний уровень серопревалентности антител в стадах; риск заноса инфекции из эндемичных по болезни регионов или государств и оценка потенциальной скорости распространения инфекции, оценивая географические особенности регионов; возможности по искоренению болезни с эндемичных территорий, наличие или отсутствие законодательных актов по контролю/искоренению инфекции.

Важным является тщательный анализ данных касательно вспышек инфекции, происходивших в стране ранее, а также анализ сообщений в СМИ относительно вспышек инфекций неуточненной этиологии с клиническими проявлениями, сходными с оспой овец и коз. Если вспышка оспы овец и коз происходила в заданном регионе страны прежде, с высокой долей вероятности стоит ожидать возникновение новой вспышки инфекции в этом же регионе. Это объясняется высокой стабильностью вирусных частиц поксвирусов во внешней среде и высоким уровнем контагиозности возбудителя этой болезни МРС.

Основные носители вируса – домашние козы и овцы. Каприпоксвирусы в целом, в отличие от других родов поксвирусов, отличаются узким кругом своих хозяев. Но хотя, в отличие от LSDV, к настоящему времени нет четких указаний, что SPPV и GPV могут поражать диких жвачных [6, 7], нельзя исключать их проникновение в популяцию диких козлов и баранов, а также сайги на территории Казахстана. Таким образом, при оценке рисков распространения инфекции необходимо учитывать общее поголовье и плотность МРС в заданном регионе страны. Диких горных баранов и козлов необходимо рассматривать как потенциальных распространителей оспы овец и коз через горные хребты Тянь-Шаня и Джунгарского Алатау. Разные породы овец и коз имеют неодинаковую природную устойчивость к каприпоксвирусам: наиболее восприимчивы тонкорунные породы МРС.

Основные пути заражения: аэрогенный (через воздух), контактный и алиментарный (через пищу) [8]. Кроме того, кровососущие стабильные мухи (*Stomoxys calcitrans*) были вовлечены в инфекции посредством механической передачи каприпоксвирусов [8]. Эти мухи-гемофаги распространены по всей территории РК, поэтому нет необходимости вносить этот параметр в оценку рисков распространения инфекции. Мухи лишь вносят вклад

в сезонность распространения оспы овец и коз. Однако, следует отметить, что трансмиссивный путь передачи вируса не играет первостепенного значения. При поражении молочной железы вирус выделяется с молоком, но у ягнят, родившихся от болеющих животных, как правило, первые недели сохраняются антитела матери. Болезнь распространяется в виде эпизоотий. Через 2-4 недели в стаде, если не приняты своевременно меры, зараженными оказываются большинство животных. Летальность при вспышке оспы в эндемичных по болезни регионах от самой болезни невысокая (до 2-5%), хотя может достигать 100% в неэндемичных районах, а также среди импортированного скота [2]. Летальность среди молодняка значительно выше, чем среди взрослых животных.

Для лечения оспы овец специфического лечения не предусмотрено. Используя неспецифические методы лечения можно существенно повысить выживаемость животных и снизить экономические потери (оспины на коже размягчают нейтральными жирами, мазями или глицерином, а язвенные поверхности обрабатывают йодом, 3-5% хлорамином; носовую полость и конъюнктиву промывают теплой водой и орошают 2-3% раствором борной кислоты). В зимние месяцы целесообразно превентивно назначать антибиотики для предотвращения риска сопутствующих инфекций, в особенности – развития некробактериоза.

В качестве профилактики используют вакцинацию: в мире разработаны живые аттенуированные, инактивированные, а также рекомбинантные вакцины от этой инфекции. Аттенуированные вакцины более эффективны, вызванный ими иммунитет более продолжителен в сравнении с инактивированными и вакцинами на основе рекомбинантных белков вируса. Живые аттенуированные вакцины не рекомендуется использовать для территорий, неэндемичных для инфекции. Наша страна считается эндемичной по оспе овец и коз, поэтому нет никаких препятствий для использования этого типа вакцин. Важными показателями являются; 1) процент поголовья, прошедший ежегодную вакцинацию от оспы овец и коз; и 2) уровень антител к каприпоксвирусам у вакцинированных в течение года животных (показатель эффективности проводимой вакцинации).

Каприпоксвирусы отличаются очень высокой стабильностью генома, то есть генетическое разнообразие очень незначительно. В то же время, по некоторым локусам можно дифференцировать SPPV от GPV и LSDV, и даже мезогенные (вакцинные) штаммы от полевых генетических вариантов. Некоторые варианты SPPV отличаются более высокой инфекционностью и летальностью в сравнении с другими вариантами. Такие различия могут быть выявлены методом частичного или полногеномного секвенирования ДНК. Наиболее важным для оценки рисков необходимо дифференцировать полевые генотипы SPPV и GPV от мезогенных вакцинных штаммов этих вирусов и любых штаммов LSDV. Лишь выявление первых из них является четким указанием на высокий риск вспышки инфекции в регионе, в котором они были выявлены.

Каковы бы ни были результаты моделирования риска заноса и распространения инфекции на заданной территории, без учета фактических данных касательно эпизоотологического процесса уровень доверия к результатам оценки рисков не может считаться высоким. К фактическим показателям, по которым можно судить об уровне риска по оспе овец, относится общий уровень серопревалентности антител среди коз и овец к каприпоксвирусам в регионе, а также тот же показатель среди непривитых животных. Общий уровень превалентности антител к каприпоксвирусам является важным показателем в силу того, что переболевшие животные в подавляющем большинстве случаев невосприимчивы к вирусу. Хотя достоверно установленный уровень защиты при вакцинации скота аттенуированной вакциной от оспы овец составляет 12 месяцев, ряд исследований указывают на более продолжительный протективный эффект этих вакцин.

Также важны данные по выявлению ДНК полевых штаммов SPPV и GPV. Выявление ДНК в крови хотя бы одного животного в стаде указывают на высокий риск возник-

новения вспышки, в этом случае все стадо (ЭЕ, эпизоотическая единица) считается зараженным инфекцией.

Риск заноса инфекции. Если регион неэндемичен по инфекции, важным показателем является шанс заноса вируса из эндемичных по болезни регионов страны или из других государств. Для оценки рисков следует, во-первых, провести анализ эпизоотологической ситуации по оспе овец в сопредельных регионах, а, во-вторых, оценить, какой процент поголовья скота ввозится в регион из стран или регионов, эндемичных по инфекции, а также установить фактическое поголовье ввозимого в регион скота, восприимчивого к возбудителю оспы МРС. Для оценки скорости распространения инфекции важно учитывать наличие географических преград для распространения вируса (наличие горных хребтов, крупных рек и озер, пустынь). Климатические характеристики регионов не играют существенного значения при оценке рисков в отношении оспы овец и коз.

Оценка потенциала для искоренения инфекции в эндемичных по болезни регионах. Если установлено, что регион является эндемичным по оспе овец, крайне маловероятно, что инфекция элиминируется самостоятельно. Эта болезнь имеет склонность к вялому течению и длительному сохранению на зараженной территории. Поксвирусы в целом характеризуются крайне высокой стабильностью во внешней среде. В высушенном состоянии они могут сохранить жизнеспособность в течение многих лет. Для искоренения поксвирусных инфекций из того или иного региона требуется запуск жестких государственных и межгосударственных программ по контролю за инфекцией. Немаловажным показателем в данном случае является степень концентрации овец в крупных предприятиях. Если подавляющее поголовье восприимчивых к вирусу животных сосредоточено в руках частных хозяйств, в мелких хозяйствах и подворьях, программы по контролю и искоренению оспы овец и коз не могут считаться эффективными.

2. Принципы проведения мониторинговых исследований

Обычно мониторинг проводится в наиболее рискованных по инфекции регионах. Минимальный (критический) размер выборки для проведения ежегодного мониторингового исследования в отношении оспы овец и коз определяются по формуле [12, 13]:

$$(1) \text{ Размер выборки } (n) = N * [Z^2 * p * (1-p)/e^2] / [N - 1 + Z^2 * p * (1-p)/e^2]$$

где: N – размер популяции МРС в зоне мониторинга;

Z - критическое значение нормального распределения при требуемом уровне достоверности;

p – ожидаемый уровень превалентности антител, %;

e – допустимая погрешность.

На 01.04.2024, согласно официальным данным бюро по статистике в РК [14], в стране содержится 23712,3 тыс. голов овец и коз. Поскольку прежде широкомасштабных мониторингов оспы овец и коз в стране не проводилось, уровень серопревалентности антител следует принять равным 50% (согласно [12]). Для эпидемиологических исследований доверительный интервал в подавляющем большинстве случаев принимается равным 95%, поэтому при расчетах рекомендуется это значение; следовательно, значение Z для этого доверительного интервала составляет 1,96 [1, 12]. Допустимая ошибка обычно в расчетах полагается равной 5% [1, 2, 12]. Таким образом, для групп от пяти до тридцати животных минимальное требуемое число животных по расчетам составляет 400 в год. Как правило, в мониторинг вовлекается число животных, превышающее критический размер выборки минимум на 10%, поскольку какая-то доля образцов может оказаться непригодной для анализа (например, сыворотка может быть гемолизированной, а кровь – свернувшейся).

Установленное количество образцов, отбираемое для целей мониторинга, должно быть распределено по точкам сбора (сбор образцов должен быть осуществлен минимум в десяти разных локациях, либо эпизоотологических единицах (ЭЕ)). Желательно, чтобы в мониторинг было вовлечено несколько районов каждой из областей, покрываемых мониторинговой программой. В пределах данной локации (или ЭЕ) отбор животных для целей мониторинга должен иметь случайный характер (если все животные не проявляют симптомов, которые можно адресовать на счет оспы овец и коз). Важно, чтобы среди животных, отобранных для мониторинга, присутствовали животные обоих полов и разных возрастных групп. Если будут замечены животные с симптомами, сходными с проявлениями оспы овец и коз, именно они должны быть дополнительно отобраны для лабораторных анализов (семитаргетный отбор проб, нацеленный на максимально эффективное выявление признаков циркуляции вируса в стадах).

Образцы, отбираемые для лабораторного анализа у живых животных: цельная периферическая кровь, сыворотка, назальные истечения (при отсутствии – назальные мазки), а при наличии папул на коже животного – смывы с папул.

3. Методы для выявления признаков распространения SPPV и GPV

При постановке клинического диагноза начальную стадию болезни дифференцируют от грибковой парши, клещевой чесотки, папулезной (незаразной) экземы и контактиозного пустулезного дерматита овец и коз (эктимы).

Помимо SPPV и GPV к каприпоксвирусам относится вирус LSDV, преимущественно поражающий КРС. В то же время, доказаны случаи распространения вируса нодулярного дерматита среди овец и коз [9]. Кроме того, вакцинация от оспы овец и коз проводится массово в нескольких областях страны на ежегодной основе. Все эти моменты указывают на то, что применение только серологических методов диагностики не позволит в полной мере оценить распространенность инфекции в РК, в особенности же в областях, вовлеченных в программу вакцинации.

Так как серологически инфекцию LSDV невозможно дифференцировать от инфекций, вызванных SPPV или GPV (тем более серологические методы не позволяют дифференцировать вакцинированных животных от переболевших инфекцией), в мониторинговых исследованиях МРС крайне необходимо использовать прямые молекулярно-биологические методы, позволяющие проводить дифференциацию между этими вирусами (секвенирование ДНК, методы на основе ПЦР в реальном времени (ПЦР-РВ), дифференцирующие методы классической ПЦР, гибридизация нуклеиновых кислот, методы изоляции вируса с последующей электронной микроскопией или применением реакции нейтрализации). Особую важность это имеет для РК, поскольку в последние годы (начиная с 2018 года) в нашей стране фиксируются вспышки нодулярного дерматита, и на значительной территории страны были использованы живые аттенуированные вакцины от LSDV, что представляет риск для проникновения и распространения этого вируса в популяции МРС.

Помимо дорогих коммерчески доступных наборов для ПЦР-РВ, имеется описанный в литературе валидированный метод классической ПЦР для детекции каприпоксвирусов, позволяющий дифференцировать вакцинные изоляты (включая применяющийся для вакцинации на территории страны штамм НИСХИ (NISHI)) от полевых генетических линий SPPV и GPV, а также от LSDV [15].

Для детекции каприпоксвирусов в стадах МРС как методом классической ПЦР, так и методом ПЦР-РВ, используются локусы: GPCR (G-protein-coupled chemokine receptor gene), RPO30 (ген РНК-полимеразы вируса), P32 (ген белка оболочки белка P32) [16-18].

4. Общая стратегия по минимизации угроз, связанных с оспой овец и коз

С целью предупреждения возникновения вспышек оспы овец и коз, а также для обеспечения эффективной реализации профилактических мероприятий, территорию страны условно разделяют на 3 зоны (по областям) в соответствии с регулярно проводимым анализом рисков:

1) «зона 1» – неблагополучная по оспе овец и коз, в которую входят области, на территории которых вспышки инфекции фиксировались в течение последних трех лет;

2) «зона 2» - благополучная, с высоким риском возникновения и распространения инфекции.

3) «зона 3» – благополучная, с низким риском возникновения инфекции.

В «зоне 1» рекомендуется на ежегодной основе проводить кросс-секционный мониторинг как по клиническим признакам, так и проводя лабораторные анализы (как серологическое обследование сывороток, так и ПЦР-анализ образцов ДНК, выделенных из периферической крови животных). Показана вакцинация коз и овец живой аттенуированной вакциной с охватом более 50% от поголовья МРС области.

В «зоне 2» рекомендуется проводить периодический мониторинг по оспе овец и коз (как минимум – серологические обследования; ПЦР-анализ крайне желателен). Рекомендована вакцинация овец и коз живыми либо инактивированными вакцинами от оспы овец. Рекомендовано повышенное внимание со стороны ветеринарных контролирующих органов по отслеживанию любых клинических проявлений, сходных с симптомами оспы овец и коз.

В «зоне 1» не рекомендуется использовать для вакцинации коз и овец живые аттенуированные вакцины (если превентивную вакцинацию решено применять, то лишь с использованием вакцин, в которых действующим компонентом не являются живые вирусы). Здесь проводятся стандартные мероприятия по недопущению заноса инфекции в благоприятную по болезни зону.

4.1. Ветеринарные правила проведения мероприятий по профилактике оспы овец и коз

4.1.1. Профилактические мероприятия, проводимые на территории ветеринарно-санитарного благополучия с минимальным риском возникновения очагов инфекции

Для предупреждения возникновения и распространения оспы овец и коз необходимо:

1) не допускать ввоза на территорию (в регион) ветеринарно-санитарного благополучия живых овец и коз, эмбрионы и сперму производителей (МРС), а также кормов и инвентаря из регионов неблагополучных по оспе овец и коз;

2) всех поступивших (импортированных из других регионов и стран) в хозяйствующие субъекты овец и коз выдерживать изолированно 30 (тридцать) дней;

3) осуществлять систематическое ветеринарное наблюдение за состоянием овец и коз;

4) закрепить за отарами постоянный обслуживающий персонал, а также пастбищными участками, местами поения и путями перегонов.

4.1.2. Профилактические мероприятия, проводимые на территории, где повышен риск возникновения и распространения оспы овец и коз

Все овцеголовье хозяйствующих субъектов в угрожаемой по оспе овец зоне, включая поголовье, расположенное на территории районов, непосредственно граничащих с сопредельными странами, неблагополучными по оспе овец и коз, необходимо регулярно (согласно плану профилактических и противоэпизоотических мероприятий) подвергать профилактической вакцинации против этой инфекции, в соответствии с инструкцией по ее применению.

Вакцинации подлежит овцеголовье бывших неблагополучных пунктов в течение трех лет после ликвидации в них оспы овец.

4.2. Мероприятия, проводимые в эпизоотических очагах и неблагополучных районах

При подозрении в хозяйствующем субъекте заболевания оспой овец и коз ветеринарный специалист немедленно сообщает об этом главному государственному ветеринарному инспектору соответствующей административно-территориальной единицы.

Главный государственный ветеринарный инспектор соответствующей административно-территориальной единицы после получения извещения о появлении оспы овец немедленно прибывает на место возникновения болезни и организует эпизоотологическое обследование неблагополучного пункта с определением границ эпизоотического очага. Он отбирает и направляет патологический материал от больных животных в ветеринарную лабораторию для установления диагноза.

При установлении окончательного диагноза на территории хозяйствующего субъекта и населенного пункта устанавливается карантин.

По условиям карантина запрещается: транспортировка в неблагополучные пункты, так и из них - всех видов животных; заготовка в неблагополучном пункте и вывоз из него ранее заготовленного сырья животного происхождения; перегруппировка животных внутри хозяйствующего субъекта, а также выпас, водопой и содержание больных овец вместе со здоровыми животными всех видов; доступ людей, не связанных с обслуживанием животных неблагополучных групп, в помещения и другие места содержания этих животных; торговля животными и продуктами животноводства, проведение выставок, ярмарок, базаров, а также других мероприятий, связанных со скоплением животных, людей, транспорта на карантинированной территории; вывоз фуража (сено, солома и другие корма), с которыми соприкасались больные оспой овцы или козы (в кошарах, на пастбищах, при уборке). Этот фураж скармливают на месте (в хозяйстве) невосприимчивым к оспе овец животным или больным и переболевшим оспой овцам, и козам; использование овечьего молока и полученных из него продуктов в необеззараженном виде. Молоко, полученное от овец в неблагополучном пункте, подлежит обеззараживанию на месте путем пастеризации при температуре 85°C в течение не менее 30 минут или кипячением в течение 5 минут; проезд автотранспорта через территорию неблагополучного пункта по инфекции;

9) стрижка овец и коз неблагополучных по инфекции до снятия с них карантина.

В неблагополучном пункте проводят ветеринарный осмотр и опись всех овец и объявляют владельцам животных правила их содержания на период карантина.

Животных, больных оспой, изолируют, обеспечивают хорошими кормами (если необходимо-полужидкими); овец содержат в местах, защищенных от дождя и ветра и подвергают лечению. Специфических средств лечения больных оспой овец и коз не разработано, но можно использовать неспецифические методы лечения:

- оспины на коже размягчают нейтральными жирами, мазями или глицерином, а язвенные поверхности обрабатывают йодом, 3-5% хлорамином;

- носовую полость и конъюнктиву промывают теплой водой и орошают 2-3% раствором борной кислоты;

- в зимние месяцы целесообразно превентивно назначать антибиотики, в том числе и современных цефалоспоринового ряда, в общепринятых дозах для предотвращения риска сопутствующих инфекций, в особенности – развития некробактериоза.

Клинически здоровых животных прививают против оспы в соответствии с инструкцией по применению вакцины. В течение 14 дней привитые животные должны находиться под наблюдением ветеринарных специалистов. При выявлении среди привитого поголовья больных овец и коз их переводят в группу больных и подвергают лечению.

Тяжело больных животных убивают. Овец и коз убивают на специально оборудованной площадке с соблюдением ветеринарно-санитарных правил под непосредственным

контролем главного ветврача хозяйства с последующей дезинфекцией всей территории убойной площадки и мест, где находилась подвергнутая убою неблагополучная группа животных.

Санитарную оценку мяса и других продуктов, полученных от убоя больных и подозрительных по заболеванию оспой овец, осуществляют согласно требованиям, предусмотренным действующими «Правилами ветеринарного осмотра убойных животных и ветеринарно-санитарной экспертизы мяса и мясных продуктов».

Трупы овец, павших с клиническими признаками оспы, уничтожают путем сжигания. Снятие шкур и использование шерсти с таких трупов запрещается.

В очаге животноводческие помещения, оборудование, выгульные площадки, загоны и другие места, связанные с нахождением в них больных животных, дезинфицируют через каждые 5 дней в течение всего срока карантина вплоть до проведения заключительной дезинфекции. Навоз обеззараживают биотермическим способом.

Условия выхода из карантина. По истечении 20 дней после полного выздоровления, падежа или убоя последней больной оспой овцы и козы в неблагополучном пункте, главным государственным ветеринарным инспектором соответствующей административно-территориальной единицы подается представление для снятия карантина.

Перед снятием карантина в обязательном порядке проводят механическую очистку и заключительную дезинфекцию всех животноводческих помещений и территории выгульных дворов и загонов, где находились больные оспой овцы, инвентаря и транспорта. Для дезинфекции помещений, загонов и других мест содержания животных, применяют одно из следующих дезинфицирующих средств: горячий 2% раствор едкого натра или калия; горячий 3% раствор сернокарболовой смеси; 20% раствор свежегашеной извести; осветленный раствор хлорной извести или гипохлорита натрия, содержащий не менее 2% активного хлора; 2% раствор формальдегида. Стены, заборы и различные деревянные ограждения следует обеззараживать свежеприготовленным раствором негашеной хлорной извести. Навоз обеззараживают в течение 3 недель биотермическим способом.

В теплое время года овец и других животных, которые находились в очаге оспы, перед снятием карантина подвергают купанию в 1% эмульсии креолина.

Ветеринарные специалисты и другие лица, принимавшие участие в ликвидации оспы овец и коз в неблагополучном пункте, проходят санитарную обработку под горячим душем с обязательной дезинфекцией одежды и обуви.

После снятия карантина вновь вводимых в хозяйство овец и коз в обязательном порядке в период профилактического карантина прививают противооспенной вакциной.

5. Целевые индикаторы эффективности реализации ветеринарных мероприятий по минимизации рисков распространения оспы овец и коз

Целевые индикаторы эффективности реализации ветеринарных мероприятий позволяют установить четкие критерии, поддающиеся количественному определению, благодаря которым можно отследить эффект контрольных мероприятий по недопущению заноса оспы овец и коз на территорию страны, распространения инфекции на неэндемичные территории и искоренению болезни из эндемичных регионов.

Предлагается:

1) Ветеринарным службам продолжать отслеживать факты клинических проявлений, сходных с проявлениями оспы овец и коз, в том числе в регионах, считающихся свободными от этой инфекции;

2) На ежегодной основе проводить анализ риска распространения оспы овец и коз на всей территории страны, основываясь на методиках и подходах по оценке рисков, описанных в настоящем документе;

3) На ежегодной основе проводить мониторинговые исследования (с использованием серологических методов и методов на основе ПЦР) в наиболее рискованных по инфекции регионах (определенных в ходе ежегодно обновленного анализа рисков по инфекции).

Объем выборки и процедуру отбора проб рекомендуется определять, основываясь на методиках и подходах, описанных в настоящем документе;

4) в ходе ежегодно проводимых мониторинговых мероприятий необходимо отслеживать следующие целевые индикаторы:

- процент привитых от SPPV животных среди отобранных для мониторинга особей;
- процент поголовья МРС в регионах, перекрытый планом вакцинации от оспы овец и коз;

- уровень серопревалентности антител к каприпоксвирусам среди привитых животных;

- уровень серопревалентности антител к каприпоксвирусам среди непривитых животных;

- процент стад (ЭЕ), в образцах которых были выявлены ПЦР положительные животные, либо животные с клиническими признаками оспы овец и коз с подтверждением вирус-носительства методом реакции нейтрализации или электронной микроскопии;

- количество новых вспышек оспы овец и коз по областям.

5) Проводить сравнительный анализ данных по целевым индикаторам, отслеживая изменения и тренды в отношении борьбы с оспой овец и коз.

Заключение

На основании проведенного нами исследования, результатов оценки эпизоотологической ситуации и анализа рисков распространения оспы овец и коз на территории Казахстана в 2021-2023 гг. [19] нами были разработаны методики для оценки эпизоотологической ситуации и прогнозирования вспышек, а также рекомендации по проведению ветеринарных мероприятий и контролю оспы овец и коз в Казахстане. Применение описанных в данной статье рекомендаций обеспечит эффективность реализации ветеринарных мероприятий и контрольных мероприятий по недопущению заноса возбудителей оспы овец и коз на территорию страны, распространения инфекций на неэндемичные территории и искоренению болезни из эндемичных регионов.

Работа выполнена в рамках научно-технической программы BR218004/0223 «Совершенствование мер обеспечения биологической безопасности в Казахстане: противодействие опасным и особо опасным инфекциям», финансируемой Министерством науки и высшего образования РК 2023-2025 гг.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Hamdi J., Munyanduki H., Omari Tadlaoui K., El Harrak M., Fassi Fihri O.** Capripoxvirus Infections in Ruminants: A Review // *Microorganisms*. – 2021. – Vol. 9, No.5. – P. 902.
2. Sheep pox and goat pox. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Chapter 3.7.12. 2018. - P. 1513-1524.
3. **Kuhn J. H.** Virus Taxonomy // *Encyclopedia of Virology*. - 2021. – P. 28-37.
4. **Babiuk S., Bowden T.R., Boyle D.B., Wallace D.B., Kitching R.P.** Capripoxviruses: an emerging worldwide threat to sheep, goats and cattle // *Transboundary and emerging diseases*. – 2008. – Vol. 55. – P. 263-272.
5. **Vandenbussche F., Mathijs E., Haegeman A., Al-Majali A., Van Borm S., De Clercq K.** Complete Genome Sequence of Capripoxvirus Strain KSGP 0240 from a Commercial Live Attenuated Vaccine // *Genome announcements*. - 2016. - Vol.4, No.5. e01114-16.
6. **Tuppurainen E., Venter E.H., Shisler J.L., Gari G., Mekonnen G.A., Juleff N., Lyons N.A., De Clercq K., Upton C., Bowden T.R., Babiuk S., Babiuk L.A.** Review: Capri-

poxvirus Diseases: Current status and Opportunities for Control // *Transboundary Emerging Diseases*. – 2017, - Vol. 64, No.3. – P. 729-745.

7. **Haller S.L., Peng C., McFadden G., Rothenburg S.** Poxviruses and the evolution of host range and virulence // *Infection, Genetics and Evolution*. – 2014. – Vol. 21. – P. 15–40.

8. **Kitching R.P., Taylor W.P.** Transmission of capripoxvirus // *Research in Veterinary Science*. – 1985. – Vol. 39. – P. 196-199.

9. **Zewdie G., Derese G., Getachew B., Belay H., Akalu M.** Review of sheep and goat pox disease: Current updates on epidemiology, diagnosis, prevention and control measures in Ethiopia // *Animal diseases*. – 2021. –Vol. 1, No.1. – P. 28.

10. **Garner M.G., Sawarkar S.D., Brett E.K., Edwards J.R., Kulkarni V.B., Boyle D.B., Singh S.N.** The Extent and Impact of Sheep Pox and Goat Pox in the State of Maharashtra, India // *Tropical Animal Health and Production*. – 2000. – Vol. 32. – P. 205-223.

11. **Мамбеталиев М., Джумаев Ш., Амирбеков М., Кошметов Ж.К., Нурабаев С.Ш., Ершебулов З.Д., Корягина М.И., Булатов Е.А., Хайруллин Б.М., Аноятбеков М., Бобоев Г., Абсатова Ж.С., Мамадалиев С.М., Матвеева В.М., Абдураимов Е.О.** Штамм “Ж/Яван-07” вируса оспы коз, используемый для контроля иммуногенности профилактических средств и приготовления диагностических препаратов. Патент РК №22155. 16.07.2012.

12. **Charan J, Kantharia ND.** How to calculate sample size in animal studies? *J Pharmacol Pharmacother*. 2013;4(4):303-306.

13. Статистика сельского, лесного, охотничьего и рыбного хозяйства: Основные показатели развития животноводства в Республике Казахстан (январь 2024 г.). Официальный сайт: <https://stat.gov.kz/ru/industries/business-statistics/stat-forrest-village-hunt-fish>. (Дата обращения: 07.07.2024).

14. Сайт Всемирной организации здоровья животных (МЭБ). <https://www.oie.int/fileadmin/Home>.

15. **Chibssa T.R., Grabherr R., Loitsch A., Settypalli T., Tuppurainen E., Nwankpa N., Tounkara K., Madani H., Omani A., Diop M., Cattoli G., Diallo A., Lamien C. E.** A gel-based PCR method to differentiate sheeppox virus field isolates from vaccine strains // *Virology journal*. – 2018;15(1):59.

16. **Ireland D.C., Binepal Y.S.** Improved detection of capripoxvirus in biopsy samples by PCR // *J. Virol. Methods*. – 1998;74:1–7.

17. **Lamien Ch.E., Goff Ch.L., Silber R., Wallace D.B., Gulyaz V., Tuppurainen E., Madani H., Caufour P., Adami T., Harrak M.E., Luckins A.G., Albina E., Diallo A.** Use of the Capripoxvirus homologue of Vaccinia virus 30 kDa RNA polymerase subunit (RPO30) gene as a novel diagnostic and genotyping target: Development of a classical PCR method to differentiate Goat poxvirus from Sheep poxvirus // *Vet. Microbiol*. – 2011;149:30-39.

18. **Beard P.M., Sugar S., Bazarragchaa E., Gerelmaa U., Tserendorj S. h., Tuppurainen E., Sodnomdarjaa R.** A description of two outbreaks of capripoxvirus disease in Mongolia // *Vet. Microbiol*. – 2010;142(3-4):427-431.

19. **Abdolla N., Mashzhan A.S., Kuatbekova S., Kan S.A., Lushova A.V., Mamadaliyev S.M.** Risk assessment of sheep and goat pox spread in Kazakhstan // *KazNU Bulletin. Biology series*. – 2023. – №3(96). – P.92-103. <https://doi.org/10.26577/eb.2023.v96.i3.07>.

ҚАЗАҚСТАНДА ҚОЙ МЕН ЕШКІ ШЕШЕГІНІҢ ТАРАЛУЫН БАҚЫЛАУ ЖӨНІНДЕГІ ІС-ШАРАЛАР МЕН БОЛЖАУ ӘДІСТЕРІ

Остапчук Е.О., Жигайлов А.В., Перфильева Ю.В., Бисенбай А.О., Мамадалиев С.М., Скиба Ю.А.

Қой шешегі мен ешкі шешегі – бұл безгекпен, тері және шырышты қабаттардың эпителийінде папулезді-пустулярлы зақымданулардың пайда болуымен, сонымен қатар өкпенің зақымдануымен сипатталатын

аса жұқпалы және қауіпті ҰММ ауруы. Бұл ауру қой шаруашылығына өлім-жітімнен, малды шарасыздықтан союдан, өнімділіктің төмендеуінен, ветеринариялық-санитарлық пен қауіпсіздік-карантиндік шараларға кеткен шығындарға байланысты орасан зор залал келтіреді. Қой мен ешкі шешегі экватордың солтүстігінде Африкада, Орта Шығыста және Азияда, соның ішінде Қазақстанда да жергілікті таралған. Жақында кейбір елдерде, соның ішінде Болгария, Қытай Тайбэйі, Израиль, Қазақстан, Қырғызстан, Моңғолия, Марокко, Греция және Ресейде осы аурудың өршуі тіркелді. Қазақстан Республикасы да кіретін дүние жүзінің көптеген елдеріндегі экономикалық қатынастардың жаһандануына байланысты эпизоотиялық жағдай қауіпті және аса қауіпті жұқпалы аурулардың, оның ішінде қой мен ешкі шешектерінің енуі мен таралуына осал болып келеді. Бұл мақалада Қазақстандағы 2021-2023 жылдардағы қой мен ешкі шешегі эпизоотологиялық жағдайын мониторингтік зерттеудің яғни таралу қаупін талдау нәтижелері бойынша ҰММ шешек ауру эпизоотологиялық жағдайды бағалау және эпидемияларды болжау әдістері, сондай-ақ ветеринариялық іс-шараларды жүргізу бойынша ұсыныстар берілген.

OUTBREAK PREDICTION METHODS AND MEASURES TO CONTROL THE SPREAD OF SHEEP AND GOAT POX IN KAZAKHSTAN

Ostapchuk Y.O., Zhigailov A.V., Perfilyeva Y.V., Bissenbay A.O., Mamadaliyev S.M., Скиба Ю.А.

Sheep and goat pox is a highly contagious, especially dangerous disease of sheep and goats, characterized by fever, the formation of papular-pustular lesions in the epithelium of the skin and mucous membranes, as well as lung damage. The disease causes enormous damage to sheep farming due to losses from mortality, forced slaughter of animals, decreased productivity, and costs for veterinary, sanitary and security and quarantine measures. Sheep and goat pox are endemic in Africa north of the equator, the Middle East and Asia, including Kazakhstan. Several countries have recently reported outbreaks of these diseases, including Bulgaria, Chinese Taipei, Israel, Kazakhstan, Kyrgyzstan, Mongolia, Morocco, Greece and Russia. Due to the globalization of economic relations in many countries of the world, including Kazakhstan, the epizootic situation is becoming increasingly vulnerable to the penetration and spread of dangerous and especially dangerous infectious diseases, including sheep and goat pox. This article provides methods for assessing the epizootological situation and forecasting outbreaks, as well as recommendations for conducting veterinary measures and controlling sheep and goat pox in Kazakhstan, based on the results of a monitoring study of the epizootological situation and analysis of the risks of the spread of sheep and goat pox in Kazakhstan in 2021 -2023.

УДК 619:616.981.455

ЭПИЗОТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО СИБИРСКОЙ ЯЗВЕ В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН В ПЕРИОД С 2021 ПО 2023 ГОДЫ

Суцких В.Ю., Айтжанов Б.Д., Канатов Б., Каримов А.А., Юсупов М.Р.

*ТОО «Казахский научно-исследовательский ветеринарный институт», Алматы,
e-mail: vladasali@mail.ru*

В статье представлены результаты анализа эпизоотической ситуации по сибирской язве в Республике Казахстан с 2021 по 2023 годы. Анализ данных показал, что в указанный период сибиреязвенная инфекция на территории Казахстана регистрировалась ежегодно. Распределение случаев регистрации данной инфекции в различных регионах республики существенно различалось. В ряде областей сибиреязвенная инфекция была установлена однократно, а в некоторых регионах инфекцию диагностировали три и более раз.

Ключевые слова: сибирская язва, эпизоотическая ситуация, сельскохозяйственные животные

Введение. Почти ежегодно на территории Казахстана регистрируют спорадические случаи заболевания животных и людей. Сибирской язвой.

Природно-климатические, экологические и социально-экономические условия определяют укоренение в Казахстане возбудителя сибирской язвы. На территории Республики Казахстан имеются почвенные очаги сибирской язвы. Там, где эпизоотологические факторы способствуют распространению этого заболевания среди животных, регистрируются случаи сибирской язвы среди людей [1].

Результаты и обсуждение

В период с 2021 по 2023 годы сибиреязвенная инфекция на территории Казахстана у людей и животных регистрировалась ежегодно. Так, в 2021 году было зарегистрировано 6 случаев заболевания сельскохозяйственных животных, в 2022 г. - 4 случая, в 2023 году - 8 случаев болезни.

Всего за указанный период на территории Республики Казахстан сибирской язвой заболело 78 животных. При этом, эпизоотический анализ заболеваемости различных видов животных, показал, что в структуре наибольшее количество инфекции было диагностировано у крупного рогатого скота 70,5% (55 голов), 24,3% составляли лошади (19 особи) и 5,1% (4 головы) мелкий рогатый скот, рисунок 1.

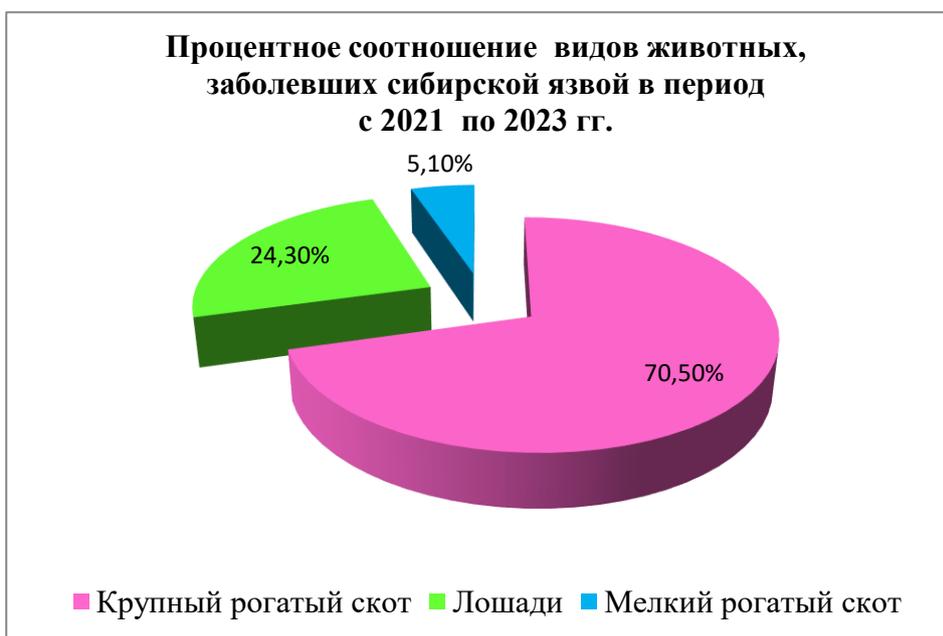


Рисунок 1. Процентное соотношение различных видов животных, заболевших сибирской язвой в период с 2021 по 2023 годы

На рисунке 1 показано процентное соотношение различных видов животных, заболевших сибирской язвой в период с 2021 по 2023 годы.

В период с 2021 по 2023 годы вспышки сибирской язвы были зарегистрированы в 8 областях республики из 17, что составляет 47,1%.

В историческом аспекте, помимо указанных видов сельскохозяйственных животных, в Казахстане зарегистрированы случаи заболевания сибирской язвой 9 верблюдов в ВКО, ЗКО, Туркестанской и Мангистауской областях; 4 собак - в ВКО и Туркестанской областях, 7 песцов и 95 норок на звероводческих фермах в ВКО и Павлодарской областях, а также лисиц в Алматинской области. В Кызылординской области зарегистрирован падеж от сибирской язвы двух косуль [2].

Установлено, что, как правило, основной путь заражения животных – алиментарный, т.е. входными воротами служат слизистые оболочки полости пищеварительного тракта, при пастбище на пастбищах. Случаи заболевания сибирской язвой среди сельскохозяйственных животных в республике регистрируют в течение всего года, но в апреле-мае их число увеличивается; в июне число вспышек превышает средние значения и достигает

максимума в июле - августе, т.е. подъем заболеваемости животных совпадает с пастбищным периодом.

Анализ эпизоотической ситуации с 2021 по 2023 годы показывает, что в 8 областях республики зарегистрировано 18 вспышек сибирской язвы у животных. На основании полученных данных, проведено зонирование территории республики по напряженности эпизоотической ситуации по данной инфекции за указанный период. Так, Жамбылская, Костанайская и Туркестанская области являются регионами с высокой степенью напряженности эпизоотической ситуации по сибирской язве. К регионам с умеренной степенью напряженности относятся - Акмолинская, СКО, Актюбинская, Абайская, Карагандинская области. Остальные области - Павлодарская, Улытауская, Жетысуская, Атырауская, Магистауская, Кызылординская, ВКО и Алматинская были в этот период свободными от сибирской язвы.

Следует отметить, что за анализируемый период, отмечали ежегодное заболевание людей и при этом количество заболевших, каждый год было достаточно высоким. Проведенный анализ, полученных данных показал, что в абсолютных показателях количество заболевших людей с 2021 по 2023 годы напрямую коррелирует с количеством заболевших животных. Так, в 2021 году было зарегистрировано заболевание сибирской язвой 27 человек и 65 животных, в 2022 году 20 человек и 4 особи, а в 2023 году 37 человек и 9 голов животных, рисунок 2.

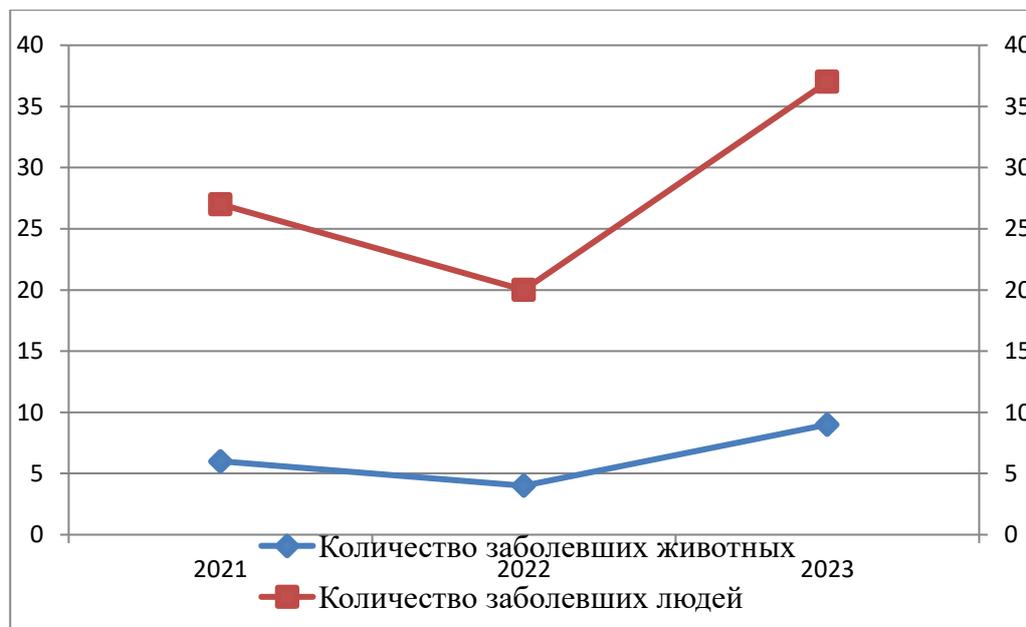


Рисунок 2. Количество заболевших людей и животных в период с 2021 по 2023 гг. в абсолютных показателях

На рисунке 2 видно, что количество заболевших людей и животных в абсолютных показателях имеет прямую корреляцию.

В 2021 году отмечено самое высокое количество заболевших животных – 65 голов. При этом, особое внимание заслуживают две вспышки в Костанайской области. Первый случай был отмечен в июле месяце в ТОО «Алтай» в селе «Приречное» Свердловского сельского округа Денисовского района, где заболело и пало 49 животных, в том числе 32 головы крупного рогатого скота и 17 лошадей. При эпизоотическом обследовании было установлено, что все заболевшие животные паслись на прилегающей к населенному пунк-

ту территории на удалении 2,0-2,5 км. Со слов пастуха и местного ветеринарного специалиста, гибель животных наступала внезапно и без видимых клинических признаков. После выгона на пастбища через 2-3 часа были обнаружены трупы павших животных в различных местах, причем общая площадь территории, где погибли животные, имела значительные размеры от 2,5 до 3,0 км. У троих работников данного животноводческого комплекса, имевших непосредственный контакт с павшими животными, был установлен диагноз – сибирская язва. Вторая вспышка инфекции установлена также в Денисовском районе в Архангельском сельском округе в ноябре месяце того же года. Согласно информации, в ТОО «Баталинское» в отд. № 1 поселка Жалтырколь 26.10.2021 г. был произведен убой больной коровы № KZC 158521456. Со слов ветеринарного врача у животного отмечали потливость с левой стороны, при вскрытии изменений внутренних органов не отмечено. Мясо в количестве 125 кг было доставлено на убойный пункт ИП «Алиев» г. Житикара, расположенного в 135 км от места убоя, для дальнейшей реализации. Через семь дней двум скотникам, участвовавшим в забое данной коровы, в районной больнице был поставлен диагноз сибирская язва. Специалистами Житыгалинской ветинспекции были отобраны образцы биоматериала от данной туши и доставлены в областную ветеринарную лабораторию Костанайской области, а также в Национальный референтный центр по ветеринарии в г. Нур-Султан. В обеих лабораториях было проведено молекулярно-генетическое исследование доставленных образцов биоматериала и получен положительный результат на наличие возбудителя сибирской язвы.

В 2023 году в республике официально подтверждено 37 случаев заболевания людей сибирской язвой, против 20 случаев в 2022 году, т.е. отмечен рост заболеваемости на 45,9% или на 17 случаев.

Согласно официальным данным МСХ РК, заболевание 5 животных в Жамбылской области установлено в Таласском, Жаулинском районах и в г. Тараз. Так, в а. Тамды и в г. Карату Таласского района, и в а. Карикорган диагноз на сибирскую язву установили у крупного рогатого скота, а в г. Тараз - у мелкого рогатого скота. В Байзакском (а. Кызыл Жулдыз), в Сарыуском (а. Жанарык) районах у людей был подтвержден диагноз – сибирская язва, но заболевания животных не зарегистрировано. Также как и в некоторых населенных пунктах Жуалинского района - а. Амансай, а. Дихан, а. Колтоган и а. Тасба-стау, где заболели люди, не принимавшие участие в забое или разделке животных.

В августе месяце текущего года в селе Ушкарасу Жаркаинского района Акмолинской области зарегистрирована сибирская язва, с инфицированием сотрудников ТОО «Ушкарасу», где заболевание подтвердилось у двух из четырех забитых коров. Из 15 заболевших человек с подтвержденным диагнозом сибирской язвы у 5 человек наблюдали характерную клиническую картину, еще у 10 сотрудников диагноз подтвержден лабораторно. Выявлено 35 контактных лиц, за которыми вели медицинское наблюдение. По результатам санитарно-эпидемиологической экспертизы в 16 из 21 пробы мяса обнаружена ДНК сибирской язвы. Согласно официальным данным Минздрава РК люди заболели при разделке туши, при приготовлении фарша и при употреблении мяса. Следует отметить, что заболевание и падеж крупного рогатого скота в данном хозяйстве регистрировали с середины августа месяца, всего пало 32 головы. Ветеринарными специалистами был поставлен диагноз отравление, биоматериал в лабораторию от больных животных не направлялся, т.к. со слов ветврача у коров отсутствовали характерные клинические признаки, позволяющие предположить сибирскую язву.

В Карагандинской области в Абайском районе с. Топар в октябре месяце 2023 года при убое восьмимесячного больного бычка заразились три человека, один из которых с летальным исходом.

Учитывая, что зоогенная заболеваемость людей служит своеобразным индикатором территориальной превалентности сибирской язвы жвачных (за каждой инфекцией среди людей предполагается вспышка заболевания животных) с соответствующей статистической вероятностью (как отмечено выше, условное соотношение заболеваемости “живот-

ные - человек» составляет около 10 [3]. В Казахстане в 2023 году соотношение заболеваемости «животные – человек» составило 9 к 37 или 1 к 4,1.

Многие авторы едины во мнении, что полная ликвидация инфекции не представляется возможной в связи с существованием естественных резервуаров сибиреязвенного микроба – почвенных очагов сибирской язвы, скотопроегонных трасс и высокой выживаемостью возбудителя *Bacillus anthracis* в почве. Риск заражения сельскохозяйственных животных, людей спорами *B.anthraxis*, находящимися в почве, сохраняется за счет хозяйственной и профессиональной деятельности на этих территориях [1, 2, 3, 6, 7].

На территории республики во всех регионах отмечено наличие сибиреязвенных захоронений, являющихся потенциальными источниками возбудителя болезни.

При этом, следует отметить, что прямой зависимости между регистрациями сибиреязвенной инфекции и количеством почвенных сибиреязвенных очагов также не установлено. Так, заболевание регистрировали в районах, где количество сибиреязвенных захоронений достаточно высокое, например, в Жуалинском районе Жамбылской области - 11, в Аягоском районе Восточно-Казахстанской области - 15, но и в районах, где почвенные очаги единичны, например Жаркаинском районе Акмолинской области - 5, в Тюлькубасском районе Туркестанской области - 2, в Актогайском районе Карагандинской области - 1 [2, 8].

При этом следует отметить, что географическое расположение мест вспышек инфекции показывает антропоургический характер сибиреязвенной инфекции. Очаги инфекции преимущественно локализовались в густонаселенных территориях страны.

Также изменение природно-климатических и почвенных условий, способствуют сохранению активности почвенных очагов (высокий уровень осадков, засушливое лето и др.) и является одним из рисков возникновения инфекции.

В 2023 году по всей территории Казахстана с апреля в течение 4 месяцев отмечали высокую температуру без осадков, в августе месяце климатическая ситуация резко изменилась и количество выпавших осадков на территории всей страны и составило больше нормы в 1,5 - 3,0 раза. Такие климатические условия способствуют как выносу споровых форм из глубоких слоев почвы из неустановленных скотомогильников, так и являются благоприятным для прорастания вегетативных форм возбудителя, с высокими вирулентными свойствами. Такие погодные условия или погодный паттерн «влагообильная весна → засушливое лето» (чередование наводнений и засухи), получили название «сибиреязвенной погоды», при котором усиливается вымывание из почвы, высушивание и рассеивание спор [9].

Известно, что источником возбудителя сибиреязвенной инфекции может являться контаминированная почва, считаем, что во всех районах и областях республики остаются не установленными достаточно большое количество сибиреязвенных захоронений, также являющихся способствующим фактором приуроченности к ареалу распространения инфекции и причиной систематических вспышек болезни. Например, в Акмолинской области не установленными остаются 185 сибиреязвенных захоронений, в Карагандинской 85, в Туркестанской 68, в Жамбылской 3. И это только ранее известные почвенные очаги, которые не были найдены до настоящего времени, вероятнее всего на территории каждой области отмечается большое количество очагов ранее не зарегистрированных. В Казахстане сибирская язва контролируется и профилируется систематической профилактической вакцинацией восприимчивых животных, что обеспечивает продолжительную стабильность ситуации в республике. При недостаточно эффективных противоэпидемических мероприятиях (вакцинация, дезобработка мест падежа скота и т.д.) создаются идеальные условия для последующих вспышек сибирской язвы.

Анализируя сложившуюся эпизоотологическую ситуацию в республике по сибирской язве можно предположить, что в текущем году и в последующие годы будет сохраняться вероятность возникновения новых вспышек данной инфекции.

Расчеты уровня превалентности при сибирской язве для населения, в областях, где в 2023 году были зарегистрированы случаи болезни, показали, что наиболее высокий показатель – 1,9 отмечен в Акмолинской области, в Жамбылской области он составил 1,55, а в Карагандинской области – 0,26, на 100 000 населения, (табл.1).

Таблица 1

Превалентность сибирской язвы для людей в 2023 году

Наименование области	Общее количество населения области, чел.	Кол-во заболевших чел. в 2023 г.	Превалентность (на 100 000 населения)
Акмолинская область	788 334	15	1,9
Карагандинская область	1 135 601	3	0,26
Жамбылская область	1 221 976	19	1,55

В таблице 1 представлены данные по расчету уровня превалентности сибирской язвы для людей в 2023 году в трех областях республики, где были зарегистрированы случаи заболевания людей.

Расчет уровня превалентности при сибирской язве для восприимчивых животных провели применительно для тех населенных пунктов, где было отмечено заболевание и гибель животных. Результаты проведенных расчетов представлены в таблице 2.

Таблица 2

Превалентность сибирской язвы для животных в 2023 году

Наименование области	Общее количество восприимчивых животных, гол. (ноябрь 2023 г)	Кол-во заболевших гол. в 2023 г.	Превалентность абсолютное значение/ на 100 000 голов
Акмолинская область Жаркаинский район п. Ушкарасу	2452	2	0,0008157/81,57
Карагандинская область Абайский район, с. Топар	2300	1	0,000435/43,48
Жамбылская область Жуалинский район Жетытобинский с/о с. Каракорган	2331	1	0,000429/42,9

Из данных таблицы 2 видно, что в с. Топар Карагандинской области и с. Каракорган Жамбылской области, уровни превалентности при сибирской язве животных почти аналогичны и составляют 0,000435 и 0,000429, соответственно в (абсолютный показатель). Более высокий показатель превалентности - 0,0008157 отмечен в п. Ушкарасу Акмолинской области, что объясняется количеством заболевших животных.

По состоянию на 2023 год за давностью лет утерянными и не установленными остается значительное количество сибиреязвенных захоронений, которые создают постоянную угрозу распространения сибирской язвы среди животных и людей при проведении агро-мелиоративных, строительных и других работ, связанных с перемещением грунта,

Выводы. Определена эпизоотологическая характеристика территории страны по сибирской язве с 2021 по 2023 годы, при этом, данная инфекция диагностировалась у людей и сельскохозяйственных животных ежегодно. Установлено, что высокий риск заражения возбудителем сибирской язвы восприимчивых животных и людей отмечается в зоне высотной поясности гор, в южных и восточных областях, т.е. Туркестанской, Жамбылской областях, а также в степной зоне, где расположена Костанайская область.

Учитывая природно-климатические особенности, способствующие периодической повторяемости, можно прогнозировать вероятность усиления риска сибиреязвенной инфекции и в последующие годы.

Работа выполнена в рамках НТП ИРН BR218004/0223 «Совершенствование мер обеспечения биологической безопасности в Казахстане: противодействие опасным и особо опасным инфекциям» на 2023-2025 гг.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Лухнова Л. Ю., Избанова У. А., Мека-Меченко Т.В.** Сибирская язва на территории Республики Казахстан в 1999-2020 годах. Эпидемиологическая ситуация // Национальные приоритеты России. – 2021. – № 3(42). – С. 92-96.
2. Кадастр стационарно неблагополучных пунктов в Республике Казахстан (1935-2018 годы) / под ред. Л.Ю. Лухновой. – Алматы, 2019. – 462.
3. **Макаров В.В., Сухарев О.И.** Мировой нозоареал сибирской язвы // Вестник Российской Академии сельскохозяйственных наук. – 2012. – №1. – С. 28-30.
4. **Кондакова О.А., Никитина Н.А., Евтушенко Е.А.** Сибирская язва: жизненный цикл, механизм патогенеза и новые концепции в развитии ветеринарных вакцин // Сельскохозяйственная биология. – 2021. – Т. 56, №3. – С. 415-433. doi: 10.15389/agrobiology.2021.3.415rus
5. **Шишкова Н.А., Тюрин Е.А., Маринин Л.И., Дятлов И.А., Мокриевич А.Н.** Современное состояние проблемы сибирской язвы // Бактериология. – 2017. – № 2(23). – С. 33–40. doi:10.20953/2500-1027-2017-3-33-40.
6. **Родионов А.П., Артемьева Е.А., Мельникова Л.А., Косарев М.А., Иванова С.В.** Особенности природной очаговости сибирской язвы и экологии *Bacillus anthracis* // Ветеринария сегодня. – 2021. – №2(37). – С. 151-158.
7. **Горячева Н.Г., Авитисов П.В., Семиног В.В.** Развитие мониторинга биологических угроз почвенных очагов сибирской язвы // Научные и образовательные проблемы гражданской защиты. – 2016. – №1(28). – С. 41-46.
8. Кадастр почвенных очагов сибирской язвы на территории Республики Казахстан. – Алматы, 2017. – 263 с.
9. **Макаров В.В., Брико Н.И.** Мировой нозоареал сибирской язвы // Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. – 2011. – № 2. – С.13-17.

LITERATURA

1. **Lukhnova L. YU., Izbanova U. A., Meka-Mechenko T.V.** Sibirskaya yazva na territorii Respubliki Kazahstan v 1999-2020 godah. Epidemiologicheskaya situaciya // Nacional'nye prioritety Rossii. – 2021. – № 3(42). – S. 92-96.
2. Kadastr stacionarno neblagopoluchnyh punktov v Respublike Kazahstan (1935-2018 gody)/ pod red. L.YU. Luhnvoj. – Almaty, 2019. – 462.
3. **Makarov V.V., Suharev O.I.** Mirovoj nozoareal sibirskoj yazvy // Vestnik Rossijskoj Akademii sel'skohozyajstvennyh nauk. – 2012. – №1. – S. 28-30.

4. **Kondakova O.A., Nikitina N.A., Evtushenko E.A.** Sibirskaya yazva: zhiznennyj cikl, mekhanizm patogenez a i novye koncepcii v razvitii veterinarnykh vakcin // Sel'skohozyajstvennaya biologiya. – 2021.- Т. 56. – №3. – С. 415-433. doi: 10.15389/ agrobilogy.2021.3.415rus
5. **Shishkova N.A., Tyurin E.A., Marinin L.I., Dyatlov I.A., Mokrievich A.N.** Sovremennoe sostoyanie problemy sibirskoj yazvy // Bakteriologiya. – 2017. – № 2 (23). – С. 33–40. doi: 10.20953/2500-1027-2017-3-33-40.
6. **Rodionov A.P., Artem'eva E.A., Mel'nikova L.A., Kosarev M.A., Ivanova S.V.** Osobenosti prirodnoj ochagovosti sibirskoj yazvy i ekologii Vacillus anthracis // Veterinariya segodnya. – 2021. – №2(37). – С. 151-158.
7. **Goryacheva N.G., Avitsov P.V., Seminog V.V.** Razvitie monitoringa biologicheskikh ugroz pochvennykh ochagov sibirskoj yazvy // Nauchnye i obrazovatel'nye problemy grazhdanskoj zashchity. – 2016. – №1(28). – С. 41-46.
8. Kadastro pochvennykh ochagov sibirskoj yazvy na territorii Respubliki Kazahstan. – Almaty, 2017. – 263 s.
9. **Makarov V.V., Briko N.I.** Mirovoj nozoareal sibirskoj yazvy // Epidemiologiya i infekcionnye bolezni. Aktual'nye voprosy. – 2011. – № 2. – С.13-17.

THE EPIZOOTIC SITUATION OF ANTHRAX IN THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN IN THE PERIOD FROM 2021 TO 2023

Suchshikh V.Y., Aitzhanov B.D., Kanatov B., Karimov A.A., Yusupov M.R.

The article presents the results of the analysis of the epizootic situation of anthrax in the Republic of Kazakhstan from 2021 to 2023. The analysis of the data showed that during the specified period, anthrax infection in Kazakhstan was registered annually. The distribution of cases of registration of this infection in different regions of the republic differed significantly. In a number of regions, anthrax infection was detected once, and in some regions the infection was diagnosed three or more times.

2021 ЖЫЛДАН 2023 ЖЫЛҒА ДЕЙІНГІ КЕЗЕҢДЕ ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНДА СІБІР ЖАРАСЫ БОЙЫНША ЭПИЗООТИЯЛЫҚ ЖАҒДАЙ

Суцхих В.Ю., Айтжанов Б.Д., Канатов Б., Каримов А.А., Юсупов М.Р.

Мақалада 2021 жылдан 2023 жылға дейінгі Қазақстан Республикасындағы сібір жарасы бойынша эпизоотиялық жағдайды талдау нәтижелері келтірілген. Деректерді талдау көрсеткендей, аталған кезеңде Қазақстан аумағында сібір жарасы инфекциясы жыл сайын тіркеліп отырды. Бұл инфекцияны тіркеу жағдайларының республикадағы әртүрлі аймақтарда таралуы айтарлықтай өзгерді. Бірқатар аймақтарда сібір жарасы инфекциясы бір рет анықталды, ал кейбір аймақтарда инфекцияға үш немесе одан да көп рет диагноз қойылды.

УДК 579.61

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПОТЕНЦИАТОРА
АНТИБИОТИКОВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ,
ВЫЗВАННОЙ *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*, КАК ОСНОВНОГО ПАТОГЕНА
ПРИ ОСЛОЖНЕННОЙ КОВИДНОЙ ПНЕВМОНИИ**

**Ибрагимова Н.А., Искакбаева Ж.А., Жумабаева С.М., Красноштанов А.В.,
Гапурхаева Т.Э.**

(АО «Научный центр противоинфекционных препаратов»
nailya.73@mail.ru)

В данной работе приведены результаты исследования эффекта КС (ПА) при лечении бактериальной пневмонии, вызванной *Streptococcus pneumoniae*. Проведено хроническое аэрозольное заражение β -гемолитической культурой *Streptococcus pneumoniae* мышей в течение 8 недель. Все выжившие животные на 43 сутки были разделены на экспериментальные группы для изучения терапевтической эффективности КС (ПА): 1 – положительный контроль; 2 – 80 мг/кг Амх; 3 – 50 мг/кг ПА; 4 – 50 мг/кг ПА и 80 мг/кг Амх. В результате исследования было выявлено что разрабатываемые лекарственные средства КС (ПА) и комбинированный препарат «КС (ПА) и Амх» могут успешно применяться у пациентов с хроническими бактериальными заболеваниями, воспалительными процессами, в том числе отягощенными бактериальной контаминацией.

Ключевые слова: потенциатор антибиотиков, *Streptococcus pneumoniae*,) – Координационное соединение (КС /ПА потенциатор антибиотиков), Амх – амоксициллин

Введение

Изменения иммунитета человека, обусловленные сопутствующими заболеваниями, и старением, предрасполагают к развитию заболеваемости и смертности в остром периоде, ускоряют течение имеющихся хронических заболеваний.

Снижение иммунитета человека за счет различных заболеваний, в том числе вызванные инфекциями и старением, приводит к росту заболеваемости и смертности в остром периоде, и увеличивает тяжесть имеющихся хронических заболеваний.

Большинство микроорганизмов, вызывающих пневмонию и пиелонефрит, относятся к комменсальным организмам, которые выступают как истинные патогены в легких и почках только при определенных условиях, зависящих от иммунного статуса хозяина, который варьируется от состояния иммуносупрессии до состояния чрезмерного иммунитета.

Проблема хронического слабовыраженного воспаления, особенно остро обозначилась в период пандемии COVID-19. Хроническое воспаление является основной причиной патологического повреждения тканей и объединяющей характеристикой многих хронических заболеваний человека, включая опухолевые, аутоиммунные заболевания. К настоящему времени патогенетические механизмы полностью не изучены. В отличие от острого воспаления, хроническое воспаление не сопровождается повышением температуры, покраснением, отёком и болью, напротив, оно сопровождается стойкими нарушениями гомеостаза, в том числе хроническими или неразрешенными инфекциями. Так, основным последствием прогрессирования хронического слабовыраженного воспаления являются вторичные бактериальные инфекции и наиболее часто выделяемыми бактериями у пациентов являются: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae*, *Klebsiella pneumoniae* и представители рода *Proteus*, *Enterobacter* и *Citrobacter spp.* [1]. Установлено, что у каждого седьмого пациента с COVID-19 была обнаружена вторичная бактериальная инфекция. При этом, 50 % летальных исходов во время эпидемии SARS-CoV-2 вызваны вторичными бактериальными инфекциями, в большинстве случаев в лёгких [2]. Наличие «метавоспаления» при присоединении инфекционного агента нарушает способность организма правильно инициировать механизмы, направленные на уничтожение микроорганизма. Поэтому можно утверждать, что единственным способом является модулирование иммунной системы по предотвращению прогрессирования инфекции, которая может развиваться вплоть до септического шока. Аналогичная патогенетическая ситуация отмечается и при вирусных заболеваниях.

Основная задача доклинических исследований – доказательство безопасности для человека и других живых организмов. Доклинические исследования новых биологически активных веществ и лекарственных средств состоят из нескольких этапов. Определение

потенциальной токсичности, в частности острой и хронической токсичности, является одним из этапов доклинического исследования нового биологически активного вещества [3].

Проблема современной фармакологии для обоснования наиболее эффективного режима дозирования и применения лекарственного препарата – это связь терапевтического эффекта и концентрации препарат в крови. Для количественного описания связи «эффект – концентрация» используют различные функциональные зависимости (линейную, логарифмическую, гиперболическую и др.), при этом применяют данные о концентрации лекарственных средств в плазме (сыворотке) крови, различных тканях. Чаще всего эмпирически подбирают ту функциональную зависимость и ту «биофазу», которые обеспечивают наилучшую корреляцию «эффект – концентрация» [4]. В частности, такая связь между концентрациями лекарств и выраженностью фармакодинамического эффекта довольно точно установлена для многих препаратов (антиаритмические средства, сердечные гликозиды, психотропные средства и др.), что лежит в основе фармакокинетического контроля при фармакотерапии различных заболеваний.

Труднее установить количественную зависимость между концентрациями лекарств в крови/тканях и выраженностью терапевтического эффекта в антимикробной химиотерапии, так как последняя, в отличие от фармакологии, рассматривает взаимодействие не двухкомпонентной (лекарство – организм), а трехкомпонентной системы: лекарство – микроорганизм – организм (макроорганизм). Степень воздействия антибактериального средства на микроорганизм количественно описывается величиной МПК (минимальная подавляющая концентрация) и МБК (минимальная бактерицидная концентрация), которые зависят от вида микроорганизма (т.е. природной резистентности). Кроме того, значения МПК и МБК определяются на основании данных, полученных *in vitro*, в то время как инфекционный процесс протекает в организме, и многие другие факторы (локализация инфекции, рН в месте инфекции, величина микробной нагрузки, состояние защитных сил макроорганизма) также могут оказывать влияние на величину фармакодинамического эффекта.

Материалы и методы

В исследованиях использовались белые лабораторные мыши обоего пола в количестве 440 голов и белые лабораторные крысы обоего пола в количестве 220 особи. Местом проведения исследований являлись комнаты для содержания лабораторных животных АО «Научный центр противоинфекционных препаратов». Все эксперименты *in vivo* проводились после одобрения комиссией по биоэтике Научного центра. Все животные содержались в клетках с подстилочным материалом для лабораторных животных Renofix МК 2000. Подстилка менялась два раза в неделю. Условия содержания животных соответствовали общепринятым нормам: температура окружающей среды составляла (21 ± 2 °С), влажность (50 ± 10 %), искусственный световой режим (12:12).

Для животных была подобрана диета, включающая полнорационный корм для лабораторных грызунов, гранулированный автоклавируемый SSNIF (Германия). Кормление животных проводилось два раза в день, в одно и то же время суток. Вода была в распоряжении животных *ad libitum*. Распределение по группам проводилось после маркировки и простой рандомизации животных. Маркировка проводилась отметкой маркером участка шерсти на конечностях, спине и голове. Животных выводили из эксперимента с соблюдением правил гуманного обращения с лабораторными животными путем декапитации после ингаляции воздухом, содержащим 70% CO₂ при скорости потока 30 л/мин в камере, либо с помощью изофлуранового наркоза и собирали биоматериал.

Лабораторные животные, использованные в постановке модельных экспериментов по колонизации легочной ткани и мочевыводящих путей, получали премедикацию Ксиланит 50 из расчета 5 мг/кг для мышей и крыс; анестезию Золетил 100 в дозах 40 мг/кг и 20 мг/кг для мышей и крыс, соответственно. Субстанция КС-206 вводилась перорально, т.к.

это предполагаемый способ использования в клинике. Пероральное введение исследуемого вещества проводилось с помощью внутрижелудочного зонда.

*Моделирование рефрактерной колонизации легочной ткани мышей *S. pneumoniae*.* В эксперименте было использовано 70 мышей с массой тела $22,0 \text{ г} \pm 10\%$. Заражение животных проводили аэрозольной оксигенацией (U 22, Omron) в течение 20 минут 2 раза в неделю в течение 8 недель. Для подтверждения хронического инфекционного процесса на 8; 15; 22; 29; 35; 42 сутки после заражения проводили бактериологический анализ крови и легких путем вывода из эксперимента 2-х или 3-х животных в данные сроки. На 43 сутки зараженных животных: 48 голов (24 самки и 24 самца) разделили на четыре группы: 1 группа – положительный контроль (не получающая лечения); 2 группа – получавшая в монорегиме антибиотик Amx в дозе 80 мг/кг в сутки перорально; 3 группа – получавшая в монорегиме ПА в дозе 50 мг/кг в сутки перорально; 4 группа – получавшая комбинированно ПА 50 мг/кг и Amx 80 мг/кг. Антибиотик и разрабатываемый препарат ПА вводили 2 раза в день в течение 14 суток. Эти интервалы выбраны для имитации используемых режимов терапии у людей.

После заражения пневмококком осуществлялось ежедневное наблюдение за изменениями внешних соматических признаков инфекционного воздействия (температура, поведение, состояние шерстного покрова, окраска слизистой рта и другие признаки, не отмеченные в контрольной группе) и еженедельное взвешивание мышей, начиная с первого дня исследования.

Мышей подвергали эвтаназии путем декапитации на 8; 15; 22; 29; 44 сутки после заражения. После макроскопического исследования у животных были взяты кусочки легких на бактериологические исследования для идентификации возбудителя.

Статистический анализ

Все расчеты проводили с использованием Microsoft Excel 2007 и GraphPadPrizm 6.0 (GraphPad Software; La Jolla California, США). Статистическая обработка проведена по стандартным методикам. После получения численных значений первичных данных рассчитывали среднее арифметическое значение (M) и стандартную ошибку среднего (m). Для выявления достоверности различий между экспериментальными и контрольными значениями при условии нормального распределения использовали двухсторонний критерий Стьюдента (t). Различия между группами считались статистически значимыми при $P \leq 0,05$. Для описания распределений, не являющимися нормальными, применяли медиану и интерквартильный размах. Для описания распределений, не являющимися нормальными, применяли непараметрический критерий.

Результаты и обсуждение

Проведена хроническое аэрозольное заражение β -гемолитической культурой *Streptococcus pneumoniae* мышей (58 половозрелых животных обоего пола) в течение 8 недель. Все выжившие животные (48 мышей) на 43 сутки были разделены на экспериментальные группы для изучения терапевтической эффективности КС (ПА): 1 группа – положительный контроль (не получающая лечения); 2 группа – получавшая антибиотик Amx в дозе 80 мг/кг в сутки перорально; 3 группа – получавшая ПА в дозе 50 мг/кг в сутки перорально; 4 группа – получавшая ПА 50 мг/кг и Amx 80 мг/кг. Лекарственные препараты вводили перорально один раз в сутки в утренние часы в течение 14 дней. Разрабатываемое соединение вводили за 30 минут до введения антибиотика.

Исследования проведены во всех группах при завершении эксперимента: 1 группа – отрицательный контроль (12 ♂), 2 группа – положительный контроль (12 ♂), 3 группа – Amx (12 ♂), 4 группа – Amx+ПА (12 ♂), 5 группа – ПА (12 ♂).

Таблица 1

Вес мышей при контрольных измерениях в период оксигенации, г, $M \pm t$

Наименование группы	Сроки заражения						
	1 сутки	1 неделя	2 неделя	3 неделя	4 неделя	5 неделя	6 неделя
Интактные животные	26.4±1.9	28.0±2.2	29.7±2.1	30.1±2.4	30.8±2.4	31.9±2.7	32.8±2.8
Положительный контроль (<i>S. pneumoniae</i>)	25.2±1.4	23.9±2.1*	25.1±2.3	26.1±2.5*	27.5±2.6*	27.6±2.8*	28.4±1.8*

Примечание: при $p \leq 0.05$ по сравнению с интактным контролем (*)

Согласно таблице 1 выявлена достоверная разница между весовыми показателями отрицательного и положительного контроля.

Таблица 2

Вес мышей после начала терапии (на 43-й день от начала оксигенации *Streptococcus pneumoniae*), г, $M \pm t$

День	Наименование группы животных				
	Интактные животные	<i>S. pneumoniae</i> (без терапии)	<i>S. pneumoniae</i> + 80 мг/кг Амх	<i>S. pneumoniae</i> + 50 мг/кг КС (ПА)	<i>S. pneumoniae</i> + 50 мг/кг КС (ПА) + 80 мг/кг Амх
1 неделя	31.9±2.7	27.6±2.8	32.8±2.3	30.0±2.4 ^Δ	32.0±1.7 ^Δ
2 неделя	32.8±2.8	28.4±1.8	33.4±1.8	31.3±2.3 ^Δ	33.5±1.4

Примечание: терапию проводили в течение 14 дней; при $p \leq 0.05$ по сравнению с отрицательным (*) и положительным контролем (^Δ)

Согласно таблице 2 выявлена достоверная разница между весовыми показателями опытных групп Амх + ПА, ПА и положительного контроля.

Таблица 3

Вес внутренних органов мышей после начала терапии (на 43-й день от начала оксигенации *S. pneumoniae*), г, $M \pm t$

Наименование органа	Наименование группы животных				
	Интактные животные	<i>S. pneumoniae</i> (без терапии)	<i>S. pneumoniae</i> + 80 мг/кг Амх	<i>S. pneumoniae</i> + 50 мг/кг КС (ПА)	<i>S. pneumoniae</i> + 50 мг/кг КС (ПА) + 80 мг/кг Амх
Сердце	0.172±0.005	0.184±0.009	0.165±0.013	0.174±0.012	0.173±0.027 ^Δ
Печень	1.378±0.048	1.757±0.165*	1.414±0.140 ^Δ	1.571±0.107 ^Δ	1.350±0.190 ^Δ
Почки	0.559±0.037	0.769±0.074*	0.555±0.031	0.493±0.031* ^Δ	0.549±0.076 ^Δ
Селезенка	0.265±0.027	0.305±0.082	0.271±0.018	0.245±0.004	0.224±0.061
Семенники	0.240±0.028	0.211±0.067*	0.230±0.030 ^Δ	0.202±0.009* ^Δ	0.226±0.014 ^Δ
Легкие	0.247±0.066	0.456±0.048*	0.297±0.050	0.305±0.159	0.301±0.040

Примечание: терапию проводили в течение 14 дней; при $p \leq 0.05$ по сравнению с отрицательным (*) и положительным контролем (^Δ)

Согласно таблице 3 достоверная разница между весовыми показателями внутренних органов опытных групп и отрицательного контроля, получавших моно- и комплексную терапию, выявлена в группе положительного контроля – печень, почки, семенники, легкие, в опытной группе Амх + ПА – почки, семенники.

Достоверная разница между весовыми показателями внутренних органов опытных групп и положительного контроля, получавших моно- и комплексную терапию, в группе Amx – печени, семенники, в группе Amx + ПА – печень, почки, семенники, в группе ПА – сердце, печень, почки, семенники.

Проведение гематологических исследований крови мышей (количественное определение Эритроциты, Гемоглобин, Лейкоциты, Лимфоциты, Моноциты, Гранулоциты, Тромбоциты), подвергнутых хронической аэрозольной оксигенации β -гемолитической культурой *Streptococcus pneumoniae* в течение 2-х месяцев (8 недель), и с последующей терапией разрабатываемым лекарственным средством КС (ПА) и Amx, показало, что на 15-е сутки (через 2 недели после последней оксигенации) у 12 мышей отмечается достоверно значимое снижение уровня лейкоцитов в периферическом кровотоке $(2,95 \pm 0,64) \times 10^9$ клеток/л, моноцитов $(0,66 \pm 0,04) \times 10^9$ клеток/л и тромбоцитов $(231,5 \pm 21,92) \times 10^9$ клеток/л. Напротив, применение КС (ПА) оказывает определённое модулирующее влияние на уровень лейкоцитов у 8 животных, а у оставшихся 4-х не приводило на основании исследований гематологических параметров к снижению проявлений септицемии. Совместное введение КС (ПА) с антибиотиком уменьшало признаки лейкопении у всех животных, уровень лейкоцитов составлял $(9,73 \pm 3,87) \times 10^9$ клеток/л, у 8 животных уровень лейкоцитов достоверно возрастал по сравнению с инфицированными животными, не подвергавшимися терапии, и по сравнению с интактными.

Проведение гематологических исследований крови мышей (количественное определение Эритроциты, Гемоглобин, Лейкоциты, Лимфоциты, Моноциты, Гранулоциты, Тромбоциты), подвергнутых хронической аэрозольной оксигенации β -гемолитической культурой *Streptococcus pneumoniae* в течение 2-х месяцев (8 недель) у 12 мышей отмечается достоверно значимое снижение уровня лейкоцитов в периферическом кровотоке $(2,95 \pm 0,64) \times 10^9$ клеток/л, моноцитов $(0,66 \pm 0,04) \times 10^9$ клеток/л и тромбоцитов $(231,5 \pm 21,92) \times 10^9$ клеток/л (таблица 4). В таблице 4 представлены гематологические показатели мышей, инфицированных *Streptococcus pneumoniae* и получавших терапию антибиотиком.

Напротив, применение КС (ПА) оказывает определённое модулирующее влияние на уровень лейкоцитов у 8 животных, а у оставшихся 4-х не приводило на основании исследований гематологических параметров к снижению проявлений септицемии (таблица 4).

Совместное введение КС (ПА) с антибиотиком уменьшало признаки лейкопении у всех животных, уровень лейкоцитов составлял $(9,73 \pm 3,87) \times 10^9$ клеток/л, у 8 животных уровень лейкоцитов достоверно возрастал по сравнению с инфицированными животными, не подвергавшимися терапии, и по сравнению с интактными (таблица 4).

Таблица 4

Результаты гематологических исследований, $M \pm m$

Наименование теста	Наименование групп животных				
	Интактные животные	<i>S. pneumoniae</i> (без терапии)	<i>S. pneumoniae</i> + 80 мг/кг Amx	<i>S. pneumoniae</i> + 50 мг/кг КС (ПА)	<i>S. pneumoniae</i> + 50 мг/кг КС (ПА) + 80 мг/кг Amx
Эритроциты, 10^{12} /L	10.80±1.20	11.57±2.48	9.86±2.03	1203±1.89	11.11±1.27
Гемоглобин, g/L	132.36±13.17	135.42±12.68	128.33±15.72	134.58±10.47	136.58±14.51
Гематокрит, %	44.57±4.87	46.89±4.10	41.99±5.78	47.25±4.57	45.30±7.83
Лейкоциты, 10^9 /L	7.56±0.56	2.92±0.66*	10.24±3.72* ^Δ	10.23±4.12* ^Δ	17.07±5.00* ^Δ
Лимфоциты, 10^9 /L	3.81±0.68	1.33±0.73*	6.12±2.72* ^Δ	6.47±3.48* ^Δ	8.81±5.60* ^Δ
Моноциты, 10^9 /L	1.60±0.52	0.58±0.28*	1.68±0.51	2.70±3.81	2.65±1.79 ^Δ

Гранулоциты, 10 ⁹ /L	2.30±1.02	1.02±0.61	2.45±2.03 ^Δ	2.17±1.40 ^Δ	5.63±5.57 ^Δ
Лимфоциты, %	52.82±13.07	44.96±23.15	59.65±12.99	58.60±12.02	51.19±26.96
Моноциты, %	19.68±6.19	19.36±7.08	17.08±4.93	16.87±5.78	15.40±10.37
Гранулоциты, %	27.46±13.08	35.67±21.32	23.27±11.37	22.04±12.95	33.45±25.15
Тромбоциты, 10 ⁹ /L	923.73±313.03	921.83± 358.17	896.00±306.68	1194.00±406.08 ^Δ	902.92±285.95
Примечание: при p ≤ 0.05 по сравнению с отрицательным (*) и положительным контролем (Δ)					

Биохимическое исследование крови (количественное определение в периферической крови АЛТ, АСТ, глюкозы, мочевины, общего белка и креатинина у всех мышей показало, что у стрептококк-инфицированных мышей отмечается снижение уровня глюкозы и общего белка, возрастание креатинина, АСТ и щелочной фосфатазы (таблица 5)

Комбинированное применение КС (ПА) с Амх оказывает терапевтический эффект на проявление септицемии.

Таблица 5

Результаты биохимических исследований, M ± m

Наименование группы	Наименование группы животных				
	Интактные животные	<i>S. pneumoniae</i> (без терапии)	<i>S. pneumoniae</i> + 80 мг/кг Амх	<i>S. pneumoniae</i> + 50 мг/кг КС (ПА)	<i>S. pneumoniae</i> + 50 мг/кг КС (ПА) + 80 мг/кг Амх
АСТ, U/L	66.04±10.85	78.33±7.96*	70.15±7.57 ^Δ	70.20±7.91 ^Δ	71.91±10.67
АЛТ, U/L	63.18±9.45	69.02±9.13	64.00±7.59	61.35±10.70	63.81±6.51
Бил. общ., μmol/L	1.04±0.28	0.98±0.23	0.92±0.22	0.97± 0.16	0.93±0.21
Глюкоза, mmol/L	7.82±1.00	5.01±0.72*	6.18±0.87* ^Δ	5.82±1.00* ^Δ	6.28±1.17* ^Δ
Общ. белок, g/L	58.51±5.90	49.65±5.50*	53.80±3.99*	54.24±8.18	59.31±6.55 ^Δ
Мочевина, mmol/L	6.81±0.72	9.75±0.74*	8.53±0.95* ^Δ	8.56±1.08* ^Δ	8.05±0.81* ^Δ
Креатинин, μmol/L	68.38±7.23	82.29±7.56*	76.37±5.63* ^Δ	78.94±6.55*	70.70±8.04* ^Δ
Щелочная Фосф., U/L	94.88±20.41	120.06±11.59*	116.15±12.11*	104.28±12.01 ^Δ	100.13±12.98 ^Δ
Триглицериды, mmol/L	0.89±0.13	0.96±0.16	0.94±0.20	0.92±0.16	0.92±0.11
Холестерин, mmol/L	0.96±0.22	1.00±0.18	0.98±0.16	1.04±0.15	0.95±0.15
Примечание: при p ≤ 0.05 по сравнению с отрицательным (*) и положительным контролем (Δ)					

Итак, хроническая аэрозольная оксигенация мышей β-гемолитической культурой *Streptococcus pneumoniae* способствует развитию септицемии. Можно с определённой долей вероятности утверждать, что истощение в периферической крови лейкоцитов приводит к снижению клиренса инфекционного агента в крови и легочной ткани. Наблюдаемое снижение количества тромбоцитов может быть связано с рекрутированием клеток в легкие и диссеминированным внутрисосудистым свертыванием. Совместное применение КС (ПА) с антибиотиком проявляет выраженную терапевтическую эффективность при хроническом бактериальном процессе на основании микробиологических, гематологических, биохимических исследований, включая и иммунологические, биоптатов легких и крови. Патогенетические свойства проводимой терапии могут быть обусловлены как действием антибиотика по уничтожению бактериальных клеток, так и влиянием разрабатываемого лекарственного средства КС (ПА) по привлечению нейтрофилов, в том числе через регулирование иммунного ответа через активацию естественных клеток-киллеров (НК), которые имеют самую высокую долю именно в легочной ткани, и обусловлено, что именно эти клеточные структуры способствует продуцированию противовоспалительного цитокина IL-6.

Репрезентативные фотографии легких мышей при хронической бактериальной рефрактерной колонизации *Streptococcus pneumoniae* и при терапии КС (ПА) и антибиотиком (Амх) представлены на рисунке 1.

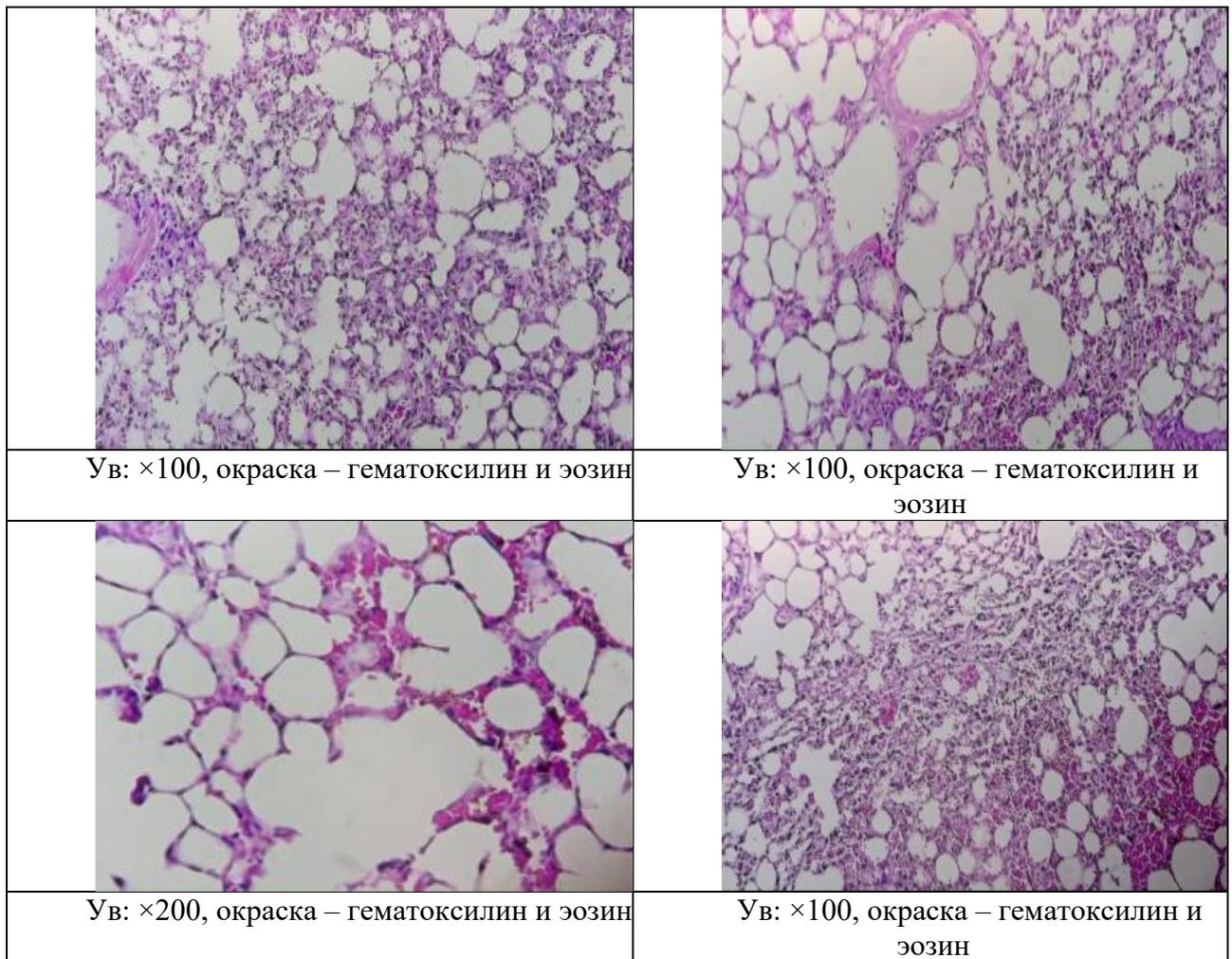


Рисунок 1. Гистология легких мышей при хронической бактериальной рефрактерной колонизации *Streptococcus pneumoniae* и при терапии КС (ПА) и Амх

Гистологическая картина легочной ткани мышей, подвергнутых хроническому ингаляционному воздействию *Streptococcus pneumoniae* представлена на рисунке 2.

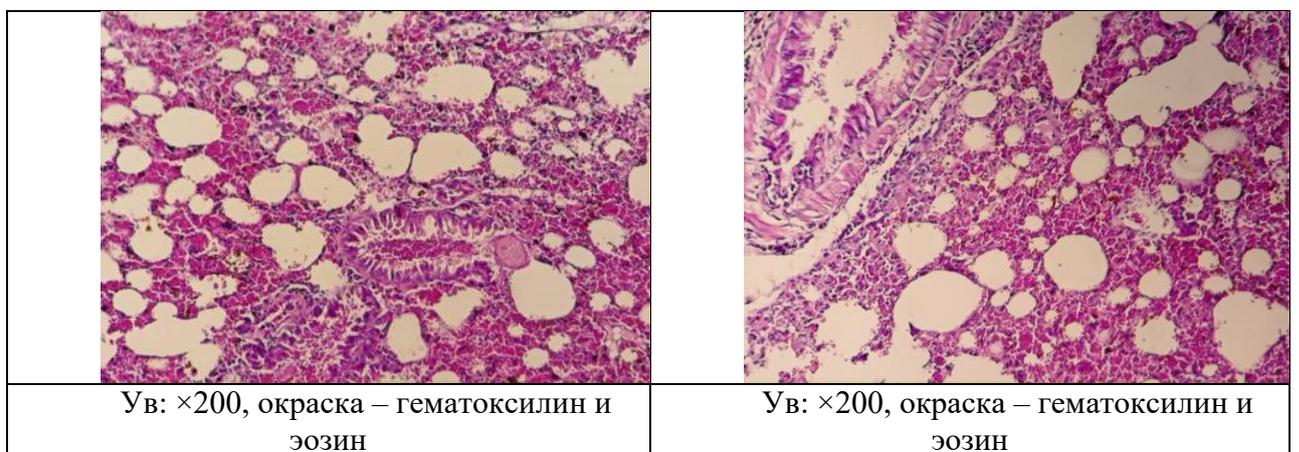


Рисунок 2. Гистология легких мышей при хронической бактериальной рефрактерной колонизации *Streptococcus pneumoniae*

Гистологическая картина легочной ткани мышей, подвергнутых хроническому ингаляционному воздействию *Streptococcus pneumoniae* и терапии Amx представлена на рисунке 3.

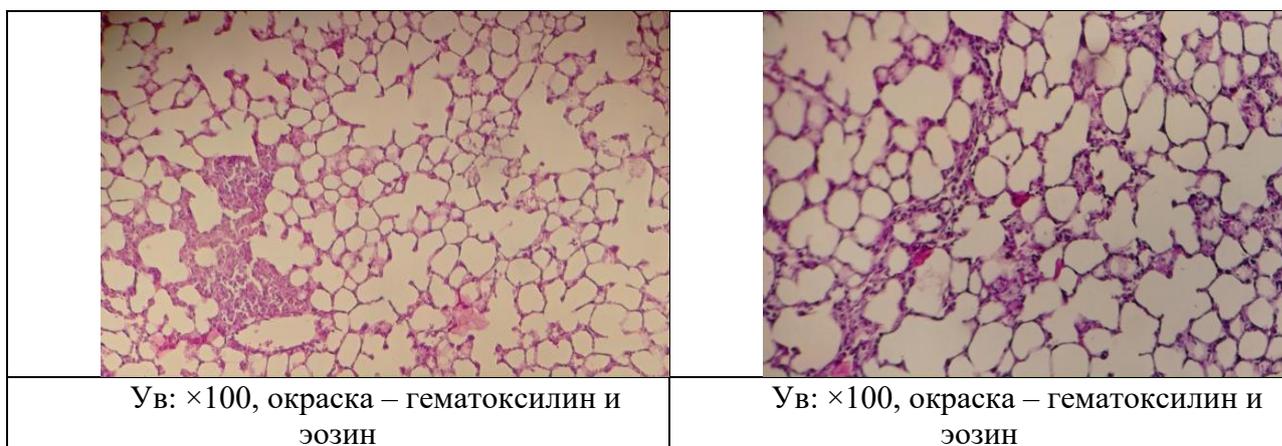


Рисунок 3. Гистология легких мышей при хронической бактериальной рефрактерной колонизации *Streptococcus pneumoniae* и при терапии КС (ПА) и Amx

Гистологическая картина легочной ткани мышей, подвергнутых хроническому ингаляционному воздействию *Streptococcus pneumoniae* и терапии ПА представлена на рисунке 4.

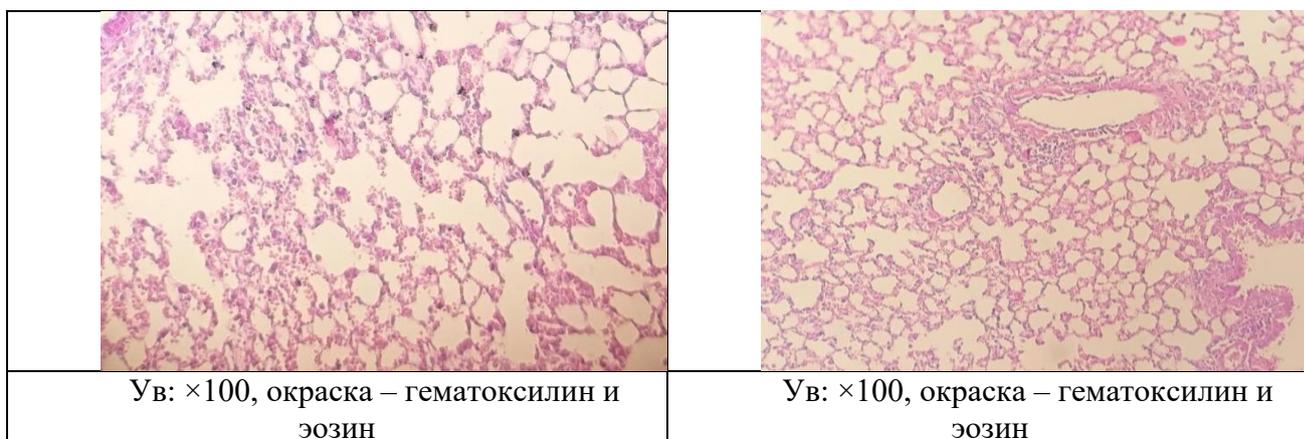


Рисунок 4. Гистологическая картина легочной ткани мышей, подвергнутых хроническому ингаляционному воздействию *Streptococcus pneumoniae* и терапии ПА

Гистология легких мышей при хронической бактериальной рефрактерной колонизации *Streptococcus pneumoniae* и при терапии КС (ПА) и Amx представлена на рисунке 5.

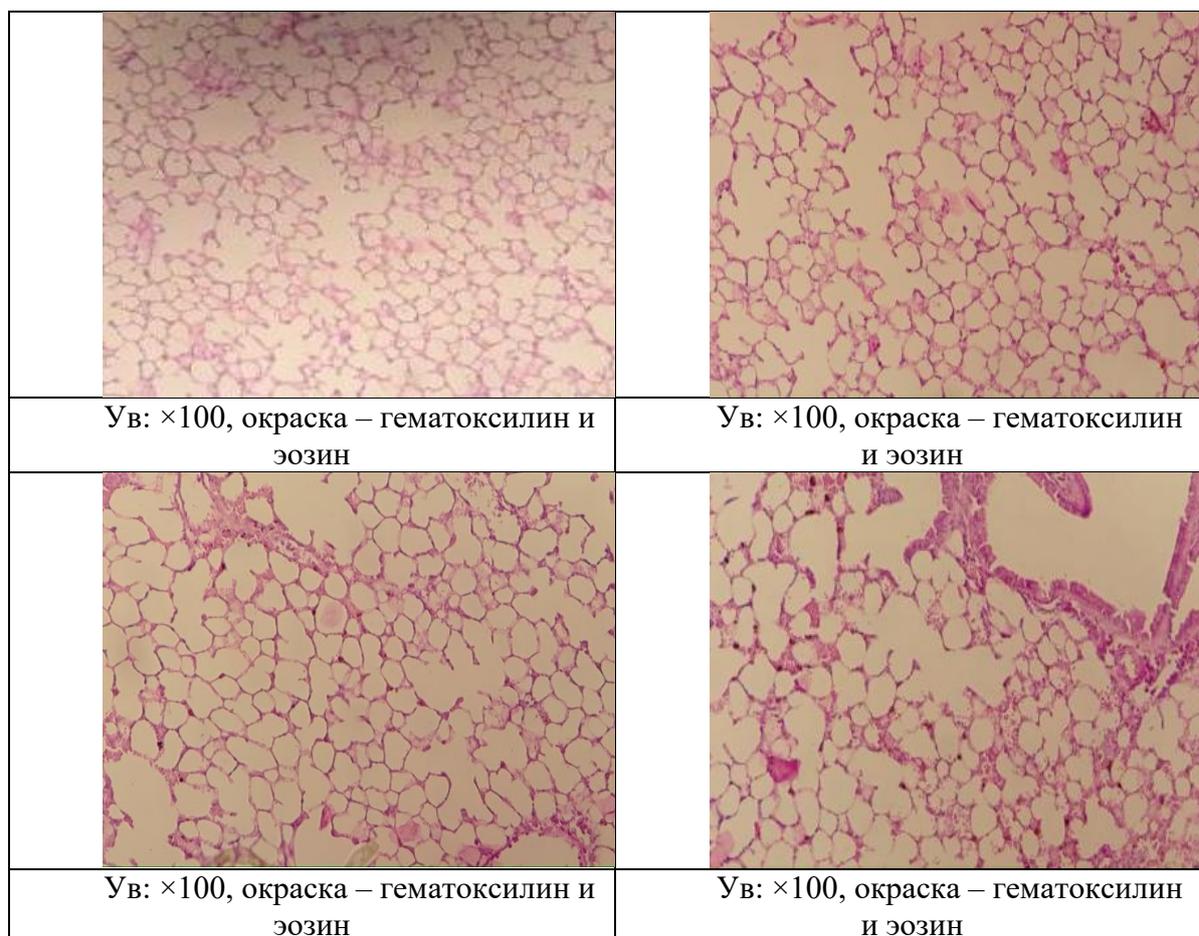


Рисунок 5. Гистология легких мышей при хронической бактериальной рефрактерной колонизации *Streptococcus pneumoniae* и при терапии КС (ПА) и Амх

Как известно, иод у позвоночных является компонентом гормонов щитовидной железы, который необходим для правильного развития и функционирования в первую очередь нервной системы. В настоящее время показано, что значительное количество иода в организме концентрируется в экстратиреоидных тканях, в том числе и нейтрофилах, которые имеют симпортер иодид-натрия (NIS) и/или анионообменник пендрин (PDS) [5]. Более того, иод поглощается и метаболизируется иммунными клетками, и может действовать как противовоспалительное или провоспалительное средство. Все это свидетельствует, что поглощение I_2 клетками является эволюционно консервативной системой. В результате проведенных научно-исследовательских работ были получены новые оригинальные лекарственные препараты и фармацевтическая разработка координационных соединений иода: КС (ПА) и комбинированный препарат, представляющий собой комбинацию КС (ПА) и Амх. Фармацевтические разработки проведены комплексом физико-химических исследований. Наряду с этим, проведены испытания их токсикологических свойств и терапевтической активности. В качестве показателей потенциальной терапевтической эффективности КС (ПА) и «КС (ПА) и Амх» рассматривается модулирующее действие через влияние на межклеточную коммуникацию и на активацию интерферонов, без влияния на их пролиферацию; влияние через прямое действие на иммунные клетки для дальнейшего усиления противовоспалительной реакции организма.

Заключение

Были получены новые следующие результаты, которые существенно расширяют

представление о патогенетических механизмах хронических инфекционно-воспалительных бактериальных заболеваний (хроническая пневмония и хронический пиелонефрит) и хроническом воспалении организма, отягощенном бактериальной контаминацией. Хроническая аэрозольная оксигенация штаммом β -гемолитической культуры *Streptococcus pneumoniae*, *P. mirabilis* и *Pseudomonas aeruginosa* приводила к формированию хронического бактериального процесса в лёгочной и почечной тканях, септицемии и морфофункциональным изменениям в организме. Комбинированное применение КС (ПА) с Амх оказывает значительный терапевтический эффект.

Комбинированное использование «КС (ПА) и Амх» обеспечивает более сильное подавление роста бактерий и может снизить устойчивость бактерий к антибиотикам (воздействие двумя агентами на разные мишени: бактерии и клетки организма). Комбинации «КС и антибиотик» имеют разные мишени и способствуют усилению инактивации бактерий. Не исключается использование в комбинированном препарате сублетальных концентраций антибиотика, что может повысить продуктивность клеточных элементов организма, например, нейтрофилов, тем, самым вызывая индуцированное снижение численности бактерий, проявляя синергизм с КС. Экспериментально доказана эффективность КС иода (ПА) на проникновение антибиотиков через матрикс биопленок и на их распад, введение антибиотика предотвращает повторный рост биопленки и появление устойчивых форм бактерий. Выявлены косвенные механизмы уничтожения бактерий при применении КС (ПА), связанные с взаимодействием с врожденным иммунным ответом, усиливающие бактериальный фагоцитоз нейтрофилов, что приводит к более эффективному уничтожению бактерий.

КС (ПА) предупреждает воспалительную реакцию организма при метаболическом синдроме (хроническое воспаление), в том числе индуцированного неинфекционными агентами. КС (ПА) оказывает положительное влияние на показатели метаболического синдрома и в том числе, отягощённого бактериальной инфекцией, за счет снижения гиперактивности гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы организма. Выявлено иммуномодулирующее влияние КС (ПА) как при его профилактическом, так и терапевтическом введении при экспериментальном сепсисе на усиление врожденного клеточного иммунитета: стимулирование антимикробного иммунного ответа. Таким образом, разрабатываемые лекарственные средства КС (ПА) и комбинированный препарат «КС (ПА) и Амх» могут успешно применяться у пациентов с хроническими бактериальными заболеваниями, воспалительными процессами, в том числе отягощенными бактериальной контаминацией.

Работа выполнена в рамках НТП ИРН BR218004/0223 «Совершенствование мер обеспечения биологической безопасности в Казахстане: противодействие опасным и особо опасным инфекциям» на 2023-2025 годы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Muller U., Steinhoff U., Reis L.F., et al. Functional role of type I and type II interferons in antiviral defense // Science. – 1994. – Vol. 264, No 5167. – P. 1918-1921.
2. Zhou F., Yu T., Du R., et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult in patients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study // Lancet. – 2020. – Vol. 395. – P. 1054-1062.
3. Приказ и.о. Министра здравоохранения Республики Казахстан от 4 февраля 2021 года № КР ДСМ–15 «Об утверждении надлежащих фармацевтических практик».- [URL:https://adilet.zan.kz/rus/doc/V2000021545](https://adilet.zan.kz/rus/doc/V2000021545).
4. Глезер М.Г., Яковлев С.В., Холодов Л.Е. Проблемы связи терапевтического эффекта и концентрации лекарственных веществ в крови // Антибиотики и медицинская биотехнология. – 1987, 7. – С. 498-500.

5. **De la Vieja A., Santisteban P.** Role of iodide metabolism in physiology and cancer. // *Endocr. Relat. Cancer.* – 2018. – 25. – P. 225-245.

КҮРДЕЛІ КОВИДТІК ПНЕВМОНИЯНЫҢ НЕГІЗГІ ҚОЗДЫРҒЫШЫ РЕТІНДЕ *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* ТУДЫРАТЫН БАКТЕРИЯЛЫҚ ПНЕВМОНИЯНЫ ЕМДЕУДЕ АНТИБИОТИКТИ КҮШЕЙТКІШТІҢ ЭКСПЕРИМЕНТТІК НЕГІЗДЕМЕСІ

Ибрагимова Н.А., Искакбаева Ж.А., Жумабаева С.М., Красноштанов А.В., Гапурхаева Т.Э.

Бұл мақалада *Streptococcus pneumoniae* тудыратын бактериялық пневмонияны емдеудегі КС (ПА) әсерін зерттеу нәтижелері берілген. *Streptococcus pneumoniae* β -гемолитикалық культурасы бар тышқандардың созылмалы аэрозольді инфекциясы 8 апта бойы жүргізілді. 43-ші күні тірі қалған барлық жануарлар КС (ПА) терапиялық тиімділігін зерттеу үшін эксперименталды топтарға бөлінді: 1 – оң бақылау; 2 – 80 мг/кг Амх; 3 – 50 мг/кг ПА; 4 – 50 мг/кг ПА және 80 мг/кг Амх. Зерттеу нәтижесінде әзірленіп жатқан препараттар, КС (ПА) және біріктірілген «КС (ПА) және Амх» препараттары созылмалы бактериялық аурулары, қабыну процестері бар науқастарда, соның ішінде асқынған науқастарда сәтті қолданылуы мүмкін екендігі анықталды.

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF AN ANTIBIOTIC POTENTIATOR IN THE TREATMENT OF BACTERIAL PNEUMONIA CAUSED BY *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* AS THE MAIN PATHOGEN IN COMPLICATED COVID PNEUMONIA

Ibragimova N.A., Iskakbaeva Zh.A., Zhumabaeva S.M., Krasnoshtanov A.V., Gapurkhaeva T.E.

This paper presents the results of a study of the effect of CS (PA) in the treatment of bacterial pneumonia caused by *Streptococcus pneumoniae*. Chronic aerosol infection of mice with a β -hemolytic culture of *Streptococcus pneumoniae* was carried out for 8 weeks. All surviving animals on day 43 were divided into experimental groups to study the therapeutic effectiveness of CS (PA): 1 – positive control; 2 – 80 mg/kg Amx; 3 – 50 mg/kg PA; 4 – 50 mg/kg PA and 80 mg/kg Amx. As a result of the study, it was revealed that the drugs being developed, CS (PA) and the combined drug “CS (PA) and Amx,” can be successfully used in patients with chronic bacterial diseases, inflammatory processes, including those aggravated by bacterial contamination.

УДК: 571.27:615.37. 578.831.11

СЕРОПРЕВАЛЕНТНОСТЬ ГРИППА ПТИЦ В РАЗНЫХ РЕГИОНАХ РК

Мырзахметов Е.Т., Рыскельдинова Ш.Ж., Кожамкулов Е.М., Майлыбаева А.М., Сагимбаева А.М., Акмырзаев Н.Ж., Яманова Е.С., Сидихов Р.Б., Асанжанова Н.Н.

(ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности»,
п. Гвардейский, Республика Казахстан, email: y.myrzakhmetov@biosafety.kz)

Вирус гриппа А имеет несколько подтипов, каждый из которых может по-разному влиять на птиц. Понимание специфики каждого подтипа позволит разработать целенаправленные стратегии вакцинации и контроля распространения вируса, что в конечном итоге будет способствовать более эффективной защите как домашних, так и диких птиц. Проведено исследование сывороток крови от домашних птиц 10 областей Республики Казахстан на наличие антител к вирусу гриппа А. Пробы были в начале исследованы на наличие антител к вирусу гриппа типа А методом иммуноферментного анализа (ИФА), в дальнейшем положительные пробы были исследованы на количественное содержание антител и также на антитела к субтипам H5, H7 и H9. В результате исследований были выявлены антитела к вирусу ГП подтипа H5 из разных областей.

Ключевые слова: грипп птиц, иммунопрофилактика, серологический мониторинг, сыворотка крови

Введение

Грипп птиц — острое респираторное заболевание млекопитающих и домашней птицы, которое возникает из зоонозных резервуаров у водоплавающих птиц и летучих мышей [1]. Этот вирус, относящийся к семейству *Orthomyxoviridae*, представляет собой серьезную угрозу как для сельского хозяйства, так и для общественного здоровья. Его вариации могут спонтанно мутировать, что делает профилактику и контроль особенно сложными задачами. Вирусная инфекция проявляется в различных клинических формах, от бессимптомного течения до тяжелых респираторных заболеваний, сопровождающихся высокой смертностью [2].

Вспышки птичьего гриппа участились в 2021 году по всему миру. На птицефермах в Норвегии, Южной Корее и Японии вирусом заразились сотни тысяч птиц [3]. В Европе по данным на октябрь 2022 года выявлены случаи заражения 2467 птиц на фермах, 3573 диких птиц и 187 птиц, содержащихся в качестве домашних питомцев. Более 48 миллионов птиц были отбракованы в сельских хозяйствах в силу высокой вероятности их инфицирования [4]. В 2023 году вспышки высоко патогенного гриппа птиц (ВПГП) были зарегистрированы в 73 государствах. Традиционно наибольшее количество пострадавших от этого заболевания стран (не из общего числа, а в сравнении с другими) пришлось на долю европейских – 32. Наибольшее число очагов отмечалось в Венгрии и во Франции – 144 и 148. Всего ВПГП выявлено в 20 государствах Северной и Латинской Америки. Также ещё около 1 000 случаев наблюдалось в 12 странах Азии и девять – Африки. В 2023-м году зарегистрировано 67 вспышек ВПГП в Российской Федерации, в том числе 10 - среди домашней, 57— среди дикой и декоративной птицы [5]. Согласно официальным данным министерства сельского хозяйства Республики Казахстан (МСХ РК), в 2023 г. болезнь зарегистрирована в Мангистауской области на побережье озера Караколь [6].

Целью исследования было проведение серомониторингового исследования среди домашних птиц РК для осуществления контроля за особо опасными болезнями и своевременной выработки рекомендаций по профилактике и борьбе с гриппом птиц.

Материалы и методы

Исследуемые образцы. В работе использовали 1200 проб сывороток крови птиц, доставленных из Кызылординской, Жамбылской, Алматинской, Туркестанской, Жетысуйской, Карагандинской, Акмолинской, Западно-Казахстанской и Актюбинской областей Республики Казахстан.

Пробы были исследованы на наличие антител к вирусу гриппа типа А методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием коммерческого набора "ID Screen Influenza A Nucleoprotein Indirect" (ID Vet, Франция), в дальнейшем положительные пробы были исследованы на количественное содержание антител и выявление субтипов H5, H7, H9 с использованием наборов этого же производителя (ID Vet, Франция) согласно инструкции к наборам (ID Vet, Франция).

Результаты и обсуждение

В результате полевых экспедиций в различные области РК были отобраны 1200 проб сывороток крови от домашних птиц (таблица 1).

Исследуемые образцы из различных регионов РК

Область	Район	Кол-во проб	Область	Район	Кол-во проб
Кызылординская	Жалагаш	85	Караганда	Каркаралы	40
	Шиели			Нура	
	Казалы			Шет	
Жамбылская	Жуалы	103	Акмолинская	Бурабай	78
	Сарысу			Астрахан	
	Турар-Рыскулов			Ерейментау	
				Есиль	
Алматинская	Талгар	140	Абайская	Бородулин	120
	Жамбыл			Жармин	
	Балкаш			Урджар	
	Енбекшиказак				
Туркестанская	Отырар	189	Западно – Казахстанская	Сырым	145
	Шардара			Акжайык	
	Жетисай			Жанибек	
Жетысуйская	Алаколь	120	Актюбинская	Кобда	180
	Аксу			Шалхар	
	Коксу			Мугалжар	
				Ыргыз	
				Хромтау	
				Каргалы	

При исследовании сывороток крови на наличие антител к вирусу гриппа А методом ИФА сравнительно высокий уровень положительных проб наблюдался в Алматинской (33,5%), Кызылординской (21,1%) и Западно - Казахстанской областях (20,6%), достаточно низкий уровень иммуноположительных птиц наблюдали в Жетысуйской (8,3%), Жамбылской (6,7%), Туркестанской (5,2%), Карагандинской (2,5%) и Абайской областях (0,8%). При этом Акмолинская и Актюбинская области показали полное отсутствие антител к вирусу гриппа А, что говорит об отсутствии вакцинации и высоком риске вспышки эпизоотического вируса ГП. В среднем процент положительных проб к вирусу гриппа А в исследованных областях РК был невысокий и составил 10,3%. Результаты исследования представлены на рисунке 1.

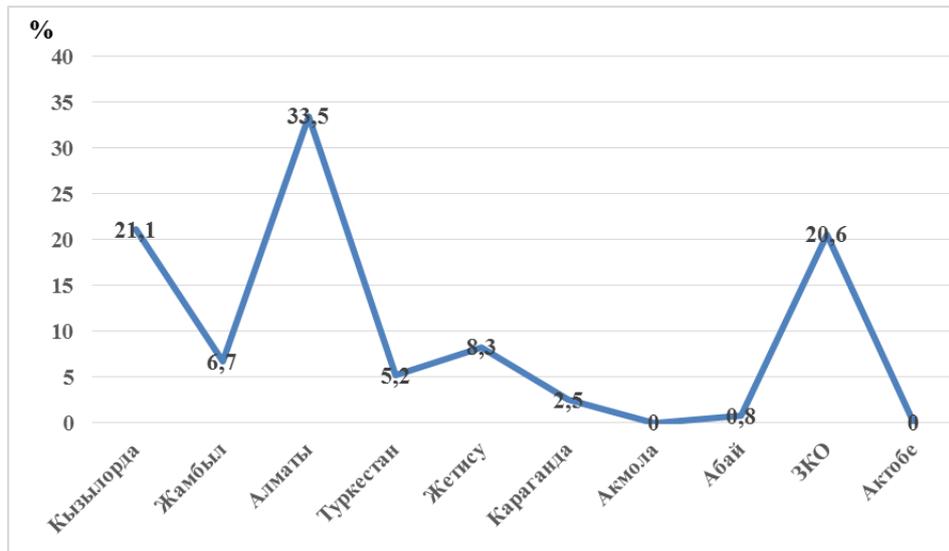


Рисунок 1. Результаты исследования проб сывороток крови на наличие антител к вирусу гриппа А

Далее все положительные пробы сывороток анализировали на наличие антител к вирусу ГП подтипов Н5, Н7, Н9. В результате исследований были выявлены антитела к вирусу ГП подтипа Н5 у 105 проб из разных областей. Антитела к вирусу ГП подтипов Н7 и Н9 обнаружены не были. Результаты выявленных антител к вирусу ГП подтипа Н5 в среднегеометрическом (СГТ) титре в областях показаны в рисунке 2. Сравнивая с аналогичными исследованиями других авторов [7] за последние годы, можно увидеть схожие результаты.

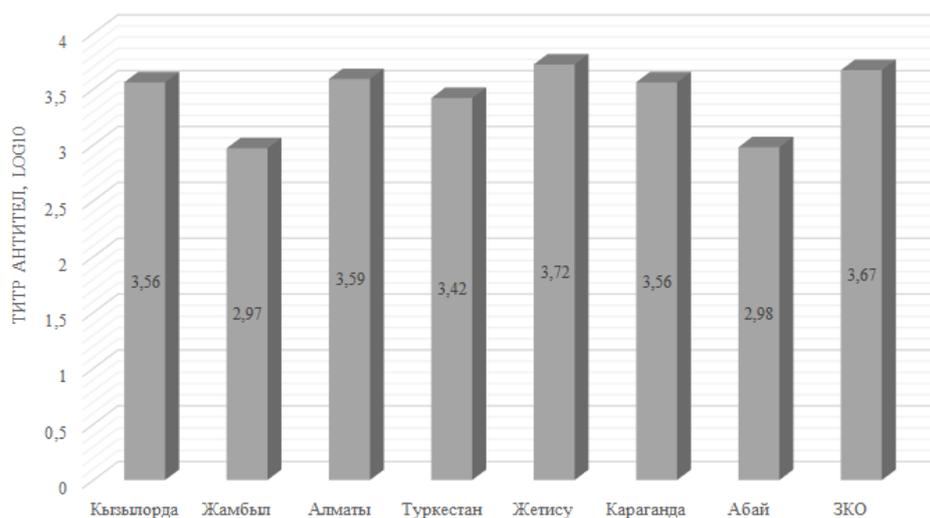


Рисунок 2. Среднегеометрические титры антител к вирусу гриппа птиц

Fig. 2. Mean geometric titers of antibodies to avian influenza virus

Данные исследования показывают значительные различия в уровне положительных проб по регионам, и в целом ситуация с низкими показателями иммунокомпетентных птиц к вирусу гриппа по стране (не превышает 10,3% из всех исследованных проб) указывает на необходимость дальнейших исследований и, возможно, активизации профилактических мер. Такой низкий процент может объясняться тем, что возможно были нарушения схем вакцинации или же вакцинация против данного вируса проводилась не во всех районах. Это может указывать на потенциальные риски и необходимость усиления монито-

ринга для предотвращения возможных негативных последствий для здоровья животных и населения.

Также стоит отметить, что вирус гриппа А имеет несколько подтипов, каждый из которых может по-разному влиять на птиц. Понимание специфики каждого подтипа позволит разработать целенаправленные стратегии вакцинации и контроля распространения вируса, что в конечном итоге будет способствовать более эффективной защите как домашних, так и диких птиц.

Вывод

В результате проведенных в 2024 г. исследований можно сделать вывод о наличии низкой иммунной прослойки составляющей 10,3% со среднегеометрическим титром 3,43 \log_{10} к вирусу гриппа А/Н5 среди домашних птиц на территории Республики Казахстан. Проведение регулярных мониторинговых исследований позволит выявить не только циркуляцию вирусов среди домашних птиц, но и оценить риски их передачи от дикой популяции. Важно понимать, что вирусы гриппа могут легко адаптироваться и мутировать, что делает профилактические меры особенно актуальными. Установление четких маршрутов миграции диких птиц и их связи с местами размещения домашнего поголовья поможет в разработке эффективных стратегий борьбы с возможными вспышками.

Работа выполнена в рамках НТП ИРН BR218004/0223 «Совершенствование мер обеспечения биологической безопасности в Казахстане: противодействие опасным и особо опасным инфекциям» на 2023-2025 годы.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Webster R.G., Govorkova E.A.** Continuing challenges in influenza // *Annals of the New York Academy of Sciences*. – 2014. – 1323(1). – P. 115-39.
2. **Tong S., Zhu. X., Li Y., Shi M., Zhang J., Bourgeois M., et al.** New World bats harbor diverse influenza A. // *PLoS Pathog.* – 2013. – 9(10):e1003657. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003657.
3. Массовые вспышки птичьего гриппа произошли по всему миру (16 ноября 2021). Дата обращения 10 августа 2024.
4. В Европе зафиксирована крупнейшая в истории вспышка птичьего гриппа. ТАСС (3 октября 2022). Дата обращения: 16 декабря 2022. URL <https://tass.ru/obschestvo/15939637>
5. OIE. Avian Influenza. URL <https://doctor.rambler.ru/pharma/52102647-v-2023-godu-gripp-ptits-vyyavlen-v-73-stranah/>.
6. Официальные данные министерства сельского хозяйства Республики Казахстан. URL https://tengrinews.kz/kazakhstan_news/epidemiologi-rasskazali-riske-zarajeniya-mangi-staustsev-523061/
7. **Кулагина М.А., Волкова М.А., Чвала Ир.А., Осипова О.С., Ярославцева П.С., Андрейчук Д.Б., Чвала И.А.** Серологический мониторинг гриппа птиц и ньюкаслской болезни на территории Российской Федерации в 2020 г. // *Ветеринария сегодня*. – 2022. – №2. – С. 76-82. DOI: 10.29326/2304-196X-2022-11-2-142-148.

ҚР ТҮРЛІ ӨЦІРЛЕРІНДЕГІ ҚҰС ТҰМАУЫНЫҢ СЕРОПРЕВАЛЕНТТІЛІГІ

Мырзахметов Е.Т., Рыскельдинова Ш.Ж., Кожамқұлов Е.М., Майлыбаева А.М., Сагимбаева А.М., Акмырзаев Н.Ж., Яманова Е.С., Сидихов Р.Б., Асанжанова Н.Н.

А тұмауы вирусының бірнеше кіші түрлері бар, олардың әрқайсысы құстарға әр түрлі әсер етуі мүмкін. Әрбір кіші түрдің ерекшелігін түсіну вирустың таралуын бақылау және вакцинациялаудың мақсаты стратегияларын жасауға мүмкіндік береді, бұл сайып келгенде үй құстарын да, жабайы құстарды да

тиімді қорғауға ықпал етеді. А тұмауы вирусына антиденелердің болуына Қазақстан Республикасының 10 облысындағы үй құстарынан қан сарысуларына зерттеу жүргізілді. Сынамалар басында иммуноферменттік талдау (ИФА) әдісімен А типті тұмау вирусына антиденелердің болуына зерттелді, одан әрі оң сынамалар антиденелердің сандық құрамына, сондай-ақ H5, H7 және H9 субтиптеріне антиденелерге зерттелді. Зерттеулер нәтижесінде әртүрлі аймақтардан H5 кіші типті ГП вирусына антиденелер анықталды.

SEROPREVALENCE OF AVIAN INFLUENZA IN DIFFERENT REGIONS OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

Myrzakhmetov E.T., Ryskeldinova Sh.Zh., Kozhamkulov E.M., Mailybaeva A.M., Sagimbayeva A.M., Akmyrzaev N.Zh., Yamanova E.S., Sidikhov R.B., Asanzhanova N. N.

The influenza A virus has several subtypes, each of which can affect birds in different ways. Understanding the specifics of each subtype will allow us to develop targeted vaccination strategies and control the spread of the virus, which will ultimately contribute to more effective protection of both domestic and wild birds. A study of blood sera from poultry from 10 regions of the Republic of Kazakhstan for the presence of antibodies to influenza A virus was conducted. The samples were initially examined for the presence of antibodies to influenza A virus by enzyme immunoassay (ELISA), subsequently positive samples were examined for the quantitative content of antibodies and also for antibodies to subtypes H5, H7 and H9. As a result of the research, antibodies to the H5 subtype avian influenza virus from different regions were identified.

UDC 615.012.6

GENOTYPIC MARKERS OF ANTIBIOTIC RESISTANCE IN ESKAPE PATHOGENS: IMPLICATIONS FOR BACTERIOPHAGE DEVELOPMENT

Syrym N.S., Maulenbay A.D., Sultankulova K.T., Anarbekova A. Yespembetov B.A

*(Limited Liability Partnership «Research Institute for Biological Safety Problems»,
n.syrym@biosafety.kz)*

Antibiotic resistance is a critical public health issue, with ESKAPE pathogens posing significant challenges due to their multidrug-resistant nature. This study aims to identify ESKAPE pathogens and assess their genotypic markers of antibiotic resistance to guide the development of alternative therapies, such as bacteriophage therapy. Key resistance genes were identified all demonstrating significant resistance levels. Future research will focus on evaluating the efficacy of bacteriophages against these resistant strains, optimizing their use in clinical settings, and exploring synergistic effects with existing treatments.

Keywords: antibiotic resistance, ESKAPE pathogens, bacteriophage therapy, quantitative PCR, public health

Introduction. Decades of antibiotic misuse and overuse by doctors and patients for treating mild ailments [1], along with the widespread use of antimicrobials in veterinary medicine, have significantly contributed to the emergence and spread of resistant strains. Animals often receive the same antibiotics used in human medicine, which not only jeopardizes animal health but also poses a substantial risk to human health by facilitating the transfer of resistant pathogens through direct contact, consumption of animal products, or environmental pathways [2].

Antibiotic resistance is an increasingly urgent public health concern, currently causing approximately 700,000 deaths annually, with projections suggesting this number could climb to 10 million by 2050, making it a leading cause of global mortality alongside cardiovascular and Aoncological diseases [3]. The timeline for bacterial evolution and the development of resistance is uncertain and unpredictable. For example, penicillin resistance took 20 years to emerge, eryth-

romycin resistance appeared in 15 years, and resistance to fluoroquinolones and fifth-generation cephalosporins developed within just one year of use [4]. Additionally, the development of new antibiotics has become increasingly difficult, with the number of new approvals halving every five years, resulting in only one new antibiotic being approved in 2015 [5].

The development of antibiotic resistance has been a significant challenge in clinical settings. As shown in Figure 1 adapted from [6], which was created using [Biorender.com](https://biorender.com) (accessed on 7 August 2024), the timeline from 1940 illustrates the introduction of various antibiotics (blue text) and the corresponding years when resistance was first reported (red text). The red dashed lines indicate the time gap between the introduction of an antibiotic and the emergence of resistant strains. Notably, PDR (Pan-Drug Resistant) bacteria are resistant to all antibiotics in all antimicrobial categories, while XDR (Extensively Drug-Resistant) bacteria are resistant to at least one agent in all but two or fewer antimicrobial categories, leaving only limited treatment options.

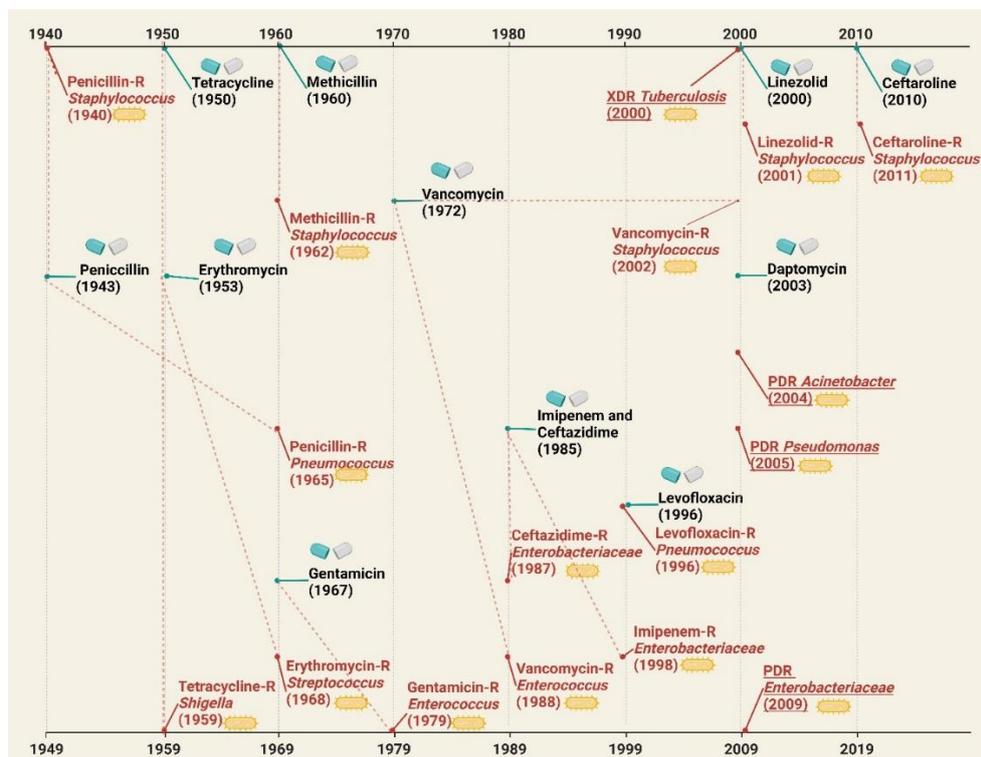


Figure 1. The timeline highlighting the years when specific antibiotics were introduced and the corresponding years when resistance was first reported

Hospitals are particularly prone to these infections due to the presence of highly susceptible patients, frequent invasive procedures, and high rates of antibiotic usage [5]. To enhance the rational use of antibiotics and support monitoring, the WHO introduced the AWaRe (Access, Watch, and Reserve) classification in March 2017. This system categorizes 180 antibiotics based on pharmacological classes, anatomical-therapeutic classification codes, and their status on the WHO's Essential Medicines List (EML). It also highlights antibiotics not recommended by the WHO, particularly fixed-dose combinations of broad-spectrum antibiotics without proven indications or endorsements in high-quality international guidelines [7].

Kazakhstan, as part of the global health community, follows WHO guidelines. However, despite a slight reduction in the consumption of antimicrobials for systemic use in recent years, irrational antibiotic use remains a significant issue. A substantial portion of antibiotics (27.5%) is obtained without a prescription, and antibiotics represent 29.9% of all prescribed drugs, exceed-

ing the WHO's recommended level of 20%. This misuse contributes to the rise of antimicrobial resistance (AMR), undermining efforts to prevent infectious diseases. For instance, despite efforts to control tuberculosis, Kazakhstan ranks 92nd out of 138 countries in terms of disease prevalence [8].

Data analysis on the use of systemic antibiotics in children in Kazakhstan reveals a pattern of irrational antibiotic use, particularly with a predominance of Watch group antibiotics. This trend is primarily driven by the adult population, likely due to the presence of resistance to Access antibiotics among adult patients. Over-reliance on Watch group antibiotics exacerbates the problem of AMR in the region, undermining the effectiveness of current treatments and posing a serious public health threat by accelerating the development of antibiotic-resistant bacteria [9]. The empirical use of antibiotics during the COVID-19 pandemic has further increased the use of cephalosporins, metronidazole, and azithromycin [10].

In response to this critical need, the WHO published a list of priority pathogens in February 2017 to guide research and development efforts for new antimicrobials. Among these, ESKAPE pathogens (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Enterobacter* spp.) were identified as high priority due to their substantial threat to public health [11].

One potential solution to antibiotic resistance among ESKAPE pathogens is the use of alternative therapeutic options such as bacteriophage therapy [12]. Phages offer several advantages over antibiotics: they are self-propagating, highly specific in targeting infected bacterial cells without harming the normal microbiota, and relatively safe [13]. Phages ideal for therapeutic applications must be thoroughly evaluated in terms of their broad host range, life cycle, production capacity (large burst size), storage stability, absence of undesirable genetic elements (e.g., toxins, antibiotic-resistant or integrase genes), and anti-biofilm activity [14]. Thus, to comprehensively study bacteriophage efficacy, specific strains with antimicrobial resistance (AMR) need to be selected. The aim of this study is to identify ESKAPE pathogens and assess genotypic markers of antibiotic resistance for further research and development of bacteriophages against ESKAPE pathogens.

Methods. For the studies, standard collection strains of microorganisms obtained from the Republican Collection of Microorganisms were used. Bacteriological research was conducted using classical methods for working with strains: cultivation, subculturing, obtaining pure cultures, light microscopy, and Gram staining. Bacterial genomic DNA was extracted from overnight cultures of each isolate grown in LB medium.

Genomic DNA was purified from gram-negative bacteria using the GeneJET™ Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific) following the manufacturer's protocol, and from gram-positive bacteria using a lysis buffer consisting of 20 mM Tris-HCl (pH 8.0), 2 mM EDTA, 1.2% Triton X-100, and lysozyme 20 mg/mL. The qPCR reactions were performed using the Litech kit for the detection of DNA of infection pathogens and antibiotic resistance genes using the polymerase chain reaction method (Resistom complex ESKAPE-V). The qPCR reactions were performed using the QuantStudio 5 Real-Time PCR System (Applied Biosystems) with the following cycling conditions: initial denaturation at 80°C for 2 minutes (1 cycle); 95°C for 1 minute 30 seconds (1 cycle); cycling conditions included denaturation at 95°C for 15 seconds, annealing at 60°C for 30 seconds (40 cycles, with data acquisition at the end of each annealing step), and extension at 72°C for 40 seconds.

Results and discussion. Currently, antibiotic-resistant strains of microorganisms are spreading rapidly: methicillin- and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*; a variety of microbes producing beta-lactamase (including the Enterobacteriaceae family and others); multi-drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium tuberculosis*, and *Candida*; carbapenem-resistant *Acinetobacter* and *Klebsiella*; vancomycin-resistant *Enterococcus*; and erythromycin- and other drug-resistant group A *Streptococcus* [15]. The significant social and eco-

nomie impact of resistant bacterial strains is evident worldwide [16]. The widespread, often indiscriminate use of antibiotics has led to antibiotic resistance becoming a global problem, underscoring the need for developing new drugs effective against resistant microorganisms or evaluating existing ones for synergistic antibacterial effects.

Researchers estimated that in 2019, antibacterial drug resistance was associated with 4.95 million deaths. Six pathogens were responsible for over 250,000 deaths related to antibiotic resistance: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Enterobacter cloacae* [17].

Among the studied strains of ESKAPE group bacteria: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Enterococcus faecalis* possess genotypic markers of antibiotic resistance (table 1). A working collection of ESKAPE group bacterial strains has been created, characterized by their response to the antibiotics of choice for the etiological therapy of the infectious process caused by each representative of the group (not shown here).

Table 1

Cycle threshold (Ct) values and corresponding antibiotic resistance genes for ESKAPE pathogens

ESKAPE-pathogen	Ct	AMR-gene	Ct,
<i>Escherichia coli</i>	18,3	<i>blaCTX-M</i>	12,9
<i>Staphylococcus aureus</i>	19,8	<i>MecA</i>	22,5
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12,6	<i>blaOXA48</i>	15,6
<i>Enterococcus faecalis</i>	19,0	<i>VanA</i>	34,3

The multicomponent plot (Figure 2) shows the fluorescence intensity of different dyes (FAM, CY5, ROX, and VIC) across multiple PCR cycles. Each curve represents the amplification of specific target sequences, with fluorescence measured at each cycle to monitor the increase in product. The different colors correspond to different fluorophores: FAM (blue), CY5 (brown), ROX (red), and VIC (green). The plot provides a visual representation of the amplification process, indicating the efficiency and kinetics of the qPCR reactions for various targets.

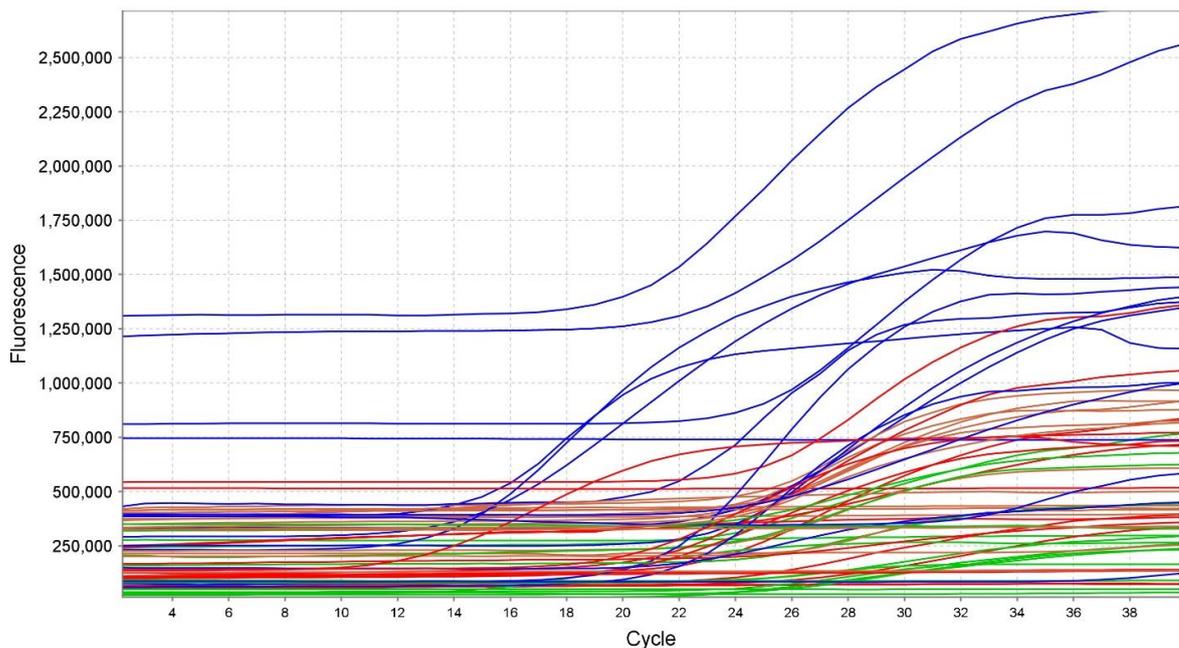


Figure 2. Multicomponent plot of qPCR amplification curves

The emergence and prevalence of antibiotic resistance genes in ESKAPE pathogens present a significant challenge in clinical settings, as these organisms are responsible for a substantial proportion of hospital-acquired infections and exhibit resistance to multiple antibiotic classes. In this study, the presence of key antibiotic resistance genes in ESKAPE pathogens was assessed using quantitative PCR (qPCR) to determine the cycle threshold (Ct) values, providing insights into the extent of resistance within these bacteria.

The results demonstrated varying levels of resistance across different species. *Escherichia coli* exhibited a Ct value of 18.3 for the detection of the organism and Ct value of 12.9 for the *blaCTX-M* gene, indicating the presence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) conferring resistance to cephalosporins. This finding is consistent with previous reports that *blaCTX-M* is one of the most prevalent ESBL genes in *E. coli*, facilitating resistance to a broad range of beta-lactam antibiotics and posing a challenge to effective treatment options [18].

Staphylococcus aureus showed a Ct value of 19.8 for the detection of the organism and 22.5 for the *mecA* gene, which is responsible for methicillin resistance. The *mecA* gene encodes an altered penicillin-binding protein (PBP2a) with a low affinity for beta-lactam antibiotics, thus rendering methicillin and other related antibiotics ineffective. This highlights the persistence and clinical significance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in healthcare settings [19].

Klebsiella pneumoniae was detected with a Ct value of 12.6, and the *blaOXA-48* gene, associated with carbapenem resistance, was identified with a Ct value of 15.6. The *blaOXA-48* gene encodes an enzyme that hydrolyzes carbapenems, one of the last-resort antibiotics for treating multidrug-resistant bacterial infections. The presence of *blaOXA-48* in *K. pneumoniae* is particularly concerning as it limits the therapeutic options available for treating infections caused by this pathogen [11].

Enterococcus faecalis presented a Ct value of 19.0 for the detection of the organism and a much higher Ct value of 34.3 for the *VanA* gene, which confers resistance to vancomycin. The *VanA* gene cluster is responsible for altering the target site of vancomycin, reducing its binding affinity and thereby conferring high-level resistance. The detection of *VanA* in *E. faecalis* underscores the challenge of treating infections caused by vancomycin-resistant enterococci (VRE) [11].

Additionally, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Enterobacter cloacae* were identified with Ct values below 30, indicating the presence of these pathogens in the collection. These organisms are known for their ability to acquire and disseminate multiple antibiotic resistance genes, further complicating treatment regimens [20].

The highest mortality rates among intensive care unit patients are attributed to infections caused by ESKAPE group bacteria [21]. In developing nations, where calculating economic losses is often challenging, bacterial infectious diseases continue to be the leading cause of death. This problem is further intensified by the continuous emergence and resurgence of infectious diseases. Consequently, researching effective strategies to combat ESKAPE group bacteria has become a critical priority for the global community.

Conclusion. This study aimed to identify ESKAPE pathogens and assess their genotypic markers of antibiotic resistance to guide further research and development of bacteriophages as alternative therapeutic options. The findings reveal a significant prevalence of key antibiotic resistance genes among ESKAPE pathogens, including *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Enterococcus faecalis*. These pathogens exhibited resistance to multiple classes of antibiotics, highlighting the critical challenge they pose in clinical settings.

The detection of resistance genes such as *blaCTX-M* in *E. coli*, *mecA* in *S. aureus*, *blaOXA-48* in *K. pneumoniae*, and *VanA* in *E. faecalis* underscores the urgent need for alternative treatment strategies. Additionally, the identification of *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas*

aeruginosa, and *Enterobacter cloacae* with significant resistance further complicates the treatment landscape.

These results emphasize the necessity for continued surveillance and stringent infection control measures to manage the spread of antibiotic-resistant pathogens. The development of bacteriophage therapy presents a promising alternative, offering targeted and effective treatment options without contributing to further antibiotic resistance. Future research should focus on evaluating the efficacy of bacteriophages against these resistant strains, optimizing their use in clinical settings, and exploring synergistic effects with existing treatments.

The research was carried out within the framework of the scientific and technical project “Improvement of measures to ensure biological safety in Kazakhstan: Counteraction to dangerous and especially dangerous infections” IRN BR218004/0223 2023-2025.

LITERATURA

1. **Gulland, A.** WHO Targets Antimicrobial Resistance in New Essential Medicines List // *BMJ*. – 2017. – Т. 357. – С. j2809. <https://doi.org/10.1136/bmj.j2809>.
2. **Yespenbetov, B.A., Syrym N.S., Syzdykov M.S.** et al. Impact of Geographical Factors on the Spread of Animal Brucellosis in the Republic of Kazakhstan // *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. – 2019. – Т. 67. – С. 101349. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.101349>.
3. **Dadgostar P.** Antimicrobial Resistance: Implications and Costs // *Infection and Drug Resistance*. – 2019. – Т. 12. – С. 3903-3910. <https://doi.org/10.2147/IDR.S234610>.
4. **Hede K.** Antibiotic Resistance: An Infectious Arms Race // *Nature*. – 2014. – Т. 509, № 7498. – С. S2–S3. <https://doi.org/10.1038/509S2a>.
5. **Ventola C.L.** The Antibiotic Resistance Crisis // *Pharmacy and Therapeutics*. – 2015. – Т. 40. – С. 277-283.
6. **Kuehn B.** Antibiotic Resistance Threat Grows // *JAMA*. – 2019. – Т. 322, № 24. – С. 2376. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.19975>.
7. **Sharland M., Pulcini C., Harbarth S.** Classifying Antibiotics in the WHO Essential Medicines List for Optimal Use—Be AWaRe // *The Lancet Infectious Diseases*. – 2018. – Т. 18, № 1. – С. 18-20. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30724-7](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30724-7).
8. **Zhussupova G., Utepova D., Orazova G.** Evaluation of Antibiotic Use in Kazakhstan for the Period 2017–2019 Based on WHO Access, Watch and Reserve Classification (AWaRe 2019) // *Antibiotics*. – 2021. – Т. 10. – С. 58. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010058>.
9. **Iskakova N., Khismetova Z., Suleymenova D.** et al. Factors Influencing Antibiotic Consumption in Adult Population of Kazakhstan // *Antibiotics*. – 2023. – Т. 12. – С. 560. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030560>.
10. **Balapasheva A.A., Smagulova G.A., Mussina A.Z.** et al. Pharmacoepidemiological Analysis of Antibacterial Agents Used in a Provisional Hospital in Aktobe, Kazakhstan, in the Context of COVID-19: A Comparison with the Pre-Pandemic Period // *Antibiotics*. – 2023. – Т. 12. – С. 1596. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12111596>.
11. **De Oliveira D.M.P., Forde B.M., Kidd T.J.** et al. Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens // *Clinical Microbiology Reviews*. – 2020. – Т. 33, № 3. – С. e00181-19. <https://doi.org/10.1128/CMR.00181-19>.
12. **Finney A.G., Perry J.M., Evans D.R.** et al. Isolation and Characterization of Lytic Bacteriophages Targeting Diverse *Enterobacter* Spp. Clinical Isolates // *Phage (New Rochelle)*. – 2022. – Т. 3. – С. 50-58. <https://doi.org/10.1089/phage.2021.0011>.
13. **Lerdsittikul V., Apiratwarrasakul S., Atitthep T.** et al. Isolation and Characterisation of a Novel Silviavirus Bacteriophage Promising Antimicrobial Agent against Methicillin-

Resistant Staphylococcus Aureus Infections // Scientific Reports. – 2024. – Т. 14. – С. 9251. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-59903-w>.

14. **Fernández L., Gutiérrez D., García P.** et al. The Perfect Bacteriophage for Therapeutic Applications—A Quick Guide // Antibiotics. – 2019. – Т. 8. – С. 126. <https://doi.org/10.3390/antibiotics8030126>.

15. **Tapalski D.V., Timoshkova E.V., Petrovskaya, T.A.** et al. Microbiological Efficiency of the Combinations of Two Carbapenems against Antibiotic Resistant Klebsiella Pneumoniae Strains // Klinicheskaia Laboratornaia Diagnostika. – 2021. – Т. 66. – С. 304–309. <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2021-66-5-304-309>.

16. **Nelson R.E., Hatfield K.M., Wolford H.** et al. National Estimates of Healthcare Costs Associated With Multidrug-Resistant Bacterial Infections Among Hospitalized Patients in the United States // Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America. – 2021. – Т. 72. – С. S17–S26. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1581>.

17. **Murray C.J.L., Ikuta K.S., Sharara F.** et al. Global Burden of Bacterial Antimicrobial Resistance in 2019: A Systematic Analysis // The Lancet. – 2022. – Т. 399. – С. 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0).

18. **Фурсова Н.К., Прячук С.Д., Абаев И.В.** и др. Генетическое окружение генов bla CTX-M, локализованных на конъюгативных плаزمидах нозокомиальных изолятов Enterobacteriaceae, выделенных в России в 2003–2007 гг. // Антибиотики и Химиотерапия. – 2010. – Т. 55, № 11–12. – С. 3–10.

19. **Benkő, R., Gajdács, M., Matuz, M.** et al. Prevalence and Antibiotic Resistance of ESKAPE Pathogens Isolated in the Emergency Department of a Tertiary Care Teaching Hospital in Hungary: A 5-Year Retrospective Survey // Antibiotics. – 2020. – Т. 9, № 9. – С. 624. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9090624>.

20. **Pendleton J.N., Gorman S.P., Gilmore B.F.** Clinical Relevance of the ESKAPE Pathogens // Expert Review of Anti-infective Therapy. – 2013. – Т. 11. – С. 297–308. <https://doi.org/10.1586/eri.13.12>.

21. **Tacconelli E., Carrara E., Savoldi A.** et al. Discovery, Research, and Development of New Antibiotics: The WHO Priority List of Antibiotic-Resistant Bacteria and Tuberculosis // Lancet Infect Dis. – 2018. – Т. 18, № 3. – С. 318–327. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30753-3).

ESKAPE ПАТОГЕНДЕРІНДЕГІ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТТІЛІКТІҢ ГЕНОТИПТІК МАРКЕРЛЕРІ: БАКТЕРИОФАГ ТЕРАПИЯСЫН ӘЗІРЛЕУДЕГІ МАҢЫЗЫ

Syrym N.S., Maulenbay A.D., Sultankulova K.T., Anarbekova A. Yespembetov B.A

Аннотация. Антибиотикорезистенттілік қоғамдық денсаулық сақтау үшін маңызды мәселе болып табылады және ESKAPE. Бұл зерттеудің мақсаты ESKAPE тобының патогендерін анықтап, антибиотикорезистенттіліктің генотиптік маркерлерін бағалау, сондай-ақ бактериофаг терапиясы сияқты балама терапияларды әзірлеу болып табылады. ESKAPE тобының патогендері арасында негізгі төзімділік гендері анықталды. Болашақ зерттеулер осы төзімді штамдарға қарсы бактериофагтардың тиімділігін бағалауға, оларды клиникалық жағдайларда пайдалануды оңтайландыруға және қолданыстағы емдеу әдістерімен синергетикалық әсерлерді зерттеуге бағытталады.

ГЕНОТИПИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ У ПАТОГЕНОВ ESKAPE: ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ БАКТЕРИОФАГОВОЙ ТЕРАПИИ

**Сырым Н.С., Мауленбай А.Д., Султанкулова К.Т., Анарабекова А.,
Еспембетов Б.А.**

Антибиотикорезистентность является критической проблемой общественного здравоохранения, и патогены группы ESKAPE представляют значительные трудности из-за их многорезистентной природы. Цель данного исследования — выявить патогены группы ESKAPE и оценить их генотипические маркеры антибиотикорезистентности для разработки альтернативных терапий, таких как терапия бактериофагами. Ключевые слова: антибиотикорезистентность, ESKAPE, бактериофаг, генотип, маркер.

чевые гены резистентности были выявлены среди патогенов. Дальнейшие исследования будут сосредоточены на оценке эффективности бактериофагов против этих резистентных штаммов, оптимизации их использования в клинических условиях и изучении синергетических эффектов с существующими методами лечения.

УДК 578.823.1:571.27

МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ БЛУТАНГА

Есимбекова Н.Б., Исмагамбетов Б.М., Кайсенов Д.Н., Ершебулов З.Д.

(ТОО «OtarBioPharm», нзм. Гвардейский, e-mail: bekza88@mail.ru)

В данном обзоре представлена информация о текущих и потенциальных новых методах диагностики блутанга в мире. Инновационные процедуры, созданные на основе научных достижений и реализованные благодаря прогрессу в лабораторных технологиях, могут позволить выявить возбудителя прямыми или косвенными методами. Мнения ученых в научном сообществе по поводу индикации и идентификации вируса блутанга могут различаться: некоторые отдают предпочтение традиционным методам диагностики, требующим значительного времени и выполнения стандартных процедур, в то время как другие предлагают современные методы, демонстрирующие высокую эффективность, быстроту получения результатов и удобство использования в лабораторных условиях. Проведение анализа результатов научных исследований по диагностике блутанга позволяет выделить эффективность современных методов диагностики в мире.

Ключевые слова: катаральная лихорадка овец, блутанг, реакция нейтрализации, реакция связывания комплемента, реакция диффузионной преципитации, метод флюоресцирующих антител, иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция, лабораторная диагностика

Введение

Катаральная лихорадка овец (блутанг) - (лат. - *Febris infectiosa catarrhalis ovium*, англ. - Bluetongue; синонимы: «синий язык», КЛЮ) - является болезнью, вызванной РНК-содержащим вирусом, относящимся к семейству *Reoviridae*, роду *Orbivirus*. Это неконтагиозная вирусная зооантропонозная болезнь, которая является природно-очаговой и поражает овец, домашних и диких жвачных животных. Болезнь характеризуется лихорадкой, геморрагическим диатезом, катарально-некротическим воспалением слизистых оболочек ротовой полости, языка, желудочно-кишечного тракта, эпителия венчика и основы кожи копыт, сосков вымени, а также дегенеративными изменениями скелетных мышц [1].

Блутанг впервые была зарегистрирована в Южной Африке в 1876 году [2] и с тех пор широко распространилась по всему миру, вызывая массовые эпизоотии среди восприимчивых животных. К 1967 году болезнь уже была зафиксирована в 13 странах Африки, а спустя 10 лет - более чем в 80 странах Западного и Восточного полушария. Кроме того, наблюдается тенденция распространения болезни в более северные регионы [3].

Диагностика блутанга имеет важное значение для контроля заболевания и обеспечения свободной от блутанга торговли животными и их продуктами. Диагноз устанавливается на основании эпизоотологических данных, клинических признаков, патологоанатомических изменений, с подтверждением лабораторными исследованиями.

В соответствии с Руководством по диагностическим испытаниям и вакцинам для наземных животных 2018 (Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals 2018) - Международное эпизоотическое бюро (МЭБ) рекомендует следующие методы диагностики блутанга (таблица 1).

Методы, рекомендуемые для диагностики блутанга

Метод	Цель исследования					
	Отсутствие инфицированности популяции	Отсутствие инфицированности животного перед перемещением	Вклад в мероприятия по оздоровлению	Подтверждение клинических случаев	Распространенность болезни (эпизоотическая ситуация) - наблюдение	Иммунный статус индивидуальных животных или популяции после вакцинации
Идентификация возбудителя						
ПЦР в реальном времени	-	+++	-	+++	++	-
ПЦР	-	+++	-	+++	++	-
Выделение вируса	-	+++	-	+++	-	-
Определение иммунного ответа						
ИФА	+++	+++	++	-	+++	++
Вирус нейтрализация	+	+	++	+	++	++
Иммунодиффузия в агаровом геле	+	+	+	-	+	+

Диагностика блутанга основывается на анализе эпизоотологических, клинических и патологоанатомических данных, а также на результатах лабораторных исследований (вирусологических, серологических и молекулярно-биологических). Своевременная диагностика болезни зависит от условий отбора и транспортировки патологического материала, а также от методов его анализа. Лабораторные исследования должны включать комплекс методов, позволяющих выявить как геном вируса, так и антитела к нему, а также изолировать возбудитель. Для этой цели разработаны различные методы, такие как реакция нейтрализации (РН), реакция связывания комплемента (РСК), реакция диффузионной преципитации (РДП), иммуноферментный анализ (ИФА) и полимеразная цепная реакция (ПЦР) [4, 5, 6, 7, 8]. При установлении окончательного диагноза блутанга необходимо провести дифференциальную диагностику с ящуром, контагиозным пустулёзным дерматитом (эктимой), оспой, везикулярным стоматитом, чумой мелких жвачных, болезнью Найроби, лихорадкой долины Рифт, эпизоотической геморрагической болезнью оленей и некробактериозом. Также следует исключить полиартриты, копытную гниль, абсцессы ног и отравления [9].

Дифференциальная диагностика блутанга основывается на ключевых симптомах, таких как отеки, язвы и изменения в эпителии. Тип и распределение поражений у инфицированных животных могут помочь ветеринару в установлении диагноза блутанга. Заболевания, подлежащие регистрации в МЭБ и имеющие схожие симптомы, представляют собой важные случаи, когда клиническая дифференциальная диагностика может способствовать разработке ранних мер контроля. Следовательно, будет актуально обсудить характерные признаки дифференциального проявления для ряда таких болезней. Важно также учитывать эндемичные заболевания. Первоначальные симптомы блутанга схожи с проявлениями ящура, однако повреждения при ящуре везикулярные и эрозивные, в то время как при блутанге они геморрагические, отечные и эрозивные [10]. Различается и локализация поражений на языке: при блутанге они находятся на задней и боковых частях, а при ящуре - на кончике и спинке языка. Поражения глаз наблюдаются чаще при блутанге, чем при ящуре [11]. Также важно учитывать способ передачи заболевания: блутанг может проявляться спорадически из-за передачи через мокрецов, тогда как ящур имеет высокую заразность, что приводит к значительной заболеваемости в стаде. Везику-

лярный стоматит представляется ещё одной болезнью, которую можно спутать с блутангом, так как их проявления очень схожи, и для дифференциальной диагностики применимы одни и те же критерии. Чума мелких жвачных животных (ЧМЖЖ) - инфекционное заболевание, обладающее сходными проявлениями с блутангом. При ЧМЖЖ выделения из носа бывают слизисто-гнойными, а поражения могут развиваться в ротовой и носовой полости, ноздрах и глазах. Поражения при ЧМЖЖ геморрагические, некротические и эрозивные, при этом их локализация и характер респираторных инфекций отличаются от блутанга. Это заболевание также поражает пищеварительный тракт, вызывая диарею, но без коронита. ЧМЖЖ, как и ящур, очень заразен, поэтому заболеваемость в стаде также будет высокой. Необходимо также учитывать заболевания, вызванные каприпоксвирусом, так как они вызывают нодулярный кожный дерматит у крупного рогатого скота и оспу овец, и коз [12, 13]. Узелковые и пустулезные поражения этих заболеваний отличаются от проявлений блутанга. В конечном итоге, хотя характеристики дифференциального проявления блутанга полезны для полевой диагностики, окончательный диагноз может быть установлен только в лаборатории, серологическими и молекулярными методами. Для выявления антител к вирусу блутанга применяются различные иммунологические тесты, такие как РН, ИФА и иммуноблоттинг, которые позволяют оценить степень зараженности стада. Специфические и быстрые ПЦР-тесты также необходимы для выявления вирусной РНК в биологических образцах животных, высокой чувствительность и специфичность делает их незаменимыми в диагностике блутанга.

Для исследования при жизни в лабораторию отправляют гепаринизированную кровь от больных или переболевших животных. Патматериал (кусочки селезенки, печени, красного костного мозга, трубчатой кости и кровь из сердца) от павших животных отбирается в течение 1,5–2 часов после смерти. В диагностические учреждения также направляют абортированные плоды, легкие, головной мозг и сыворотку крови от животных-матерей. Лабораторные исследования включают выделение вируса из патматериала, его идентификацию и обнаружение вирус-специфических антител в сыворотке крови больных животных.

Некоторые авторы предлагают начинать диагностику блутанга с выделения вируса из патологического материала, так как в наибольшей концентрации он обнаруживается между пятым и одиннадцатым днями после инфицирования в селезенке и лимфатических узлах, а затем - в крови животных [14]. Другие учёные рекомендуют использовать традиционные методы диагностики, такие как выделение вируса с применением 10-11-дневных куриных эмбрионов, с дальнейшим заражением пробами, обработанными ультразвуком. Выделенный вирус идентифицируют традиционными диагностическими методами, включая РН с типоспецифическими сыворотками, метод флюоресцирующих антител. В неясных случаях проводят заражение 3-6-месячных овец и исследование сыворотки крови с использованием реакции связывания комплемента (РСК). Для ретроспективной диагностики болезни применяют РН, РСК, ПЦР, РДП и метод флюоресцирующих антител (МФА), а также твердофазный ИФА [15]. Кроме того, авторы предлагают выделение и выращивание изолятов вируса в мышах с последующим пассированием в клеточной культуре, а затем характеристику с помощью традиционных серологических тестов, таких как тест иммунодиффузии в агаровом геле или тест нейтрализации сыворотки. Тем не менее, эти авторы отмечают, что указанные процедуры могут быть весьма затратными и не всегда позволяют выявить низкие уровни инфекционного вируса или штаммы блутанга, которые не реплицируются в мышах или клеточных культурах.

Выделение вируса из крови или спермы - еще один способ диагностики блутанга. Однако большинство методов выделения вируса затратные и требуют много времени. В настоящее время широко используются панели обратной транскрипции полимеразной

цепной реакции (ОТ-ПЦР) и ОТ-ПЦР в реальном времени, хотя секвенирование следующего поколения остается перспективным для будущей диагностики вирусов [16].

Также множество других ученых активно подтверждают и доказывают эффективность применения полимеразной цепной реакции с обратной транскрипцией (ОТ-ПЦР), а также ее модификации, известной как ОТ-ПЦР в реальном времени, для целей быстрой и точной диагностики заболевания блутанга. Например, в своих исследованиях, изложенных в 2004 году, S Zientara утверждает, что была разработана серия специализированных процедур, которые направлены на выявление присутствия как антигенов, так и нуклеиновых кислот, относящихся к блутангу. Метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) зарекомендовал себя как мощный диагностический инструмент, который позволяет реализовать эффективное выявление этого вируса. Лабораторные методы ПЦР могут быть использованы не только для обнаружения наличия нуклеиновой кислоты вируса блутанга, но и для определения так называемой «серогруппы» орбивирусов. Кроме того, они предоставляют важную информацию о серотипе и потенциальном географическом источнике (таком как топотип или генотип) изолятов блутанга. Важно отметить, что данная информация может быть получена всего за несколько дней после того, как клинические образцы, например, инфицированная овечья кровь, будут переданы в лабораторию. На фоне этого, традиционные подходы, которые основываются на выделении вируса и его последующей идентификации, могут занимать как минимум три-четыре недели для получения данных о серогруппе и серотипе, при этом они зачастую не предоставляют информации о возможном происхождении выделенного вируса, что существенно ограничивает их эффективность. Больше того, метод ПЦР позволяет проводить дифференциацию между полевыми изолятами и вакцинными штаммами, что является значительным преимуществом данного подхода [15]. Также в ряде научных работ представлены результаты, касающиеся оценки диагностического потенциала ПЦР в реальном времени для обнаружения последовательности рибонуклеиновой кислоты (РНК) вируса блутанга в клеточных культурах, а также в образцах тканей инфицированных жвачных животных из таких стран, как США, Судан, Южная Африка и Сенегал. РНК из всех полевых изолятов блутанга, которые использовались в данном исследовании и были размножены в клеточных культурах, была успешно обнаружена с помощью описанного метода анализа на основе ПЦР в реальном времени. Результаты данного исследования продемонстрировали, что этот анализ ПЦР в реальном времени можно эффективно применять для быстрого и точного обнаружения блутанга как в культурах клеток, так и в клинических образцах, полученных от восприимчивых жвачных животных, в моменты вспышек данного заболевания, как в США, так и в Африке [17].

Методы, основанные на гибридизации нуклеиновых кислот, предоставляют возможность для четкой дифференциации серотипов и топотипов вируса блутанга. Эти методы являются весьма эффективными и точными, однако они также обладают значительными недостатками. Все упомянутые техники отличаются высокой сложностью в исполнении, что может вызывать трудности в их повседневной практике. Для успешной реализации этих методик требуется наличие специального оборудования, которое зачастую бывает дорогим и недоступным для многих лабораторий. Кроме того, необходимо проведение оптимизации условий тестирования, что может занимать много времени и ресурсов. Эти факторы ограничивают практическое применение данных методов в рутинной диагностике блутанга, что делает их использование менее распространенным в клинической практике [18].

Методы ПЦР находят широкое и эффективное применение для детекции вируса в различных мониторинговых исследованиях, а также в рамках подтверждающей лабораторной диагностики. Эти методы играют важную роль в определении серотипа вируса, а также в его генетической характеристике, что особенно актуально для заболевания блутанг. С помощью ПЦР можно выявлять присутствие вируса на ранних стадиях развития болезни у павших животных, а также в случаях, когда он сохраняется в организме особей

с ослабленным иммунитетом. Кроме того, данная методика позволяет обнаруживать вирус в латентной стадии заболевания и в организмах векторов блутанга, что имеет большое значение для контроля и профилактики распространения инфекции. Более того, существует возможность надежной дифференциации между вакцинными и невакцинными штаммами вируса, что позволяет проводить более точную диагностику и мониторинг эпидемиологической ситуации [14].

Серологические анализы являются важным инструментом в диагностике различных инфекционных заболеваний и в настоящее время широко применяются в лабораторной практике. Эти анализы часто основываются на таких методах, как ИФА и РН, которые позволяют определить наличие антител к определённым патогенам. В последние годы наблюдается активное развитие новых методов, которые предлагают альтернативные подходы к серологическим исследованиям, что может значительно расширить возможности диагностики инфекционных болезней.

Использование ИФА для выявления антител к вирусу блутанга у инфицированных животных действительно ускоряет процесс получения результатов, но стоит отметить, что такой подход не всегда даёт надежное подтверждение факта недавнего заражения. Это может стать проблемой в тех случаях, когда требуется точное определение времени заражения. Кроме того, важно учитывать, что ИФА также может быть полезен для обнаружения вируса в тканях исследуемых образцов, однако его чувствительность по сравнению с другими методами диагностики, как правило, оказывается ниже. Все эти ограничения играют значительную роль в интерпретации полученных результатов и в выборе наиболее подходящей диагностической стратегии, особенно в тех ситуациях, когда необходима высокая точность и надежность в подтверждении диагноза [15].

В настоящее время ИФА почти полностью заменил другие серологические методы, хотя реакция нейтрализации все еще является «золотым стандартом» для определения серотипа вируса блутанга. ИФА удобен и быстро отслеживает динамику иммунитета, но его главный недостаток заключается в том, что он выявляет только антитела, а не сам возбудитель. Наборы на основе конкурентного ИФА более чувствительны и подходят для тестирования различных видов животных, включая диких жвачных. Наборы, использующие непрямой ИФА, обычно применяются для определения антител в молоке [16]. Из всех серологических методов только реакция нейтрализации вируса эффективно дифференцирует серотипы блутанга, однако он труден при смешанных инфекциях, не подходит для новых серотипов и является крайне затратным и сложным в реализации.

Традиционно успешная идентификация и характеристика орбивирусов зависели от разработки и тщательного применения различных методов выделения вирусов. В прошлом это было основной стратегией, базирующейся на культуре клеток и других подходах, которые требовали значительных временных и материальных затрат. Однако, в последние годы внедрение систем молекулярного обнаружения на основе ПЦР произвело настоящую революцию в области диагностики инфекционных заболеваний. Эти современные методы стали настолько эффективными, что в некоторых случаях даже устранено требование изолировать патогены для подтверждения клинических диагнозов, что значительно ускоряет процесс диагностики и делает его более доступным. Особенно важным является то, что в мультиплексных форматах методы, основанные на ПЦР, имеют возможность одновременно обнаруживать несколько патогенов и даже новые варианты существующих патогенов, что открывает новые горизонты в эпидемиологическом мониторинге.

Что касается ветеринарной медицины, то обнаружение и характеристика ветеринарных патогенов, таких как вирус блутанга, также будут следовать по этому же эволюционному пути, используя достижения молекулярной диагностики. Существует ряд технологий, которые делают мультиплексирование возможным. Для орбивирусов такие системы,

основанные на РНК 2 и, возможно, РНК 5, предоставят информацию о серотипе вируса, а основанные на других сегментах, таких как РНК 3, 6 и 7, одновременно предоставят географические и топотипические данные и определяют генетическое происхождение сегментов РНК в встречающихся в природе реассортантах. Применение методов на основе ПЦР в форматах мультиплексирования также позволяет обнаруживать новые патогены и варианты существующих патогенов [18].

В настоящее время в ряде лабораторий активно ведется работа по созданию необходимой инфраструктуры, а также баз данных, которые будут способствовать применению молекулярных систем для более точного обнаружения и характеристики орбивирусов. Эти усилия направлены на улучшение качества диагностики и увеличение точности результатов. Кроме того, новые платформы мультиплексного анализа белков открывают множество возможностей для повышения не только скорости и чувствительности серологических анализов, но и позволяют разрабатывать и внедрять серологические процедуры, которые всего лишь несколько лет назад были технически невозможны, тем самым значительно продвигая область ветеринарной диагностики вперед [19].

Дальнейшее исследование в этой области позволит совершенствовать существующие методы диагностики, а также разрабатывать новые, более точные и эффективные подходы к выявлению блутанга. Учитывая сложность этого заболевания и его потенциально опасные последствия, дальнейшие научные разработки в области лабораторной диагностики играют важную роль в раннем выявлении и успешном лечении блутанга.

Заключение.

Лабораторные методы диагностики блутанга играют важную роль в контроле и предотвращении распространения этого опасного заболевания. Использование современных вирусологических, серологических и молекулярно-генетических методов позволяет точно и быстро диагностировать блутанг, что способствует принятию эффективных мер по его контролю. Дальнейшее развитие лабораторной диагностики блутанга является ключевым направлением для успешной борьбы с этим заболеванием.

Мнения ученых относительно лабораторных методов диагностики блутанга различны. Некоторые считают, что серологические тесты являются недостаточно надежными и что для точной диагностики необходимо использовать несколько методов параллельно. Другие ученые подчеркивают значимость молекулярно-генетических методов как наиболее точных и чувствительных. В целом, все согласны в том, что современные лабораторные методы диагностики блутанга позволяют быстро и точно установить диагноз, что важно для успешного лечения и профилактики этого заболевания.

Таким образом, обзор лабораторных методов диагностики блутанга подтверждает их высокую эффективность и значимость для точного и своевременного выявления этого заболевания. Разнообразие доступных методов позволяет выбирать наиболее подходящий в конкретной клинической ситуации, что способствует повышению точности диагностики и эффективности лечения.

Работа выполнена в рамках научно-технической программы BR218004/0223 «Совершенствование мер обеспечения биологической безопасности в Казахстане: противодействие опасным и особо опасным инфекциям», финансируемой Министерством науки и высшего образования РК 2023-2025 гг.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Roy, Polly.** Bluetongue virus structure and assembly // *Current Opinion in Virology*. – 2017. Jun:24:115-123. doi: 10.1016/j.coviro.2017.05.003
2. **Henning, M.W.**, 1956. *Animal Diseases in South Africa*, 3rd edition. Central News Agency Ltd., South Africa.

3. **N. James Maclachlan.** Bluetongue: History, global epidemiology, and pathogenesis. – 2011. – 102(2), 107-111. doi:10.1016/j.prevetmed.2011.04.005 10.1002/abio.370040210
4. **Луницын А.В.** Применение ОТ-ПЦР при исследованиях импортированных животных на наличие генома вируса блутанга / А.В. Луницын, А.С. Малоголовкин, Е.А. Гаврикова и др. // Ветеринария. – 2010. – № 11. – С. 50-53.
5. **Макаров В.В.** Блутанг 8 серотипа в Европе. Биология и эпидемиология вектора / В.В. Макаров, О.И. Сухарев, Ф.И. Василевич // Ветеринария. – 2014. – № 9. – С. 16-21.
6. **Макаров В.В.** Блутанг в начале 21 века: реальная эпизоотология / В.В. Макаров, Джоханнес Шоопала, С.И. Джупина и др. // Ветеринария сегодня. – 2013. – № 1. – С. 8-10.
7. **Снетков К.А.** Идентификация возбудителей блутанга и эпизоотической геморрагической болезни оленей с помощью полимеразной цепной реакции: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.00.06 / Снетков Константин Анатольевич. – Покров, 2003. – 21 с.
8. **Спрыгин А.В.** Мокрецы рода *Culicoides* (Diptera: Ceratopogonidae) и их роль в распространении блутанга и болезни Шмалленберга в России / А.В. Спрыгин, О.А. Федорова, Ю.Ю. Бабин и др. // С. – х. биология. – 2015. – Т. 50, № 2. – С. 183-197.
9. **Osburn B.I., Arabaib I., Schore C.** Comparison of bluetongue and epizootic hemorrhagic disease complex // *Bovine Practitioner*. – 1995. – Vol. 29. – P. 106-109.
10. **Williamson S., Woodger N., Darpel K.** Differential diagnosis of bluetongue in cattle and sheep. In *Practice*. 2008;30(5):242–251.
11. **Watson P.** Differential diagnosis of oral lesions and FMD in sheep. In *Practice*. 2004;26(4):182–191.
12. **Tuppurainen ESM, Oura CAL.** Review: lumpy skin disease: an emerging threat to Europe, the Middle East and Asia. *Transbound Emerg Dis*. 2012;59(1):40–48.
13. **Rao T.V., Bandyopadhyay S.K.** A comprehensive review of goat pox and sheep pox and their diagnosis. *Anim Health Res Rev*. 2000;1(2):127–136.
14. **Mertens P.P.C.** Bluetongue virus diagnosis. *Bluetongue*. 1st ed. / P.P.C. Mertens, S. Maan, C.A. Batten, K.E. Darpel, A.R. Shaw, N.S. Maan. – London: Elsevier, Academic Press, 2009. — P. 101–125.
15. **S Zientara, E Bréard, C Sailleau.** Bluetongue diagnosis by reverse transcriptase-polymerase chain reaction // *Vet Ital*. – 2004 Oct-Dec;40(4):531-7.
16. **Rojas J.M.** Diagnosing bluetongue virus in domestic ruminants: current perspectives / J.M. Rojas, D. Rodríguez-Martín, V. Martín, N. Sevilla // *Veterinary medicine*. — 2019. — Vol. 10. – P. 17-27. doi: 10.2147/VMRR.S163804
17. **Imadeldin E. Aradaib, Mohamed E.H. Mohamed, Tamadour M. Abdalla, Joesph Sarr, Mohamed A. Abdalla, Mohamed A.M. Yousof, Yahia A. Hassan, Abdel Rahim E. Karrar.** Serogrouping of United States and some African serotypes of bluetongue virus using RT-PCR // *Veterinary Microbiology*. – 2005. Dec 20;111(3-4):145-50. doi: 10.1016/j.vetmic.2005.09.014. Epub 2005 Nov 8.
18. **B T Eaton, J R White.** Developing new orbivirus diagnostic platforms // *Vet Ital*. – 2004 Oct-Dec;40(4):525-530.

БЛУТАНГ ІНДЕТІН ЗЕРТХАНАЛЫҚ ЖАҒДАЙДА БАЛАМАЛАУ ӘДІСТЕРІ

Н.Б. Есимбекова, Б.М. Исмагамбетов, Д.Н. Кайсенов, З.Д. Ершебулов

Бұл шолуда әлемдегі блутанг індетін баламалаудың қазіргі және ықтимал жаңа әдістері туралы ақпарат көрсетілген. Ғылыми жетістіктерге негізделген және зертханалық технологияның жетістіктерімен қамтамасыз етілген инновациялық процедуралар патогенді тікелей немесе жанама әдістермен анықтауға мүмкіндік береді. Ғылыми қауымдастық ғалымдарының блутанг вирусын анықтауға және анықтауға қатысты пікірлері әртүрлі болуы мүмкін: кейбіреулер айтарлықтай уақыт пен стандартты процедураларды қажет ететін дәстүрлі баламалау әдістерін қалайды, ал басқалары жоғары тиімділікті, нәтиженің

жылдамдығын және зертханада қолданудың қарапайымдылығын көрсететін заманауи әдістерді ұсынады. Блутанг індетін баламалау бойынша ғылыми зерттеулердің нәтижелеріне талдау жүргізу әлемдегі заманауи баламалау әдістердің тиімділігін атап өтуге мүмкіндік береді.

METHODS OF LABORATORY DIAGNOSTICS OF BLUETONGUE

N. Yessimbekova, B. Ismagambetov, D. Kaysenov, Z. Yershebulov

This review provides information on current and potential new methods for diagnosing bluetongue in the world. Innovative procedures created on the basis of scientific achievements and implemented thanks to advances in laboratory technologies can make it possible to identify the pathogen by direct or indirect methods. The opinions of scientists in the scientific community regarding the indication and identification of the bluetongue virus may vary: some prefer traditional diagnostic methods that require considerable time and standard procedures, while others offer modern methods that demonstrate high efficiency, speed of taking results and ease of use in laboratory conditions. The analysis of the results of research on the diagnosis of bluetongue allows us to highlight the effectiveness of modern diagnostic methods in the world.

УДК 614.441; 614.449

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ И ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО ВЫСОКОПАТОГЕННОМУ ПТИЧЬЕМУ ГРИППУ В МИРЕ И РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН

**Темирбекова А.Ж., Амирханова Н.Т., Аскаров А.М., Бисенова Г.Н.,
Текебаева Ж.Б., Бекшин Ж.М.**

(ТОО «Республиканская коллекция микроорганизмов»
e-mail: atemirbekova94@gmail.com)

В статье анализируется эпидемиологическая и эпизоотологическая ситуация, связанная с распространением высокопатогенного вируса гриппа птиц в мире и в Республике Казахстан. Отмечается циркуляция разнообразных вариантов вируса, которые имеют значительное эпизоотологическое и эпидемиологическое значение. Вспышки высокопатогенного вируса гриппа птиц зарегистрированы более чем в 65 странах. Также зафиксированы случаи инфицирования людей вирусами подтипов А(Н5Nх) и А(Н9N2). Вспышки среди дикой и домашней птицы были вызваны высокопатогенным штаммом вируса А(Н5N1). Эти данные подчеркивают важность постоянного мониторинга вируса гриппа птиц, особенно в нашей стране, и его глобальное распространение.

Ключевые слова: вирус, грипп птиц, эпидемия, эпизоотия, H5N1.

Грипп птиц (острая инфекционная вирусная болезнь птиц) в настоящее время распространен повсеместно и представляет серьезную угрозу сельскому хозяйству и общественному здравоохранению и занимает особое место в эпидемиологии и эпизоотологии, характеризуется поражением органов пищеварения, дыхания и высокой летальностью около 56% [1, 2].

Вирусы, относящиеся к роду *Influenza virus* таксономического семейства *Orthomyxoviridae*. делятся на родовые типы А, В и С. Вирусы гриппа типа А представляют наибольшую опасность для людей, животных, птицы [3-5]. Болезнь, вызываемая ими, распространяется в виде эпидемии и эпизоотии, а также пандемии и панзоотии. Болезнь проявляется в тяжелой форме с высокой смертностью. Возбудитель гриппа, относящийся к типу В, чаще поражает людей и только в отдельных случаях – животных. Грипп, вызываемый типом С вируса, регистрируется редко и вспышки заболевания характеризуются спорадическими случаями.

Экология и эпидемиология вируса гриппа птиц являются очень сложными процессами, популяция возбудителя этой болезни, которые внутри вида подразделяются на множество серологических подтипов с антигенной формулой H1N1, H5N1, H7N7, H9N2 и другие [6-9].

Вирусы гриппа А подразделяются на 18 подтипов гемагглютинаина и 11 подтипов нейраминидазы ВГА, при этом большинство известных комбинаций сохраняется в популяциях диких птиц, за исключением вирусов гриппа подтипов А(H17N10) и А(H18N11), выделенных от летучих мышей [10, 11]. Основную роль в циркуляции вируса гриппа в природе играют птицы отрядов гусеобразных (*Anseriformes*) и ржанкообразных (*Charadriiformes*) [12-14]. Большинство видов птиц, принадлежащих к этим отрядам, являются дальними мигрантами, способными преодолевать значительные расстояния и это создает предпосылки для глобального распространения данного инфекционного агента [15]. При этом благодаря своим генетическим особенностям вирус гриппа постоянно изменяется, приобретая уникальные мутации, которые способствуют не только его распространению, но и образованию генетических линий и вариантов [16]. Это обусловлено тем, что в процессе эволюции вируса гриппа возникают его новые, высокопатогенные для человека и животных варианты. Циркуляция таких вариантов вируса в популяциях восприимчивых хозяев может вызывать заболевание, часто с летальным исходом.

Подтверждением этому служат масштабные эпизоотии среди сельскохозяйственных животных, наносящие колоссальный экономический ущерб, а также документированные случаи инфицирования человека и домашних животных высокопатогенными вирусами гриппа подтипов H5 и H7, а также вирусами подтипа H9. На сегодняшний день зарегистрировано 868 случаев инфицирования человека вирусом гриппа А(H5N1), 456 из которых имели летальный исход [17]; 83 случая – вирусом гриппа А(H5N6) (33 летальных); 1568 случаев – вирусом гриппа А(H7N9) (615 летальных); 115 случаев – вирусом гриппа А(H9N2), 2 из которых имели летальный исход [18].

Ситуация по вызванному высокопатогенным вирусом гриппу птиц в мире.

В течение последних пяти лет произошло несколько крупных эпизоотий птичьего гриппа, которые охватили страны по всему миру и привели к значительным вспышкам в Азии, Европе и США [17-20].

Вирус H7N9 стал причиной вспышек в Китае, где последняя волна привела к заметному увеличению числа инфекции среди людей и к развитию фенотипа высокой патогенности. Эпизоотия сезона 2021–2022 годов, в рамках которой в 65 странах было зафиксировано более 8 тысяч случаев вируса гриппа птиц, привела к потере около 46 миллионов птиц в 36 странах Европы и более 43 миллионов - в США. Это явилось одной из самых крупных и разрушительных эпизоотий в истории птицеводства (рис. 1) [21].

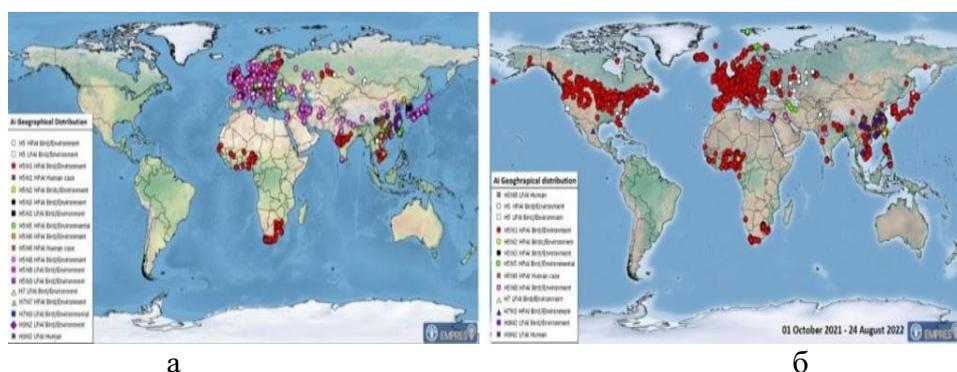


Рисунок 1. Карта глобального распространения вирусов гриппа с 2020 по 2022 гг. а) подтип H5N8, б) подтип H5N1,

<https://pharmindustria.com/projects/poleznye-stati-po-veterinarii/gripp-ptits-novyy-vzglyad-na-proshloe-nastoyashchee-ptizevodstva/>

Согласно данным FAO, в 2020–2021 гг. наибольший удар от вируса гриппа птиц пришелся на Европу (76%) и Азию (20%), с преобладанием подтипа H5N8 (73%). В 2021–2022 гг. заболевание снова преимущественно затронуло Европу (54%) и распространилось на Американский континент (35%), в то время как Азия (8%) и Африка (3%) пострадали в меньшей степени (рис. 2) [20-22].

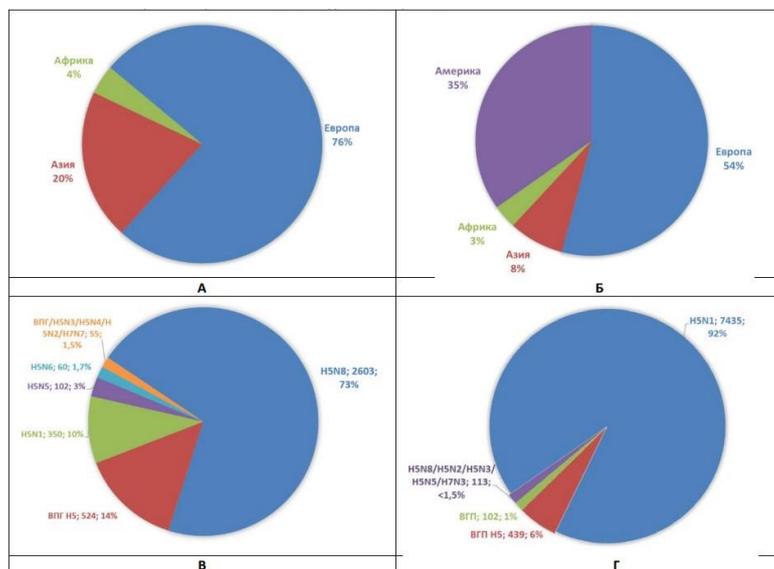


Рисунок 2. Статистика выделения ВГП по регионам Мира (А, Б) и подтипом (В, Г) в 2020-2022 гг.

<https://pharmindustria.com/projects/poleznye-stati-po-veterinarii/gripp-ptits-novyy-vzglyad-na-proshloe-nastoyashchee-ptizevodstva/>

В США ситуация с вирусом гриппа птиц оставалась стабильной. Однако в феврале 2022 года была зарегистрирована первая вспышка H5N1, которая привела к потерям 2,8 миллиона кур и индеек. Вирус был обнаружен в промышленных и частных стадах как минимум в 17 штатах на 45 птицефабриках страны, превысив 20 миллионов птиц, вызвав серьёзные проблемы у североамериканских птицеводов, приведя к утрате более 43 миллионов голов по всей стране [23]. Распространение вируса во многом связано с миграцией диких птиц, поскольку птичий грипп был подтвержден у птиц на всех четырех североамериканских миграционных маршрутах (рис.3).

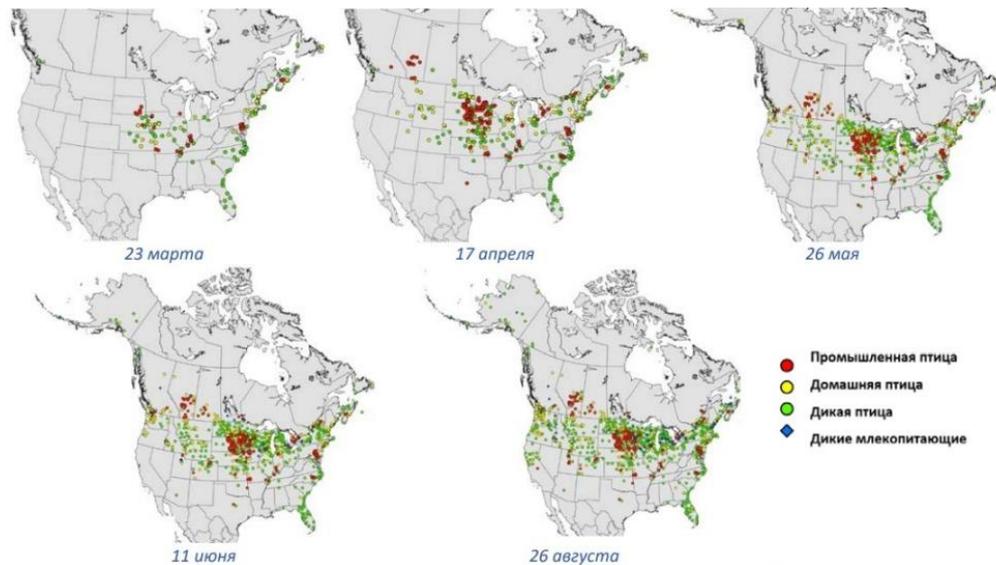


Рисунок 3. Динамика распространения птичьего гриппа H5 и H5N1 в Северной Америке (2022 г.)

<https://pharmindustria.com/projects/poleznye-stati-po-veterinarii/gripp-ptits-novyy-vzglyad-na-proshloe-nastoyashchee-ptizevodstva/>

В 2022 году в Великобритании и Испании был зарегистрирован случай заражения вирусом гриппа А(H5N1) у человека, который произошел после тесного контакта с домашней птицей. Заболевание у инфицированного проявилось в легкой форме и произошло в процессе уничтожения птиц на птицефабрике [17]. В октябре 2022 года также были подтверждены случаи инфицирования вирусом А(H5N1). Зарегистрировано 16 случаев заражения людей вирусами гриппа А(H5N6). Один из случаев, который завершился летальным исходом, был зарегистрирован в Китае, а второй случай был выявлен во Вьетнаме и один – в Камбодже [18, 19].

Вирус H5N1 был зарегистрирован в Индии, Непале, Бангладеш, Восточном Тиморе и Индонезии среди дикой и сельскохозяйственной птицы. Вспышки вируса гриппа А(H5N8) были зафиксированы не только в Албании, Израиле, Сербии, Египте, Ираке, а также в Китае, Вьетнаме, Камбодже и на Филиппинах. Это контрастирует с 2020 годом, когда вирус А(H5N8) был зарегистрирован в более чем 30 странах Азии, Европы и Африки [19-25].

Новый вирус гриппа А(H5N1) продемонстрировал более широкое географическое распространение. Начиная с декабря 2021 года, вспышки среди сельскохозяйственной птицы начали фиксироваться в США и Канаде, а затем и в других странах Северной и Южной Америки [21-24]. В течение всего года вспышки вируса А(H5N1) продолжались, нанеся значительный экономический ущерб. В результате противоэпизоотических мер было уничтожено или погибли миллионы голов сельскохозяйственной птицы, включая кур, уток и индюков; также вирус проявил способность инфицировать множество видов млекопитающих.

Впервые были зафиксированы случаи инфицирования вирусами гриппа А(H5N1) у различных видов водных млекопитающих. В Швеции вирус был обнаружен у морской свинки (*Phocoena phocoena*), в США - у афалины (*Tursiops truncatus*), а в Канаде - у атлантического белобочкого дельфина (*Lagenorhynchus acutus*) [19]. Также в северо-западной части Испании вирус был выявлен у американских норок (*Neovison vison*).

В 2021 году на территории Российской Федерации было выявлено 68 очагов ВГП: 54 среди домашних птиц и 14 в дикой фауне. На 29 августа 2022 года по официальным дан-

ным зарегистрировано 47 случаев ВГП, в том числе: 4 – у дикой птицы, 4 – на птицефабриках и 39 – среди домашней птицы (рис. 4).

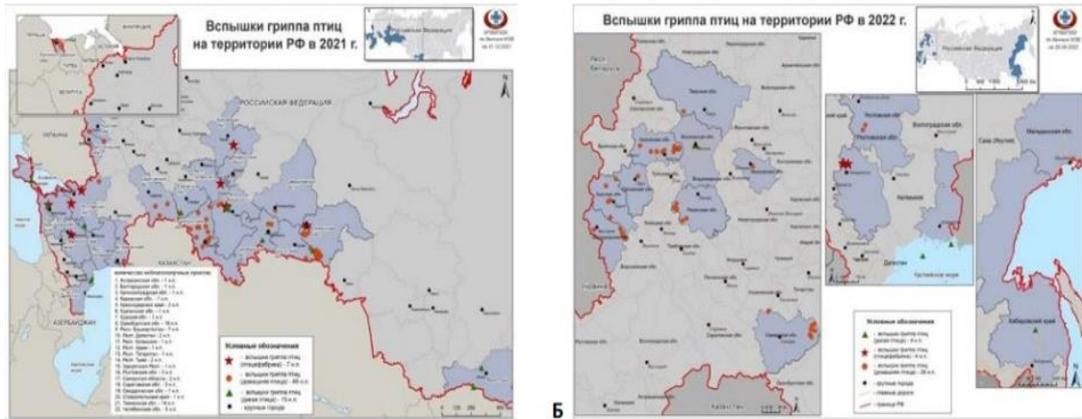


Рисунок 4. Динамика распространения птичьего гриппа в Российской Федерации (2021-22 гг.)

<https://pharmindustria.com/projects/poleznye-stati-po-veterinarii/gripp-ptits-novyy-vzglyad-na-proshloe-nastoyashchee-ptizevodstva/>

В 2022 г. на территории Российской Федерации начали регистрироваться вспышки, вызванные вирусами гриппа птиц. В октябре гибель птиц зарегистрирована в личных подсобных хозяйствах на территории Магаданской и Саратовской областей, а также на птицефабрике в Хабаровском крае. В результате исследований в пробах выявлено и подтверждено наличие РНК вируса гриппа А(Н5N1). В ноябре 2022 г. зарегистрирован падеж среди кур на птицефабрике в Сахалинской области, а также зафиксирована повторная вспышка на территории Саратовской области. По результатам исследований все описанные выше вспышки были вызваны высокопатогенным вирусом гриппа А(Н5N1) [26, 27].

Согласно данным WAHIS (World Animal Health Information System), в 2023 году было зарегистрировано свыше 650 вспышек вируса среди сельскохозяйственной птицы в 29 странах, что привело к гибели или уничтожению около 19 миллионов птиц [28]. Большинство вспышек были первичными и не сопровождалось вторичным распространением. В начале 2023 года на юго-западе Франции произошло 85 вспышек среди уток-мулардов, используемых для производства фуагра,

при этом в 24 хозяйствах наблюдалась повышенная смертность. Во второй половине 2023 года наибольшее количество вспышек среди домашней птицы было зафиксировано в Великобритании. Кроме того, массовая гибель птиц наблюдалась в Бельгии, Дании, Нидерландах, Венгрии, Италии, Ирландии, Испании и других странах [29].

Кроме того, вирус гриппа А(Н5N1) оказал значительное воздействие на другие виды чаек и крачек, что сопровождалось высокой смертностью как среди взрослых, так и среди молодых особей. Было зафиксировано более 16 тысяч случаев обнаружения вируса среди млекопитающих, преимущественно в странах Европы и Северной Америки [30, 31]. Летом 2023 года вирус А(Н5N1) был обнаружен на 26 зверофермах Финляндии. Среди диких животных большинство случаев заражения приходилось на обыкновенных лисиц (*Vulpes vulpes*) и песцов (*Vulpes lagopus*), гибель которых была зарегистрирована в Канаде, США, Бельгии, Финляндии, Нидерландах, Норвегии, Франции, Германии, Латвии, Словении и Ирландии. Также в Польше, США и Южной Корее были зарегистрированы случаи заболевания гриппом А(Н5N1) у домашних кошек [32-34].

В 2023 году случаи заражения вирусом А(Н5N1) у людей были зафиксированы в Камбодже (6 случаев), Чили (1 случай), Китае (1 случай) и Великобритании (4 случая) [35, 36]. В России наблюдается широкое распространение вируса на частных подворьях в Камчатском и Ставропольском краях, а также в Белгородской области. Во втором кварта-

ле были зарегистрированы вспышки среди дикой и домашней птицы в Амурской, Астраханской, Владимирской, Ивановской, Калининградской, Кировской, Магаданской, Тверской, Смоленской, Нижегородской и Ярославской областях [27].

В таблице 1 отражена заболеваемость птичьим гриппом в странах мира за первое полугодие 2024 год, а именно случаи заражения человека вирусом гриппа А (H5N2), зарегистрированные в мире (таблица 1) [25-46].

Таблица 1
Заболеваемость людей птичьим гриппом птиц в странах мира за первое полугодие 2024 год

Страна	Количество	Тип	Источник	Исход
Камбоджа	4	A(H5N1)	домашние птицы	-
США	3	A(H5N1)	коровы	-
Вьетнам	1	A(H5N1)	дикие птицы	умер
Австралия	1	A(H5N1)	не установлен	-
Китай	1	A(H10N5)	домашние птицы	умер
Вьетнам	1	A(H9N2)	не установлен	-
Мексика	1	A(H5N2)	не установлен	умер

Ситуация по вызванному высокопатогенным вирусом гриппа птиц в Казахстане.

В 2020 году в нашей стране было зарегистрировано 98 случаев высокопатогенного гриппа птиц. В результате вспышек, ветеринарной службой нашей страны в Алматинской, Акмолинской, Северо-Казахстанской, Костанайской, Павлодарской, Карагандинской областях было вынуждено убито более 1,5 млн птиц. В 2021 году среди домашней птицы было зарегистрировано 6 очагов вспышек этой болезни. Лабораторно выделен штамм – АН5N1 в Северо-Казахстанской, Акмолинской и Павлодарской областях. В результате вспышки заболело с последующим летальным исходом 21 голов птиц [47-52].

В декабре 2023 года - январе 2024 года, высокопатогенный грипп птиц А(H5N1) стал причиной заболевания и массовой гибели лебедей на побережье Каспийского моря (озеро Караколь) в городе Актау Мангистауской области. Всего за два месяца (декабрь 2023 – январь 2024 года) от птичьего гриппа погибло 1018 лебедей [53-59].

По факту массовой гибели птицы специалистами заповедника, областной территориальной инспекции лесного хозяйства и животного мира, совместно с сотрудниками Министерства экологии и природных ресурсов, Национального центра по ветеринарии Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан были отобраны пробы для проведения лабораторных исследований. По результатам проведенных исследований забранного материала у погибших птиц обнаружен вирус высокопатогенного птичьего гриппа А(H5N1).

В результате принятых профилактических, противоэпидемических и противоэпизоотических мероприятий не было допущено дальнейшего распространения инфекций (вируса А(H5N1) от больных птиц и туш погибшей птицы к человеку. Отметим, что в целом на территории Казахстана в 2022 году было запланировано проведение вакцинации 14 930 180 голов домашних птиц против ВГП. За 12 месяцев было вакцинировано 14 764 980 голов (99% от годового плана). Среди домашних птиц признаков болезни не наблюдалось.

Как показывает анализ, ситуация по заболеваемости населения птичьим гриппом в 2024 году остается сложной. Только за пять месяцев текущего года зарегистрировано 9

случаев заражения людей вирусом птичьего гриппа А(Н5N1) в трех странах мира, при этом летальность составила 22,2%.

Вместе с тем, имеющиеся в настоящее время эпидемиологические и вирусологические данные позволяют предполагать, что вирусы А(Н5N1) не приобрели способности к устойчивой передаче среди людей, поэтому вероятность их распространения от человека к человеку невелика. Таким образом выявленные случаи заражения людей вирусом птичьего гриппа А(Н5N1) в Камбодже, США и Австралии на данный момент не низкий[60].

Риск международного распространения инфекций, связанных, с заражением людей вирусами птичьего гриппа А(Н10N5), А(Н9N2), А(Н5N2) остается также на низком уровне. По мере поступления дополнительной вирусологической и эпидемиологической информации, данная оценка риска будет корректироваться ВОЗ.

Всемирная организация здравоохранения советует проходить вакцинацию от гриппа ежегодно, так как это самый эффективный способ защиты от болезни. Также необходимы дополнительные исследования по взаимодействию диких резервуаров птичьего гриппа с домашними птицами.

Межвидовая и особенно зоонозная передача птичьего гриппа представляет собой серьёзную проблему, и прогнозирование зоонозного риска распространения штаммов остаётся сложным. Важно собирать и анализировать информацию о текущих и ранее зарегистрированных вариантах вируса, чтобы спрогнозировать эпидемиологическую и эпизоотологическую ситуацию и оценить возможные пути распространения высокопатогенных штаммов вируса.

Работа выполнена в рамках научно-технической программы BR218004/0223 «Совершенствование мер обеспечения биологической безопасности в Казахстане: противодействие опасным и особо опасным инфекциям», финансируемой Министерством науки и высшего образования РК 2023-2025.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Sreenivasan C.C., Thomas M., Kaushik R.S.** et al. Influenza A in bovine species: a narrative literature review // *Viruses*. 2019; 11(6):561. DOI: 10.3390/v11060561
2. **Osterhaus A.D., Rimmelzwaan G.F., Martina B.E.** et al. Influenza B virus in seals // *Science*. 2000; 288(5468):1051–3. DOI: 10.1126/science.288.5468.1051.
3. **Harder T.C. and Vahlenkamp T.W.** Influenza virus infections in dogs and cats // *Veterinary Immunology and Immunopathology*. – 2010. – P. 54–60.
4. **He S., Shi J., Qi X.** et al. Lethal infection by a novel reassortant H5N1 avian influenza A virus in a zoo-housed tiger // *Microbes and Infection*. – 2015. – P. 54–61.
5. **Gutierrez R.A., Sorn S., Nicholls J.M.** et al. Eurasian Tree Sparrows, risk for H5N1 virus spread and human contamination through Buddhist ritual: an experimental approach // *PLoS One*. – 2011. – 6:e28609.
6. **Dharmayanti N.L., Hartawan R., Wibawa H.** et al. Genetic characterization of clade 2.3.2.1 avian influenza A(H5N1) viruses, Indonesia, 2012 // *Emerging Infectious Diseases*. – 2014. – P. 671–674.
7. **Lee D.H., Criado M.F., & Swayne D.E.** Pathobiological Origins and Evolutionary History of Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses // *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. – 2020. doi:10.1101/cshperspect.a038679. – Feb 1;11(2).
8. **Donis R. O. and G. J. Smith.** Nomenclature updates resulting from the evolution of avian influenza A(H5) virus clades 2.1.3.2a, 2.2.1, and 2.3.4 during 2013–2014 // *Influenza and Other Respiratory Viruses*. – 2014. – P. 271–276.
9. **Zhou X, Gao L, Wang Y.** et al. Geographical variation in the risk of H7N9 human infections in China: implications for risk-based surveillance // *Sci Rep*. – 2020. – Jun 25;10(1):10372. doi: 10.1038/s41598-020-66359-1.

10. **Recuenco S., Ellison J.A., Davis C.T.** et al. A distinct lineage of influenza A virus from bats // *Proc. Natl Acad. Sci. USA.* – 2012; 109(11):4269–74. DOI: 10.1073/pnas.1116200109.
11. **Tong S., Zhu X., Li Y.** et al. New world bats harbor diverse influenza A viruses // *PLoS Pathog.* – 2013; 9(10):e1003657. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003657.
12. **Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T.** et al. Evolution and ecology of influenza A viruses // *Microbiol. Rev.* – 1992; 56(1):152–79. DOI: 10.1128/mr.56.1.152-179.1992.
13. **Olsen B., Munster V.J., Wallensten A.** et al. Global patterns of influenza a virus in wild birds // *Science.* – 2006; 312(5772):384–8. DOI: 10.1126/science.1122438.
14. **Alexander D.J.** A review of avian influenza in different bird species // *Vet. Microbiol.* – 2000; 74(1-2):3–13. DOI: 10.1016/s0378- 1135(00)00160-7.
15. **Yoon S.W., Webby R.J., Webster R.G.** Evolution and ecology of influenza A viruses // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* – 2014; 385:359–75. DOI: 10.1007/82_2014_396.
16. WHO/OIE/FAO H5N1 Evolution Working Group. Toward a unified nomenclature system for highly pathogenic avian influenza virus (H5N1) // *Emerg. Infect. Dis.* – 2008; 14(7):e1. DOI: 10.3201/ eid1407.071681.
17. European Food Safety Authority; European Centre for Disease Prevention and Control; European Union Reference Laboratory for Avian Influenza; Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J.L., Kuiken T., Marangon S., Niqueux É., Staubach C., Terregino C., Guajardo I.M., Chuzhakina K., Baldinelli F. Avian influenza overview June – September 2022. // *EFSA J.* – 2022; 20(10):e07597. DOI: 10.2903/j.efsa.2022.7597.
18. **Oliver I., Roberts J., Brown C.S.** et al. A case of avian influenza A(H5N1) in England, January 2022. // *Euro Surveill.* – 2022; 27(5):2200061. DOI: 10.2807/1560-7917. ES.2022.27.5.2200061.
19. World Health Organization. Cumulative number of confirmed human cases for avian influenza A(H5N1) reported to WHO, 2003–2023, 5 January 2023. (Cited 28 Feb 2023). [https://www.who.int/publications/m/item/cumulative-numberof-confirmed-human-cases-for-avian-influenza-a\(h5n1\)-reported-towho-2003-2022-5-jan-2023](https://www.who.int/publications/m/item/cumulative-numberof-confirmed-human-cases-for-avian-influenza-a(h5n1)-reported-towho-2003-2022-5-jan-2023).
20. World Health Organization. Avian Influenza Weekly Update Number 883. (Cited 28 Feb 2023). [https:// www.who.int/docs/default-source/wpro---documents/emergency/ surveillance/avian-influenza/ai_20230217.pdf?sfvrsn](https://www.who.int/docs/default-source/wpro---documents/emergency/ surveillance/avian-influenza/ai_20230217.pdf?sfvrsn)
21. World Health Organization. WHO’s Health Emergencies Programme: acute emergencies monthly summary – May 2023. *Wkly Epidemiol Rec.* 2023 Jun 30;26:281–2.
22. World Health Organization. WHO’s Health Emergencies Programme: acute emergencies monthly summary – November 2023. *Wkly Epidemiol Rec.* 2023 Dec 15;50.
23. **Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J.L.** et al. Avian influenza overview September – December 2022. *EFSA J.* 2023; 21(1):e07786. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.7786.
24. World Health Organization (WHO). Antigenic and genetic characteristics of zoonotic influenza A viruses and development of candidate vaccine viruses for pandemic preparedness. September 2022. (Cited 28 Feb 2023). [https:// cdn.who.int/media/docs/default-source/influenza/who-influenzarecommendations/vcm-southern-hemisphere](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/influenza/who-influenzarecommendations/vcm-southern-hemisphere)
25. Centers for Disease Control and Prevention. U.S. Case of Human Avian Influenza A(H5) Virus Reported. (Cited 28 Feb 2023). <https://www.cdc.gov/media/releases/2022/ s0428-avian-flu.html>.
26. **Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J.L.** et al. Avian influenza overview December 2021 – March 2022. *EFSA J.* 2022; 20(4):e07289. DOI: 10.2903/j.efsa.2022.7289.
27. **Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J.L.** et al. Avian influenza overview March – June 2022. *EFSA J.* 2022; 20(8):e07415. DOI: 10.2903/j.

28. **В.Ю. Марченко, С.В. Святченко, Г.С. Онхонова** и др. Обзор эпизоотологической ситуации по высокопатогенному гриппу птиц в России и мире в 2022 г. // Проблемы особо опасных инфекций. – 2023; 1. – С. 48-52. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-48-55
29. **Н.Н. Васильцова, А.С. Панова, В.Н. Петров** и др. Обзор эпизоотологической ситуации по высокопатогенному гриппу птиц в России и мире в 2023 г. // Problemy Osobo Opasnykh Infektsii [Problems of Particularly Dangerous Infections]. – 2024; 2. – С. 6-10. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-6-14
30. World Health Organization. Avian Influenza A (H5N1) – Spain. <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON420> (Cited 28 Feb 2023).
31. World Health Organization (WHO). Genetic and antigenic characteristics of zoonotic influenza A viruses and development of candidate vaccine viruses for pandemic preparedness. February 2023. (Cited 28 Feb 2023). <https://cdn.who.int/media/docs/default-source/influenza/who-influenzarecommendations/vcm-northern-hemisphere->
32. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control, European Union Reference Laboratory for Avian Influenza; Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J.L., Kuiken T., Mirinaviciute G., Niqueux É., Stahl K., Staubach C., Terregino C., Broglia A., Kohnle L., Baldinelli F. Avian influenza overview March-April 2023. // EFSA J. – 2023; 21(6):e08039. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.8039.
33. **Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J.L.** et al. Avian influenza overview April-June 2023. EFSA J. 2023; 21(7):e08191. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.8191.
34. **Rabalski L., Milewska A., Pohlmann A.** et al. Emergence and potential transmission route of avian influenza A (H5N1) virus in domestic cats in Poland, June 2023. Euro Surveill. 2023; 28(31):2300390. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2023.28.31.2300390.
35. **Sillman S.J., Drozd M., Loy D.** et al. Naturally occurring highly pathogenic avian influenza virus H5N1 clade 2.3.4.4b infection in three domestic cats in North America during 2023. J. Comp. Pathol. 2023; 205:17–23. DOI: 10.1016/j.jcpa.2023.07.001.
36. **Lee K., Yeom M., Vu T.T.H.** et al. Characterization of highly pathogenic avian influenza A (H5N1) viruses isolated from cats in South Korea, 2023. Emerg. Microbes Infect. 2024; 13(1):2290835. DOI: 10.1080/22221751.2023.2290835.
37. WAHIS. Quantitative data dashboard. (Cited 25 Jan 2024). <https://wahis.woah.org/#/dashboards/qddashboard>.
38. MedRxiv. Knowledge, attitudes, and practices related to avian influenza (h5n1) after the outbreak in Rural, Cambodia. [Internet]. Available from: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2023.09.25.23296059v1> (Cited 25 Jan 2024).
39. **Lee K., Yeom M., Vu T.T.H.** et al. Characterization of highly pathogenic avian influenza A (H5N1) viruses isolated from cats in South Korea, 2023. Emerg. Microbes Infect. 2024; 13(1):2290835. DOI: 10.1080/22221751.2023.2290835.
40. WHO. Avian Influenza Weekly Update. Number 929. Human infection with avian influenza A(H5) viruses. (Cited 25 Jan 2024). https://cdn.who.int/media/docs/default-source/wpro---documents/emergency/surveillance/avianinfluenza/ai_
41. MedRxiv. Knowledge, attitudes, and practices related to avian influenza (h5n1) after the outbreak in Rural, Cambodia. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2023.09.25.23296059v1> (Cited 25 Jan 2024).
42. WHO. Human infection caused by Avian Influenza A (H5) – Chile. (Cited 25 Jan 2024). <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON453>.
43. **Jin K., Dai Z., Shi P.** et al. Severe pneumonia with coinfection of H5N1 and SARS-CoV-2: a case report. BMC Infect. Dis. 2024; 24(1):31. DOI: 10.1186/s12879-023-08901-w.
44. GOV.UK. UKHSA update on avian influenza. (Cited 25 Jan 2024). <https://www.gov.uk/government/news/ukhsa-update-on-avian-influenza>.

45. WHO. Avian Influenza Weekly Update. Number 931. Human infection with avian influenza A(H5) viruses. (Cited 25 Jan 2024). https://cdn.who.int/media/docs/default-source/wpro---documents/emergency/surveillance/avianinfluenza/ai_
46. ECDC. Weekly bulletin. Communicable disease threats report. (Cited 25 Jan 2024). <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/communicable-disease-threats-report-week-1-2024.pdf>.
47. ECDC. Weekly bulletin. Communicable disease threats report. (Cited 09 Feb 2024). <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/communicable-disease-threats-report-week-5-2024.pdf>.
48. The Government of the Hong Kong Special Administrative Region. Press Releases. CHP closely monitors human case co-infected with avian influenza A(H10N5) and influenza A(H3N2) on Mainland. (Cited 09 Feb 2024). <https://www.info.gov.hk/gia/general/202401/31/P2024013100657.htm>.
49. **Sultankulova K., Orynbayev M., Kozhabergenov N.** et al. Complete Coding Genome Sequence of an Avian Influenza A/H3N8 Virus Strain Detected in North Kazakhstan in 2018 // *Microbiol Resour Announc.* – 2020. – Jul 16;9(29):e00441-20. doi: 10.1128/MRA.00441-20.
50. **Chervyakova O.V., Stochkov V.M., Sultankulova K.T.** et al. Molecular and genetic analysis of NS gene from high pathogenic strains of the avian influenza (H5N1) virus isolated in Kazakhstan // *Gene.* – 2011. – May 1;476(1-2):15-9. doi: 10.1016/j.gene.2011.02.003.
51. Птичий грипп в Казахстане: причины, компенсации и меры по распространению, 2020. <https://strategy2050.kz/ru/news/ptichiy-gripp-v-kazakhstane-prichiny-kompensatsii-i-mery-ponerasprostraneniyu/>
52. **Burashev Y., Stochkov V., Sultankulova K.** et al. Near-complete genome sequence of an H5N1 avian influenza virus strain isolated from a swan in Southwest Kazakhstan in 2006 // *Microbiol Resour Announc.* – 2020. – 9(13) e00016-20.
53. **Issabek A., Burashev Y., Chervyakova O.** et al. Complete genome sequence of the highly pathogenic strain A/domestic goose/ Pavlodar/1/05 (H5N1) of the avian influenza virus, isolated in Kazakhstan in 2005 // *Microbiol Resour Announc.* – 2020. – 9(10):e00109-20.
54. **Бопп А.К., Омарова З.Д., Рыстаева Р.А.** и др. Мониторинг высокопатогенного гриппа птиц в казахстане. биобезопасность и биотехнология. – 2020. – С. 24-26. doi: 10.58318/2957-5702-2022-9-24-30
55. Мониторинг и анализ эпидемиологической ситуации по туберкулезу в Республике Казахстан за 2024 год. НЦОЗ (Национальный центр общественного здравоохранения Министерства здравоохранения Республики Казахстан). Отчет (январь-май 2024 года) [Электронный ресурс]. - URL: <https://rk-neph.kz/>.
56. Всемирная организация здравоохранения. <https://www.who.int/ru/>;
57. Американский центр контроля заболеваемости. <https://www.cdc.gov/>
58. World Organisation for Animal Health. bulletin@woah.org
59. Weekly epidemiological record (Еженедельный эпидемиологический отчет) 24 MAY 2024, 99th YEAR / 24 MAI 2024, 99^eANNÉE No 21, 2024, 99, 271–284. <http://www.who.int/wer>
60. Официальные и статистические данные Министерства сельского хозяйства РК. www.gov.kz/memleket/entities/moa?lang=ru

LITERATURE

1. **Sreenivasan C.C., Thomas M., Kaushik R.S.** et al. Influenza A in bovine species: a narrative literature review. *Viruses.* 2019; 11(6):561. DOI: 10.3390/v11060561
2. **Osterhaus A.D., Rimmelzwaan G.F., Martina B.E.** et al. Influenza B virus in seals. *Science.* 2000; 288(5468):1051–3. DOI: 10.1126/science.288.5468.1051.

3. **Harder T.C. and Vahlenkamp T.W.** Influenza virus infections in dogs and cats // *Veterinary Immunology and Immunopathology*. – 2010. – P. 54–60.
4. **He S., Shi J., Qi X.** et al. Lethal infection by a novel reassortant H5N1 avian influenza A virus in a zoo-housed tiger // *Microbes and Infection*. – 2015. – P. 54–61.
5. **Gutierrez R.A., Sorn S., Nicholls J.M.** et al. Eurasian Tree Sparrows, risk for H5N1 virus spread and human contamination through Buddhist ritual: an experimental approach // *PLoS One*. – 2011. – 6:e28609.
6. **Dharmayanti N.L., Hartawan R., Wibawa H.** et al. Genetic characterization of clade 2.3.2.1 avian influenza A(H5N1) viruses, Indonesia, 2012 // *Emerging Infectious Diseases*. – 2014. – P. 671–674.
7. **Lee D.H., Criado M.F., & Swayne D.E.** Pathobiological Origins and Evolutionary History of Highly Pathogenic Avian Influenza Viruses // *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*. 2020. doi:10.1101/cshperspect.a038679. – Feb 1;11(2).
8. **Donis R. O. and G. J. Smith** Nomenclature updates resulting from the evolution of avian influenza A(H5) virus clades 2.1.3.2a, 2.2.1, and 2.3.4 during 2013–2014 // *Influenza and Other Respiratory Viruses*. – 2014. – P. 271–276.
9. **Zhou X, Gao L, Wang Y.** et al. Geographical variation in the risk of H7N9 human infections in China: implications for risk-based surveillance // *Sci Rep*. – 2020. – Jun 25;10(1):10372. doi: 10.1038/s41598-020-66359-1.
10. **Recuenca S., Ellison J.A., Davis C.T.** et al. A distinct lineage of influenza A virus from bats. *Proc. Natl Acad. Sci. USA*. 2012; 109(11):4269–74. DOI: 10.1073/pnas.1116200109.
11. **Tong S., Zhu X., Li Y.** et al. New world bats harbor diverse influenza A viruses. *PLoS Pathog*. 2013; 9(10):e1003657. DOI: 10.1371/journal.ppat.1003657.
12. **Webster R.G., Bean W.J., Gorman O.T.** et al. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol. Rev*. 1992; 56(1):152–79. DOI: 10.1128/mr.56.1.152-179.1992.
13. **Olsen B., Munster V.J., Wallensten A.** et al. Global patterns of influenza a virus in wild birds. *Science*. 2006; 312(5772):384–8. DOI: 10.1126/science.1122438.
14. **Alexander D.J.** A review of avian influenza in different bird species. *Vet. Microbiol*. 2000; 74(1-2):3–13. DOI: 10.1016/s0378- 1135(00)00160-7.
15. **Yoon S.W., Webby R.J., Webster R.G.** Evolution and ecology of influenza A viruses. *Curr. Top. Microbiol. Immunol*. 2014; 385:359–75. DOI: 10.1007/82_2014_396.
16. WHO/OIE/FAO H5N1 Evolution Working Group. Toward a unified nomenclature system for highly pathogenic avian influenza virus (H5N1). *Emerg. Infect. Dis*. 2008; 14(7):e1. DOI: 10.3201/eid1407.071681.
17. European Food Safety Authority; European Centre for Disease Prevention and Control; European Union Reference Laboratory for Avian Influenza; Adlhoch C., Fusaro A., Gonzalez J.L., Kuiken T., Marangon S., Niqueux É., Staubach C., Terregino C., Guajardo I.M., Chuzhakina K., Baldinelli F. Avian influenza overview June – September 2022. *EFSA J*. 2022; 20(10):e07597. DOI: 10.2903/j.efsa.2022.7597.
18. **Oliver I., Roberts J., Brown C.S.** et al. A case of avian influenza A(H5N1) in England, January 2022. *Euro Surveill*. 2022; 27(5):2200061. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2022.27.5.2200061.
19. World Health Organization. Cumulative number of confirmed human cases for avian influenza A(H5N1) reported to WHO, 2003–2023, 5 January 2023. (Cited 28 Feb 2023). [https://www.who.int/publications/m/item/cumulative-number-of-confirmed-human-cases-for-avian-influenza-a\(h5n1\)-reported-to-who-2003-2022-5-jan-2023](https://www.who.int/publications/m/item/cumulative-number-of-confirmed-human-cases-for-avian-influenza-a(h5n1)-reported-to-who-2003-2022-5-jan-2023).
20. World Health Organization. Avian Influenza Weekly Update Number 883. (Cited 28 Feb 2023). https://www.who.int/docs/default-source/wpro---documents/emergency/surveillance/avian-influenza/ai_20230217.pdf?sfvrsn
21. World Health Organization. WHO’s Health Emergencies Programme: acute emergencies monthly summary – May 2023. *Wkly Epidemiol Rec*. 2023 Jun 30;26:281–2.

22. World Health Organization. WHO's Health Emergencies Programme: acute emergencies monthly summary – November 2023. *Wkly Epidemiol Rec.* 2023 Dec 15;50.
23. **Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J.L.** et al. Avian influenza overview September – December 2022. *EFSA J.* 2023; 21(1):e07786. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.7786.
24. World Health Organization (WHO). Antigenic and genetic characteristics of zoonotic influenza A viruses and development of candidate vaccine viruses for pandemic preparedness. September 2022. (Cited 28 Feb 2023). <https://cdn.who.int/media/docs/default-source/influenza/who-influenzarecommendations/vcm-southern-hemisphere>
25. Centers for Disease Control and Prevention. U.S. Case of Human Avian Influenza A(H5) Virus Reported. (Cited 28 Feb 2023). <https://www.cdc.gov/media/releases/2022/s0428-avian-flu.html>.
26. **Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J.L.** et al. Avian influenza overview December 2021 – March 2022. *EFSA J.* 2022; 20(4):e07289. DOI: 10.2903/j.efsa.2022.7289.
27. Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J.L. et al. Avian influenza overview March – June 2022. *EFSA J.* 2022; 20(8):e07415. DOI: 10.2903/j.
28. **V.YU. Marchenko, S.V. Svyatchenko, G.S. Onkhonova** i dr. Obzor epizootologicheskoy situatsii po vysokopatogennomu grippu ptits v Rossii i mire v 2022 g. *Problemy osobo znacheniya.* 2023 god; 1. – S. 48-52. DOI: 10.21055/0370-1069-2023-1-48-55
29. **N.N. Vasil'tsova, A.S. Panova, V.N. Petrov** i dr. Obzor epizootologicheskoy situatsii po vysokopatogennomu grippu ptits v Rossii i mire v 2023 g. *Problemy osobo opasnykh infektsiy.* 2024 god; 2. – S. 6-10. DOI: 10.21055/0370-1069-2024-2-6-14.
30. World Health Organization. Avian Influenza A (H5N1) – Spain. <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON420> (Cited 28 Feb 2023).
31. World Health Organization (WHO). Genetic and antigenic characteristics of zoonotic influenza A viruses and development of candidate vaccine viruses for pandemic preparedness. February 2023. (Cited 28 Feb 2023). <https://cdn.who.int/media/docs/default-source/influenza/who-influenzarecommendations/vcm-northern-hemisphere>
32. European Food Safety Authority, European Centre for Disease Prevention and Control, European Union Reference Laboratory for Avian Influenza; Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J.L., Kuiken T., Mirinaviciute G., Niqueux É., Stahl K., Staubach C., Terregino C., Broglia A., Kohnle L., Baldinelli F. Avian influenza overview March-April 2023. *EFSA J.* 2023; 21(6):e08039. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.8039.
33. **Adlhoch C., Fusaro A., Gonzales J.L.** et al. Avian influenza overview April-June 2023. *EFSA J.* 2023; 21(7):e08191. DOI: 10.2903/j.efsa.2023.8191.
34. **Rabalski L., Milewska A., Pohlmann A.** et al. Emergence and potential transmission route of avian influenza A (H5N1) virus in domestic cats in Poland, June 2023. *Euro Surveill.* 2023; 28(31):2300390. DOI: 10.2807/1560-7917.ES.2023.28.31.2300390.
35. **Sillman S.J., Drozd M., Loy D.** et al. Naturally occurring highly pathogenic avian influenza virus H5N1 clade 2.3.4.4b infection in three domestic cats in North America during 2023. *J. Comp. Pathol.* 2023; 205:17–23. DOI: 10.1016/j.jcpa.2023.07.001.
36. **Lee K., Yeom M., Vu T.T.H.** et al. Characterization of highly pathogenic avian influenza A (H5N1) viruses isolated from cats in South Korea, 2023. *Emerg. Microbes Infect.* 2024; 13(1):2290835. DOI: 10.1080/22221751.2023.2290835.
37. WAHIS. Quantitative data dashboard. (Cited 25 Jan 2024). <https://wahis.woah.org/#/dashboards/qddashboard>.
38. MedRxiv. Knowledge, attitudes, and practices related to avian influenza (h5n1) after the outbreak in Rural, Cambodia. [Internet]. Available from: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2023.09.25.23296059v1> (Cited 25 Jan 2024).

39. **Lee K., Yeom M., Vu T.T.H.** et al. Characterization of highly pathogenic avian influenza A (H5N1) viruses isolated from cats in South Korea, 2023. *Emerg. Microbes Infect.* 2024; 13(1):2290835. DOI: 10.1080/22221751.2023.2290835.
40. WHO. Avian Influenza Weekly Update. Number 929. Human infection with avian influenza A(H5) viruses. (Cited 25 Jan 2024). https://cdn.who.int/media/docs/default-source/wpro---documents/emergency/surveillance/avianinfluenza/ai_
41. MedRxiv. Knowledge, attitudes, and practices related to avian influenza (h5n1) after the outbreak in Rural, Cambodia. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2023.09.25.23296059v1> (Cited 25 Jan 2024).
42. WHO. Human infection caused by Avian Influenza A (H5) – Chile. (Cited 25 Jan 2024). <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON453>.
43. **Jin K., Dai Z., Shi P.** et al. Severe pneumonia with coinfection of H5N1 and SARS-CoV-2: a case report. *BMC Infect. Dis.* 2024; 24(1):31. DOI: 10.1186/s12879-023-08901-w.
44. GOV.UK. UKHSA update on avian influenza. (Cited 25 Jan 2024). <https://www.gov.uk/government/news/ukhsa-update-on-avian-influenza>.
45. WHO. Avian Influenza Weekly Update. Number 931. Human infection with avian influenza A(H5) viruses. (Cited 25 Jan 2024). https://cdn.who.int/media/docs/default-source/wpro---documents/emergency/surveillance/avianinfluenza/ai_
46. ECDC. Weekly bulletin. Communicable disease threats report. (Cited 25 Jan 2024). <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/communicable-disease-threats-report-week-1-2024.pdf>.
47. ECDC. Weekly bulletin. Communicable disease threats report. (Cited 09 Feb 2024). <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/communicable-disease-threats-report-week-5-2024.pdf>.
48. The Government of the Hong Kong Special Administrative Region. Press Releases. CHP closely monitors human case co-infected with avian influenza A(H10N5) and influenza A(H3N2) on Mainland. (Cited 09 Feb 2024). <https://www.info.gov.hk/gia/general/202401/31/P2024013100657.htm>.
49. **Sultankulova K., Orynbayev M., Kozhabergenov N.** et al. Complete Coding Genome Sequence of an Avian Influenza A/H3N8 Virus Strain Detected in North Kazakhstan in 2018 // *Microbiol Resour Announc.* – 2020. – Jul 16;9(29):e00441-20. doi: 10.1128/MRA.00441-20.
50. **Chervyakova O.V., Strochkov V.M., Sultankulova K.T.** et al. Molecular and genetic analysis of NS gene from high pathogenic strains of the avian influenza (H5N1) virus isolated in Kazakhstan // *Gene.* – 2011. – May 1;476(1-2):15-9. doi: 10.1016/j.gene.2011.02.003.
51. Ptichiy gripp v Kazakhstane: tendentsii, mery i mery po rasprostraneniyu, 2020. <https://strategy2050.kz/ru/news/ptichiy-gripp-v-kazakhstane-prichiny-kompensatsii-i-mery-ponerasprostraneniyu/>
52. **Burashev Y., Strochkov V., Sultankulova K.** dr. Near-complete genome sequence of an H5N1 avian influenza virus strain isolated from a swan in Southwest Kazakhstan in 2006 // *Microbiol Resour Announc.* – 2020. – 9(13) e00016-20.
53. **Issabek A., Burashev Y., Chervyakova O.** et al. Complete genome sequence of the highly pathogenic strain A/domestic goose/ Pavlodar/1/05 (H5N1) of the avian influenza virus, isolated in Kazakhstan in 2005 // *Microbiol Resour Announc.* – 2020. – 9(10):e00109-20.
54. **Bopi A.K., Omarova Z.D., Rystayeva R.A.** i dr. Monitoring vysokopatogenного grippa ptits v Kazakhstane. – 2020. – С. 24-26. doi: 10.58318/2957-5702-2022-9-24-30
55. Monitoring i analiz epidemiologicheskoy situatsii po tuberkulezu v Respublike Kazakhstan na 2024 god. NTSOZ (Natsional'nyy tsentr obshchestvennogo zdravookhraneniya Ministerstva zdravookhraneniya Respubliki Kazakhstan). Otchet (yanvar'-may 2024 goda) [Elektronnyy resurs] - URL: <https://rk-ncph.kz/>.
56. Vsemirnaya organizatsiya zdravookhraneniya <https://www.who.int/ru/>;
57. Amerikanskiy tsentr kontrolya zabolevayemosti. <https://www.cdc.gov/>

58. World Organisation for Animal Health. bulletin@woah.org

59. Weekly epidemiological record (Еженедельный эпидемиологический отчет) 24 MAY 2024, 99th YEAR / 24 MAI 2024, 99^e ANNÉE No 21, 2024, 99, 271–284. <http://www.who.int/wer>

60. Ofitsial'nyye i statisticheskiye dannyye Ministerstva sel'skogo khozyaystva RK. www.gov.kz/memleket/entities/moa?lang=ru

ӘЛЕМДЕГІ ЖӘНЕ ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНДАҒЫ
ЖОҒАРЫ ПАТОГЕНДІ ҚҰС ТҰМАУЫ ЭПИДЕМИОЛОГИЯЛЫҚ
ЖӘНЕ ЭПИЗООТОЛОГИЯЛЫҚ ЖАҒДАЙЫ

**Темирбекова А.Ж., Амирханова Н.Т., Аскарлов А.М., Бисенова Г.Н.,
Текебаева Ж.Б., Бекшин Ж.М.**

Мақалада әлемде және Қазақстан Республикасында құс тұмауының жоғары патогенді вирусының таралуына байланысты эпидемиологиялық және эпизоотологиялық жағдай талданады. Эпизоотологиялық және эпидемиологиялық маңызы бар вирустың әртүрлі нұсқаларының айналымы байқалады. Құс тұмауының жоғары патогенді вирусының өршуі 65-тен астам елде тіркелген. Сондай-ақ, А(Н5Nх) және А(Н9N2) кіші типті вирустармен адамдарды жұқтыру жағдайлары тіркелді. Жабайы және үй құстарының өршуіне А вирусының (Н5N1) жоғары патогенді штаммы себеп болды. Бұл деректер құс тұмауы вирусын, әсіресе біздің елде және оның жаһандық таралуын үнемі бақылаудың маңыздылығын көрсетеді.

EPIDEMIOLOGICAL AND EPIZOOTIOLOGICAL SITUATION
OF HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA WORLDWIDE AND
IN THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

**Temirbekova A.Zh., Amirkhanova N.T., Askarov A.M., Bisenova G.N.,
Temirkhanov A.Zh., Bekshin Zh.M.**

The article analyzes the epidemiological and epizootiological situation related to the spread of highly pathogenic avian influenza virus worldwide and in the Republic of Kazakhstan. It highlights the circulation of various virus strains with significant epizootiological and epidemiological implications. Outbreaks of highly pathogenic avian influenza have been reported in more than 65 countries. Additionally, cases of human infection with virus subtypes A(H5Nx) and A(H9N2) have been recorded. Outbreaks among wild and domestic birds have been caused by the highly pathogenic A(H5N1) strain. These findings underscore the importance of continuous monitoring of avian influenza, particularly in our country, and its global dissemination.

УДК 578.2

**КАК ПОЛУЧИТЬ РЕФЕРЕНСНЫЕ ВИРУСНЫЕ ШТАММЫ ДЛЯ
ПОПОЛНЕНИЯ КОЛЛЕКЦИЙ? ПРИМЕР ПОЛУЧЕНИЯ ИСТОРИЧЕСКОГО
ШТАММА ПУТЁМ ГЕНЕТИЧЕСКОГО КОНСТРУИРОВАНИЯ**

**Седова Е.С.¹, Кулатай Т.Ж.¹, Зауатбаева Г.М.¹, Инирбай Б.¹, Кеер В.В.¹,
Шахманова Ж.И.¹, Ларичев В.Ф.², Шустов А.В.¹**

shustov@biocenter.kz

⁽¹⁾ Национальный центр биотехнологии, Астана, 010000, Казахстан)

⁽²⁾ ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава РФ, Москва, Россия)

кДНК-копия полного генома вируса клещевого энцефалита, Сибирского подтипа, штамм Васильченко была сконструирована из синтетических фрагментов ДНК. Вирус, способный к инфекционному распространению, был оживлён путём трансфекции молекулярного инфекционного клона в культуру клеток. Представленные результаты демонстрируют успешность подхода по получению эталонных штаммов, референс-штаммов и исторических штаммов вирусов, которые отсутствуют в коллекциях в Казахстане, и которые нужны для испытаний вакцин, с использованием такого подхода: конструирование *de novo* (химическим способом).

Ключевые слова: вирус клещевого энцефалита; флавивирусы; эталонный штамм; референс-штамм; исторический штамм; молекулярный инфекционный клон; синтез гена; технология ChimeriVax

Введение. Коллекции штаммов и изолятов патогенных микроорганизмов ещё со времён Роберта Коха служили и сейчас остаются, источником материалов для изучения биологии патогенов, а позднее сыграли роль в создании систем классификации на основе антигенных свойств. В настоящее время развитие методов секвенирования, быстрое пополнение электронных баз данных, вкупе с ростом озабоченности по поводу биобезопасности, привели к попыткам популяризовать в среде биологов мнение, что достаточно хранить данные о последовательностях нуклеиновых кислот, а не сберегать и пополнять коллекции живых микроорганизмов. В действительности существует важнейшая для практического здравоохранения отрасль исследований, в которой невозможно обойтись без применения живых микроорганизмов, в частности эталонных и исторических штаммов [1, 2]. Это отрасль разработки и испытания вакцин [1].

Несмотря на продолжающееся развитие компьютерных способов предсказания антигенных детерминант *ab initio* (без использования эмпирических данных), на достигнутом уровне развития этих методов, они не позволяют проверять защитные свойства вакцин [3]. Далее, для проверки защитных свойств и сравнения между собой иммунологических характеристик вакцин, невозможно обойтись без экспериментов на животных, в том числе с применением заражения эталонными штаммами [4, 5, 6].

Испытания защиты в экспериментах на животных являются обязательной частью доклинических исследований вакцин [5, 6]. Эти работы, в общем, однотипны в применяемых экспериментальных процедурах, а различаются способами учёта результатов и измеряемыми параметрами. В типичном эксперименте животных делят на группы. В качестве примера, если есть три группы: одну группу иммунизируют экспериментальной вакциной; другую группу вакцинируют контрольным препаратом (уже применяемой в практике вакциной, если существует); третья группа получает плацебо. После истечения достаточного времени на развитие иммунного ответа, все группы заражают эталонным штаммом (референс-штаммом), который обыкновенно дикого типа (вирулентный). По завершении эксперимента сравнивают исходы, процент заболевших, или данные более сложной структуры, например, таблицы выживаемости по Каплан-Майеру.

Эксперименты такого рода обязательны для испытания вакцин против патогенов, вызывающих тяжёлую болезнь и смертность. Если в местных коллекциях нет эталонных штаммов (или исторических штаммов, с которыми работали разработчики ранее созданных вакцин), испытание новых разработанных вакцин невозможно, что ставит местных разработчиков вакцин в зависимое положение от иностранных исследовательских баз.

Авторы данной работы столкнулись с тем обстоятельством, что не удалось найти штаммы вируса клещевого энцефалита (ВКЭ) в коллекциях микробиологических культур в Казахстане. Описанные ниже работы были сделаны для того, чтобы предоставить в распоряжение разработчиков новых вакцин против клещевого энцефалита, референс-штамм ВКЭ Сибирского подтипа, который циркулирует на территории Казахстана [7].

Эталонный штамм ВКЭ дикого типа нужен для испытания новых экспериментальных вакцин, и в более общем контексте, для внедрения в отрасль разработки и производства вакцин в Казахстане новых технологий, например, технологии ChimeriVax [8, 9].

Технология ChimeriVax создана относительно недавно и успешно использована в вакцинах против инфекций, вызываемых флавивирусами (вирусы из рода *Flavivirus* сем. *Flaviviridae*), разработанных и производимых компанией Sanofi [8,9]. Вакцины ChimeriVax - инновационные и наукоёмкие препараты, создаются методами генетической инженерии, используют в качестве иммуногенов живые неприродные вирусы, которые по биологической природе представляют собой химеры между разными видами вирусов. Международная корпорация Sanofi (работает более чем в 100 странах) является одним из лидеров мирового значения в биофармацевтической отрасли, и одним из крупнейших в мире производителей медицинских вакцин, поэтому локализация успешной технологической платформы от данного разработчика представляет интерес для развития отрасли в Казахстане.

Впрочем, какова бы ни была новая вакцина против ВКЭ, разработанная в Казахстане, доказать защитное действие этого препарата невозможно, если в коллекциях в стране нет штаммов ВКЭ дикого типа, эталонных штаммов. Международное регулирование трансграничного перемещения живых патогенов фактически исключает вариант ввоза в Казахстан музейного штамма ВКЭ из иностранных коллекций. В принципе, возможно получить новый штамм ВКЭ в местную коллекцию, путём выделения из природных источников. Но тогда естественно ожидать, что этот новый штамм будет отличаться генетически и по биологическим свойствам от хорошо охарактеризованных исторических штаммов, на которых выполнен большой и ценный корпус исследований в мире.

Как же тогда получить для вирусологических и вакцинных исследований эталонный, многократно использованный в мире вирусный штамм, если в коллекциях местных организаций этого штамма нет, и вирус невозможно ввезти из-за рубежа?

Данная работа описывает получение штамма Васильченко ВКЭ, который является референс-штаммом сибирского подтипа и представителем доминирующей в Сибири и Казахстане филогенетической линии [10], методом сборки *de novo* (синтез, начинающийся с химических предшественников). Метод сборки *de novo* заключается в конструировании полного вирусного генома из нескольких фрагментов ДНК, при этом каждый такой фрагмент в свою очередь получен путём лигирования синтетических ДНК-олигонуклеотидов.

Генно-инженерные работы выполнены в ТОО “Национальный центр биотехнологии” (г. Астана). Готовая генно-инженерная конструкция в форме плазмидной ДНК передана в Национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалея (НИЦЭМ) Минздрава России (Москва). Эксперименты по оживлению вируса с молекулярного клона и другие описанные в статье вирусологические работы (с живым вирусом ВКЭ) выполнены в лицензированной лаборатории НИЦЭМ.

Результаты и обсуждение

Генно-инженерные работы. Для генно-инженерного конструирования и создания молекулярного инфекционного клона выбран штамм Васильченко (также известен как штамм Vs в зарубежной литературе [11]). Выбор обусловлен двумя причинами: во-первых, для испытания вакцин, исследований напряжённости иммунитета, рационально взять в первую очередь эталонный штамм, который иммунологически наиболее близок к циркулирующим вариантам. Все изоляты ВКЭ, когда-либо полученные в Казахстане, относятся к Сибирскому подтипу [7]. Именно штамм Васильченко (Genbank Acc. L40361) является прототипным штаммом Сибирского подтипа, согласно информации на сайте Международного комитета по таксономии и номенклатуре вирусов [12]. Уже по этой причине штамм Васильченко является ценным референс-штаммом. Во-вторых, штамм Васильченко менее вирулентный [11] (по крайней мере, в экспериментах на животных), чем прототипные штаммы других подтипов - Дальневосточного подтипа (Софьин) (Genbank X07755) и Европейского подтипа (Neudoerfl) (Genbank U27495). В контексте данной де-

монстрационной работы, выбор менее вирулентного штамма означает выбор в сторону большей биобезопасности.

На этапе планирования работ, известная последовательность генома длиной 10927 нуклеотидов (L40361) была *in silico* сегментирована на фрагменты, удобные для сборки из олигонуклеотидов. В изначальном плане генно-инженерных работ в качестве границ фрагментов использовали редкие и уникальные сайты рестрикции. Фрагменты ДНК, предназначенные для синтеза *de novo*, включают вирус-специфическую последовательность между выбранными сайтами рестрикции, а также дополнительно на концах имеют короткие линкеры (длиной 4 пары нуклеотидов, п.н.), которые защищают сайты рестрикции от концевых эффектов при клонировании в промежуточный вектор. На рисунке 1 приведена физическая карта генома ВКЭ с указанием положения выбранных сайтов рестрикции и фрагментов для синтеза *de novo*.

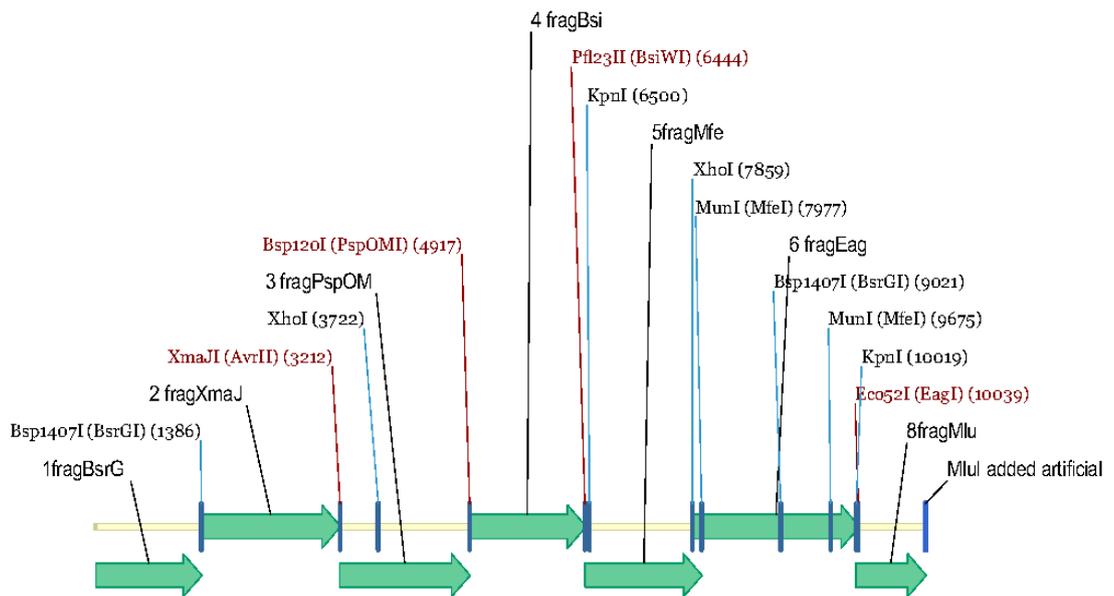


Рисунок 1. Положение синтетических фрагментов на геноме ВКЭ

Синтетические фрагменты показаны стрелками. Показаны выбранные для слияния фрагментов сайты рестрикции, согласно первоначальному плану сборки, в скобках указаны положения сайтов в геноме ВКЭ.

В таблице 1 приведены характеристики синтетических фрагментов ДНК, собранных авторами в реакции синтетической ПЦР.

Синтетические фрагменты ДНК, из которых собирали полный геном

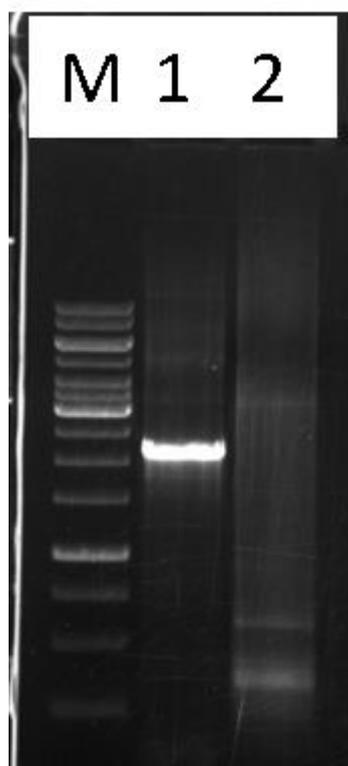
Название	Длина, п.н.	Положение на геноме ВКЭ (первый-последний нуклеотид)	Сайты рестрикции для лигирования с соседними фрагментами	Количество олигонуклеотидов, для сборки фрагмента <i>de novo</i>
1fragBsrG	1394	1-1394	BsrGI (на 3'-конце)	37
2fragXmaI	1840	1381-3220	BsrGI - XmaI	48
3fragPspOM	1719	3207-4925	XmaI - PspOMI	44
4fragBsi	1541	4912-6452	PspOMI - Pfl23II	40
5fragMfe	1547	6439-7985	Pfl23II - XhoI, MfeI	38
6fragEag	2202	7854-10055	XhoI, MfeI - KpnI, EagI	58
8fragMlu	924	10010-10933	KpnI, EagI-MluI (MluI добавлен на 3'-конце)	29

Уже в ходе первых экспериментов по лигированию друг с другом синтетических фрагментов ДНК, авторы обнаружили, что результативность этих экспериментов и выход правильных клонов сильно зависят от использованных эндонуклеаз рестрикции (рестриктаз), и не существует способа *a priori* предсказать эту эффективность. Не все эксперименты по получению продуктов лигирования были удачные. По этой причине, ближе к завершению работ по сборке полного генома, план сборки был модифицирован, и авторы стали синтезировать более протяжённые фрагменты генома, чтобы получить перекрытие не по одному сайту рестрикции, а по нескольким. В частности, с одним фрагментом (7-ой по счету) сборка не получилась, несмотря на несколько попыток. После того как план сборки был изменён, и был синтезирован новый фрагмент (8fragMlu) с большей длиной, и с добавленным сайтом рестрикции MluI на 3'-конце, запланированный этап сборки успешно получился. В таблице 1 приведены не все синтезированные авторами для данной работы фрагменты ДНК, а только успешно лигированные друг с другом для сборки полного геномного клона.

В лаборатории авторов в НЦБ установлено оборудование для синтеза олигонуклеотидов - автоматический синтезатор ASM-800 и система очистки OPS-12. Опыт авторов показывает, что наличие такого оборудования важно для генно-инженерных лабораторий в условиях Казахстана, потому что именно быстрый доступ к ДНК-олигонуклеотидам (праймам) собственного производства позволил менять планы сборки, в зависимости от итогов каждого генно-инженерного эксперимента. Последовательности всех олигонуклеотидов и синтетических фрагментов доступны у авторов по запросу.

Для синтеза фрагментов ДНК авторы используют метод синтетической ПЦР, сущность и реализация которого описаны ниже. Для каждого фрагмента ДНК рассчитывают протяжённые (60-мерные) олигонуклеотиды, которые чередуются в порядке “sense” -> “antisense” -> “sense”-> и т.д. Для расчётов авторы использовали веб-сервис Dnaworks 3.2 (<http://helixweb.nih.gov/dnaworks>) [13]. Расчёты генерируют наборы олигонуклеотидов, в которых соседние олигонуклеотиды перекрываются на определённую длину, и рассчитаны таким образом, что гибридизуются друг с другом с расчётной температурой отжига

60°C. Один такой набор олигонуклеотидов называется “внутренними” праймерами. Набор внутренних праймеров перекрывает почти всю последовательность фрагмента ДНК (за исключением 5'- и 3'-концов). В ходе синтеза *de novo* используют также одну пару коротких “фланкирующих” праймеров (один праймер в ориентации “sense” и один “antisense”), которые нацелены на участки на концах синтезируемого фрагмента ДНК. Синтез фрагментов ДНК проводится с помощью ПЦР в два раунда. На I раунде смешивают весь набор внутренних праймеров с одной реакционной смеси для ПЦР-амплификации. Полученные продукты стохастического синтеза используют в качестве матрицы в ПЦР II раунда, которую проводят только с парой фланкирующих праймеров. На рисунке 2 показаны результаты сборки *de novo* в реакции синтетической ПЦР самого длинного в данной работе фрагмента bfragEag. Как правило, электрофорез продуктов ПЦР I раунда не выявляет никаких мажорных бендов, соответствующих специфической амплификации (на I раунде идёт стохастический синтез продуктов разной длины представляющих собой продукты лигирования в ПЦР разных сочетаний праймеров “внутреннего” набора). Зато реакционная смесь II раунда обычно содержит мажорные бенды, соответствующие искомым фрагментам ДНК (рисунок 2).



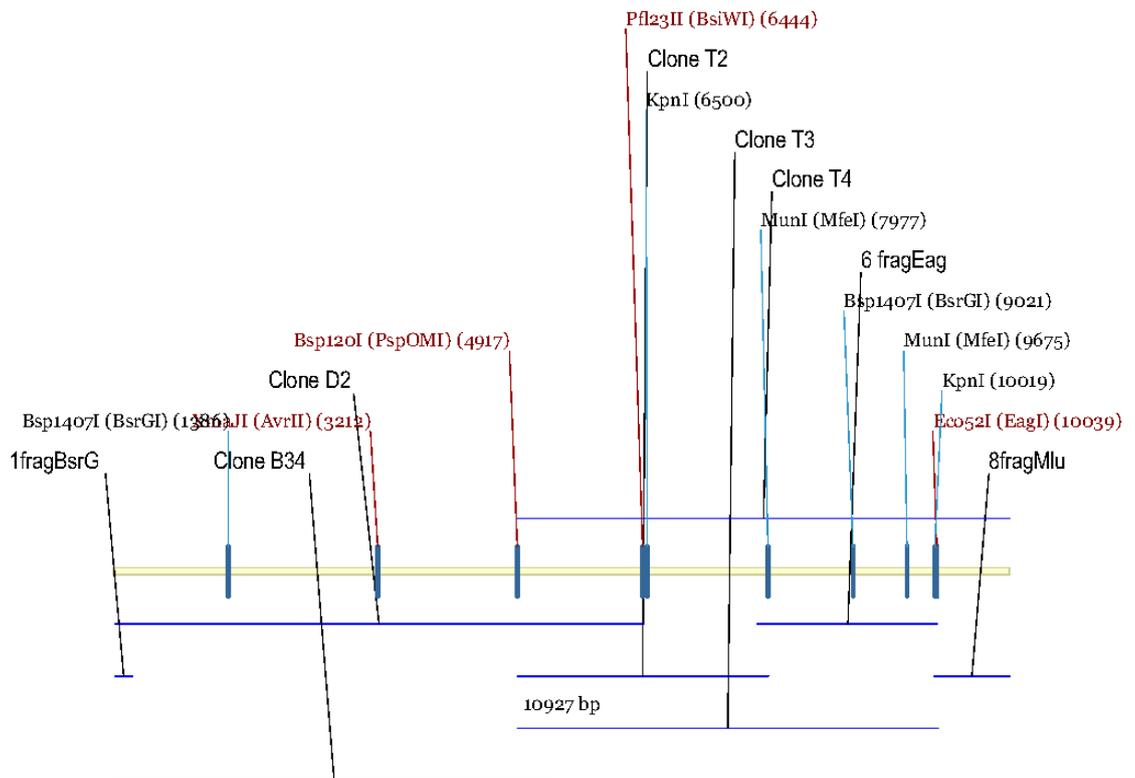
Дорожки: М - маркёр масс фрагментов ДНК GeneRuler 1kb (Thermo Scientific SM0311); 1 - результаты второго раунда амплификации с парой фланкирующих праймеров. Мажорный бенд на уровне ~2000 пн представляет собой синтетический фрагмент; 2 - результаты первого раунда амплификации с набором “внутренних” праймеров (всего было 56-ть олигонуклеотидов в реакционной смеси ПЦР I раунда).

Рисунок 2. Результаты синтеза фрагмента bfragEag с помощью синтетической ПЦР

Все полученные синтетические фрагменты клонировали в сконструированный в лаборатории самодельный вектор для промежуточного клонирования рUC-T, который позволяет клонировать 3'-аденилированные ПЦР-амплификаты методом Т/А-клонирования. Отбирали клоны, несущие вставки нужной длины. Плазмидную ДНК выделяли из отдельных клонов и секвенировали вставки методом Сэнгера для отбора плазмид, в которых вставки без ошибок. Обыкновенно секвенировали три клон с каждого эксперимента, но

для некоторых фрагментов из таблицы 1 нам потребовалось секвенировать до 10-ти клонов для отбора безошибочных вставок. Плазмидные ДНК отобранных клонов нарабатывали путём выделения из большого объёма культуры (250 мл 2xYT) трансформированных бактериальных клеток. Мы обнаружили, что для успешных экспериментов по сборке требуется очищать плазмиды от хозяйской ДНК и других примесей ультрацентрифугированием в градиентах хлористого цезия.

На следующем этапе генно-инженерных работ из синтетических фрагментов собирали последовательно более протяжённые сборки. На этом этапе, комбинировали исходные плазмиды так, чтобы один из клонов выступал в роли вектора, в который лигировали вставки фрагментов, соседних в геноме. После каждого клонирования рекомбинантные клоны проверяли рестриктным гидролизом, и обязательно проверяли сохранность сайтов рестрикции, использованных для сборки классическим методом рестриктоного гидролиза и лигирования ДНК-лигазой T4. Так были получены плазмиды с более протяжёнными вставками, названные B34, D2, T2, T3, T4. Карта с указанием положения на геноме вставок в этих промежуточных клонях, показана на рисунке 3. Характеристики вставок в промежуточных клонях приведены в таблице 2.



Вставки из клонов B34, D2, T2, T3, T4 показаны тонкими линиями, геном ВКЭ показан одной более толстой линией. Вставки в совокупности накрывают весь геном ВКЭ.

Рисунок 3. Карта положения вставок из промежуточных клонов на геноме ВКЭ

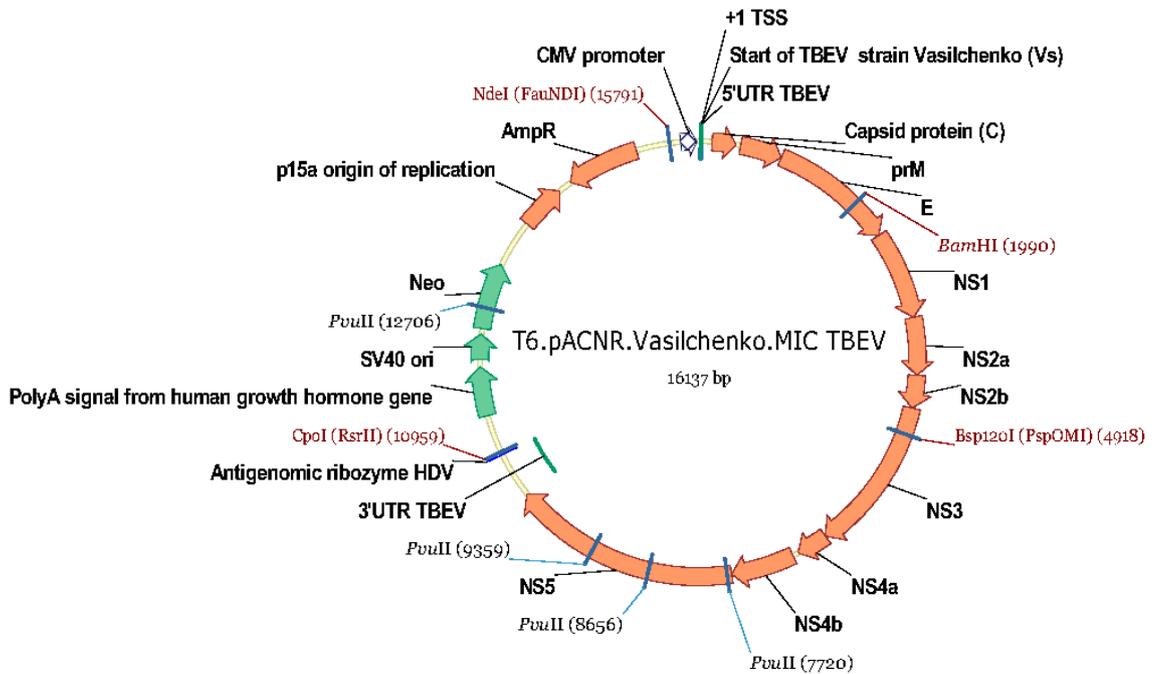
Промежуточные клоны

Название лазмиды	Длина вирус-специфической последовательности вставки, пн	Положение на геноме ВКЭ
V34	5356	1-5356
D2	6452	1-6452
T2	3074	4912-7985
T3	5144	4912-10055
T4	6016	4912-10927

Промежуточные клоны V34, D2, T2, T3, T4 унаследовали высококопийный ориджин репликации ColE1, с мутацией, которая в оптимальных условиях роста бактериальной культуры может обеспечивать репликацию плазмид на уровне ~400 копий на клетку. Проведение генно-инженерных экспериментов с высококопийными плазмидами технически удобнее, чем с плазмидами, у которых низкая копияность. Поэтому авторы пытались сделать максимально протяжённые сборки путём последовательного наращивания вирус-специфических последовательностей. Однако сконструировать полный вирусный геном в векторе с высококопийным ориджином не получилось. В ходе этих экспериментов авторы столкнулись с явлением нестабильности клонов, несущих протяжённые последовательности из генома ВКЭ, если клоны получены в векторе с высокой копияностью. Естественным выходом из данной ситуации было продолжить сборку в векторе с низкой копияностью. Авторы использовали для финальной сборки полного генома ВКЭ в качестве вектора плазмиду pACYC177 (NovoPro Bioscience, Cat. V012556), у которой ориджин репликации p15a ограничивает копияность на уровне ~15 копий на клетку [14].

Для экономии времени, было решено совместить в одном этапе работы по переключению фрагментов генома из промежуточных сборок (таблица 2) в pACYC177 с конструированием молекулярного инфекционного клона. Соответственно, начало генома ВКЭ (из клона D2) встроили под контроль промотора немедленно-ранних генов цитомегаловируса человека (CMV). Для обеспечения правильного процессинга первичного транскрипта в экспериментах по оживлению вируса, за вирусной последовательностью необходимо было встроить рибозим и сигнал терминации транскрипции. Для этого за последним нуклеотидом вирус-специфической последовательности в клоне T4 встроили антигеномный рибозим вируса гепатита D и за ним сигнал терминации транскрипции гена человеческого гормона роста.

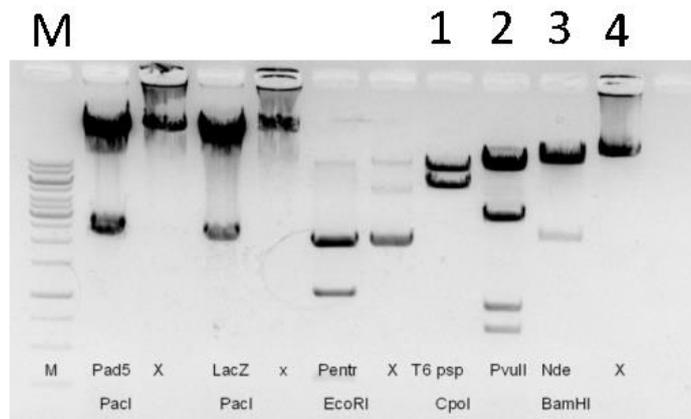
Полученная в итоге плазида длиной 16137 п.н. представляет собой ДНК-запускаемый молекулярный инфекционный клон ВКЭ, в составе этой плазмиды клонирован полный геном штамма Васильченко. Генетическая карта этой плазмиды, названной T6.pACNR.Vasilchenko.MIC_TBEV, показана на рисунке 4.



Функциональные гены отдельных белков и сигналы в составе плазмиды показаны в виде стрелок.

Рисунок 4. Финальная конструкция – ДНК-запускаемый молекулярный инфекционный клон ВКЭ штамм Васильченко

Правильность сборки плазмиды T6.pACNR.Vasilchenko.MIC_TBEV проверяли с помощью множества рестриктных гидролизом, разными сочетаниями рестриктаз. Во всех случаях рестриктный анализ подтвердил правильность сборки. Например, на риске 5 показаны результаты порезок этой плазмиды смесями рестриктаз PspOMI+CpoI; в другой дорожке BamHI+NdeI; в третьей дорожке одной рестриктазой PvuII.

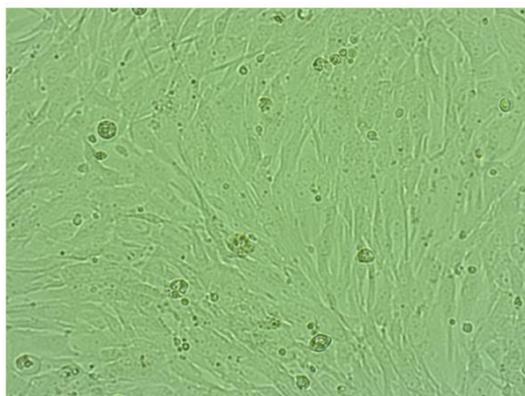


Дорожки (над фотографией геля): М - маркёр масс фрагментов ДНК GeneRuler 1kb; 1 - гидролиз смесью рестриктаз PspOMI+CpoI (ожидаемые фрагменты: 10096 и 6041 пн); 2 - гидролиз PvuII (ожидаемые фрагменты: 11151, 3347, 936 и 703 пн); 3 - гидролиз смесью рестриктаз BamHI+NdeI (ожидаемые фрагменты: 13801 и 2336 пн); 4 - непорезанная плаزمида. Другие дорожки на геле не относятся к сборке ВКЭ.

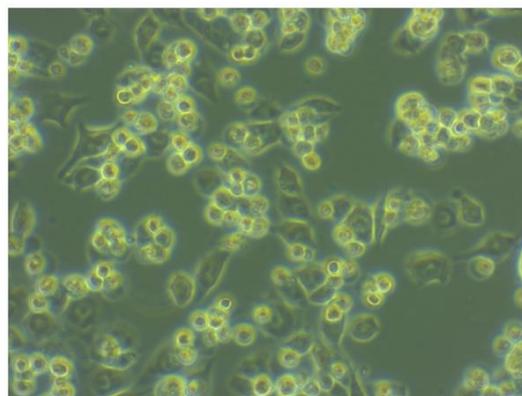
Рисунок 5. Результаты рестриктоного анализа плазмиды T6.pACNR.Vasilchenko.MIC_TBEV подтверждают правильность сборки

Молекулярный инфекционный клон был передан партнёрской лаборатории в НИЦЭМ для выполнения вирусологических работ.

Вирусологические работы. Для оживления вируса использовали линию клеток ВНК-21 (клетки почки сирийского хомяка *Mesocricetus auratus*). Культуру ВНК-21 трансфецировали ДНК плазмиды T6.pACNR.Vasilchenko.MIC_TBEV с помощью электропорации. Пробы среды с трансфецированной культуры собирали каждый день с полной заменой среды. Уже на 4-ый день после трансфекции наблюдали в культуре, трансфецированной инфекционным клоном, цитопатическое действие (ЦПД), которое проявлялось в исчезновении цельности монослоя, значительное число клеток округлились и отделились от подложки. Аналогичного ЦПД не наблюдали в контрольной культуре. Фотографии приведены на рисунке 6.



ВНК-21
мокс-электропорация
без плазмид,
4 д.п.т.

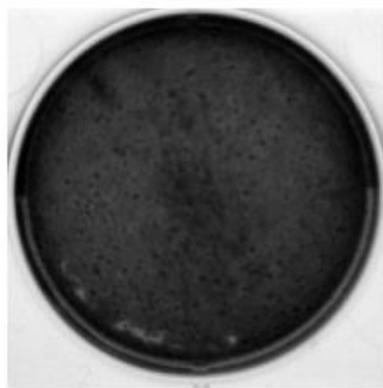


ВНК-21
электропорация
T6.pACNR.Vasilchenko.MIC_TBEV,
4 д.п.т.

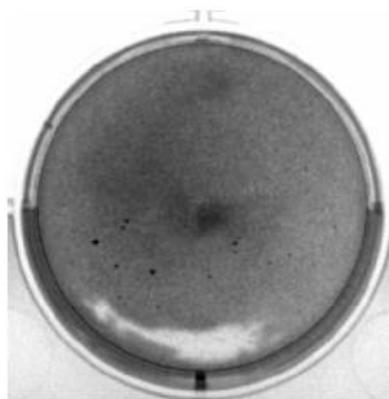
Фотографии сделаны на 4-ый день после трансфекции (д.п.т.). Фотографии в белом свете, фазовый контраст. Увеличение 200X.

Рисунок 6. Фотографии культур клеток ВНК-21, после мокс-трансфекции (без плазмиды), и культуры после трансфекции инфекционным клоном

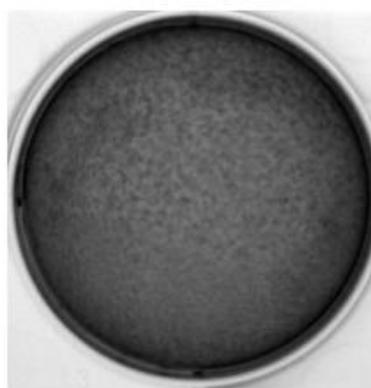
Пробу культуральной среды, собранную на 4-ый день после трансфекции инфекционным клоном (культура, показанная на правой панели на рисунке 6), использовали для заражения свежих клеток ВНК-21 и СПЕВ (клетки почки эмбриона свиньи *Sus scrofa*), выращиваемых в лунках 6-луночных планшетов. Для заражений готовили разведения собранной среды в свежей стерильной среде с шагом 1/10. Каждым разведением заражали одну лунку планшета. После заражения монослоев, инфекционные инокуляты удаляли и покрывали клетки агаризованной средой (ростовая среда содержит 0,5% легкоплавкой агарозы и застывает в лунках). Наблюдали образование типичных вирусных бляшек в монослое клеток СПЕВ, выращиваемых под агаровым покрытием. При этом не было видимых вирусных бляшек в монослое ВНК-21. Фотографии лунок планшетов с инфицированными монослоями, которые на 5-е сутки после заражения окрашивали кристаллическим фиолетовым, показаны на рисунке 7.



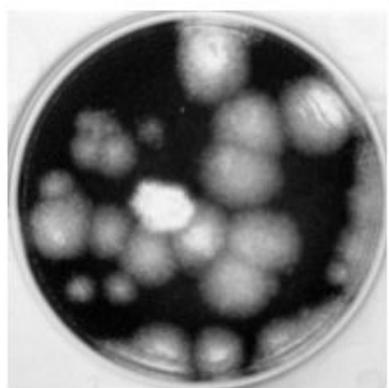
ВНК-21
не инфицированные



ВНК-21
инфицированные,
5 д.п.и.



СПЕВ
не инфицированные



СПЕВ
инфицированные,
5 д.п.и.

Фотографии монослоев клеток ВНК-21 и СПЕВ, инфицированных как описано в тексте, растущих под агаровым покрытием. На 5-ый день после инфицирования (д.п.и.) агаровое покрытие было удалено, и монослои были окрашены кристаллическим фиолетовым.

Рисунок 7. Вирус, оживлённый с молекулярного инфекционного клона, даёт хорошо видимые бляшки на культуре клеток СПЕВ

Уже полученные результаты вирусологических работ подтверждают жизнеспособность вируса, оживленного с синтетического генома в составе инфекционного клона. В настоящее время вирусологические работы с этим вирусом продолжаются в НИЦЭМ для определения характеристик молекулярно-клонированного вируса, сравнения с музейным штаммом Васильченко.

Заключение

Представленный подход позволяет получить для коллекций в Казахстане эталонные, референс и исторические вирусные штаммы, которые отсутствуют в коллекциях, и которые фактически невозможно ввезти для научных исследований из-за рубежа. Этот подход является ценным дополнением к традиционной коллекционной работе.

В то же время, авторы столкнулись с невозможностью выполнить вирусологические исследования с вирусом клещевого энцефалита в Казахстане по причине отсутствия разрешений на работу с этим вирусом у опрошенных организаций.

Необходимо расширить возможности исследовательских организаций в Казахстане для наполнения коллекций эталонными вирусными штаммами, для чего генно-инженерные компетенции НЦБ должны играть большую роль.

Работа выполнена в рамках научно-технической программы BR218004/0223 «Совершенствование мер обеспечения биологической безопасности в Казахстане: противодействие опасным и особо опасным инфекциям», финансируемой Министерством науки и высшего образования РК 2023-2025 годы.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Gould E.A., de Lamballerie X., Coutard B., et al.** The European Virus Archive: a new resource for virology research // *Antiviral Res.* – 2012. – P. 167-171.
2. No authors listed. National Collection of Pathogenic Viruses: A Repository for Well Characterised and Authenticated Viruses // *Access Microbiology.* – 2019. – Vol. 1(10).
3. **Guarra F., Colombo G.** Computational Methods in Immunology and Vaccinology: Design and Development of Antibodies and Immunogens // *J Chem Theory Comput.* – 2023. – Vol. 19(16). – P. 5315-5333.
4. **Akkermans A., Chapsal J.M., Coccia E.M., et al.** Animal testing for vaccines. Implementing replacement, reduction and refinement: challenges and priorities // *Biologicals.* – 2020. – Vol. 68. – P. 92-107.
5. EMA (European Medicines Agency). Note for Guidance on Preclinical Pharmacological and Toxicological Testing of Vaccines. - 1997. Electronic source: www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500004004.pdf.
6. WHO (World Health Organization). Guidelines on Nonclinical Evaluation of Vaccines. World Health Organization Technical Report Series, No. 927, Annex 1. - 2005. Electronic source: www.who.int/biologicals/publications/trs/areas/vaccines/nonclinical_evaluation/ANNEX%201Nonclinical.P31-63.pdf; 2005.
7. **Abdiyeva K., Turebekov N., Yegemberdiyeva R., et al.** Vectors, molecular epidemiology and phylogeny of TBEV in Kazakhstan and central Asia // *Parasit Vectors.* – 2020. – Vol. 13(1) – P. 504.
8. **Chin R., Torresi J. Japanese B Encephalitis: An Overview of the Disease and Use of Chimerivax-JE as a Preventative Vaccine** // *Infect Dis Ther.* – 2013. – Vol. 2(2). – P. 145-158.
9. **Torresi J., Ebert G., Pellegrini M.** Vaccines licensed and in clinical trials for the prevention of dengue // *Hum Vaccin Immunother.* – 2017. – Vol. 13(5). – P.1059-1072.
10. **Tkachev S.E., Babkin I.V., Chicherina G.S., et al.** Genetic diversity and geographical distribution of the Siberian subtype of the tick-borne encephalitis virus // *Ticks Tick Borne Dis.* – 2020. – Vol. 11(2). – P. 101.
11. **Goonawardane N., Upstone L., Harris M., Jones I.M.** Identification of Host Factors Differentially Induced by Clinically Diverse Strains of Tick-Borne Encephalitis Virus // *J Virol.* – 2022. – Vol. 96(18).
12. ICTV (International Committee for Virus taxonomy). Electronic source: <https://ictv.global/report/chapter/flaviviridae/flaviviridae>.
13. **Hoover D.** Using DNAWorks in designing oligonucleotides for PCR-based gene synthesis // *Methods Mol Biol.* – 2012. – Vol. 852. – P. 215-223.
14. **Nakano Y., Yoshida Y., Yamashita Y., Koga T.** Construction of a series of pACYC-derived plasmid vectors // *Gene.* – 1995. – Vol. 162(1). – P. 157-158.

ВИРУСТЫҚ КОЛЛЕКЦИЯЛАР ҮШІН РЕФЕРЕНТТІК ВИРУСТЫҚ ШТАММДАРДЫ ҚАЛАЙ АЛУҒА БОЛАДЫ? ГЕНДІК ИНЖЕНЕРИЯ ӘДІСІМЕН ТАРИХИ ШТАММДЫ ЖАСАУ ҮЛГІСІН ҰСЫНАМЫЗ

**Седова Е.С., Кулатай Т.Ж., Зауатбаева Г.М., Інірбай Б., Кеер В.В., Шахманова Ж.И.,
Ларичев В.Ф., Шустов А.В.**

қДНҚ кене энцефалиті вирусының толық геномының көшірмесі, Сібірлік подтипіне жатады, Васильченко штаммы синтетикалық ДНҚ фрагменттерінен жасалған. Молекулярлық инфекциялық клонды жасуша культурасына трансфекциялау арқылы жұқпалы тарауға қабілетті вирус жанданды. Алынған нәтижелер қазақстанның коллекцияларда кездеспейтін вирустардың тарихи штаммдарын және референс-штаммдарын, эталон штаммдарын алу бойынша табысты тәсіл екенін көрсетеді, және олар de novo (химиялық тәсілмен) конструирлеу (құрастыру) тәсілін қолдануда вакциналарды сынау үшін қажет.

HOW TO OBTAIN REFERENCE VIRAL STRAINS FOR VIRAL COLLECTIONS? PRESENTING AN EXAMPLE OF CREATING A HISTORICAL STRAIN BY GENETIC ENGINEERING

**Sedova E.S., Kulatay T.Zh., Zauatbayeva G.M., Ingirbay B., Keyer V.V., Shakhmanova Zh.I., Larichev V.F.,
Shustov A.V.**

A cDNA copy of the complete genome of tick-borne encephalitis virus, Siberian subtype, strain Vasilchenko was constructed from synthetic DNA fragments. The virus, capable of infectious dissemination, was rescued by transfection of a molecular infectious clone into cell culture. The presented results demonstrate successful producing of the viral strain, which approach may be used to obtain reference and valuable historical strains which are missing from the collections in Kazakhstan. For example such reference and historical strains are needed for testing viral vaccines. The approach to solve the problem of lacking reference strains in Kazakhstan is the de novo assembly.

УДК 311.21; 616-036.23

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАЗМЕРА ВЫБОРКИ ДЛЯ БИНАРНЫХ ДАННЫХ С МАЛЫМИ ПРОПОРЦИЯМИ

Исламов Р.А.

(Национальный научный центр особо опасных инфекций имени Масгута Айкимбаева, Алматы, Казахстан, e-mail: rinat.islamov@mail.kz)

Расчет размера выборки в изучении редко встречаемых признаков представляет определенную трудность. Особенно в тех случаях, когда не известны даже оценочные данные по их распространенности. Если изучаемый признак имеет распространенность в популяции менее 0,1, то методы расчета размера выборки, основанные на нормальном распределении, дают некорректные результаты. Эти значения приобретают десятки и сотни тысяч, сбор которых технически не представляется возможным. В некоторых случаях допустимо оценить размер выборки логарифмическим отношением мощности (β) к долям распространенности изучаемого признака. Обсуждаемые в статье методы далеко неисчерпывающие. На примерах иллюстрируются проблемы в расчетах репрезентативной выборки для эпидемиологических и эпизоотологических исследований редких инфекций.

Ключевые слова: биостатистика, выборка, доля, эпидемиология, эпизоотология

В подготовке к эпидемиологическим, эпизоотологическим и другим популяционным исследованиям важным этапом является правильная оценка репрезентативной выборки, которая по своим свойствам отражала бы изучаемую совокупность. Хотя следует отме-

туть, что не всегда проводится такой расчет, например, в обсервационных исследованиях распространенности инфекций у носителей и переносчиков [1-5]. Тем не менее, в некоторых случаях, все же необходимо провести оценку минимального количества наблюдений для обеспечения достижения заявленных целей исследования с установленной точностью. Но, если взять большой объем выборки, то затраченные ресурсы могут быть необоснованно завышены. При этом релевантные результаты могут быть получены и при небольшой выборке [3]. И, напротив малый объем выборки, в сочетании с неправильным подбором методов статистического анализа, приведет к некорректным результатам [6]. Поэтому разрабатываются специальные методы расчета необходимого размера выборки (n) при допустимых пределах достоверности, ошибок I и II рода [7]. Чаще всего для этого применяются стандартные формулы расчета n , в случае с непрерывными (1) и бинарными (2) данными.

$$n = \left[\frac{z_\alpha + z_\beta}{\mu_0 - \mu_1} \right]^2 \quad (1)$$

где, z_α и z_β – критические значения нормального распределения, соответствующие принятым уровням ошибок α и β ; μ – средние значения сравниваемых групп, n – рассчитываемый объем выборки.

$$n = \left(\frac{z_\alpha}{\varepsilon} \right)^2 p(1 - p) \quad (2)$$

где, z_α – критическое значение нормального распределения; ε – предельная ошибка выборки, n – рассчитываемый объем выборки.

Предельная ошибка определяется по формуле (3).

$$\varepsilon = z \cdot SE \quad (3)$$

где, SE_p – стандартная ошибка доли p .

В свою очередь, SE_p находится по уравнению (4).

$$SE_p = \sqrt{\frac{p(1-p)}{n}} \quad (4)$$

Единым параметром этих уравнений является критическое значение z нормального распределения. Считается, что изучаемые количественные данные имеют приближенно нормальное распределение случайной величины. Альтернативная форма или бинарные данные описываются биномиальным распределением, которое при большом числе испытаний также стремится к нормальному распределению. Если представить связь между объемом выборки и пропорциями, то получатся следующий симметричный график (рисунок 1).

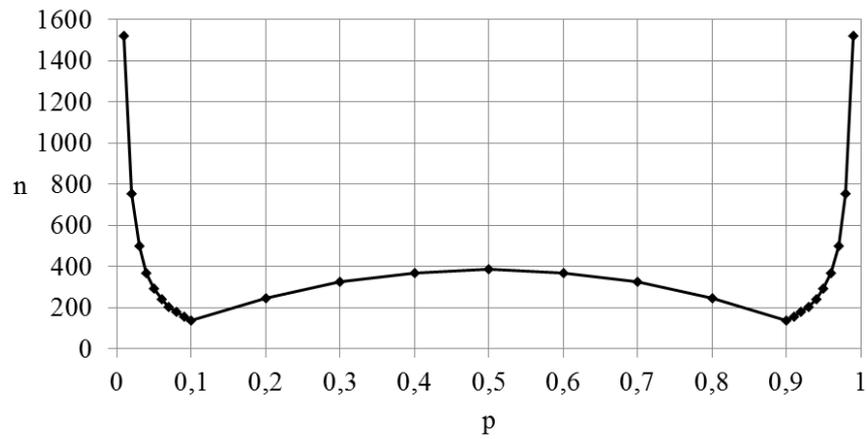


Рисунок. 1 Связь между размером выборки и ожидаемой долей (если ошибка равняется половине p)

Истинный размер выборки при α 0,05 и мощности 0,8 находится между значениями от 0,1 до 0,5 [8]. При значениях p близких к 0 или 1, прямая приобретает свойства асимптоты, а число n нелинейно зависит от ε . То есть наблюдаются отклонения от нормального распределения, которые не могут быть компенсированы, например, нормализацией данных или взятием большой выборки.

Применение формулы (2) требует также выполнение следующих условий [8]:

- ε не более 0,25 от p ;
- np должно быть больше 5.

Однако, в изучении распространенности редких событий эти условия нарушаются. Например, численность переносчиков некоторых особо опасных зоонозных инфекций может быть велика, а доля p зараженных оказывается менее 0,2 [9-13]. В таких случаях определение размера выборки аналитическими методами по уравнению (2) может привести к завышению или занижению результатов [14]. Иногда удается скорректировать размер выборки в сторону уменьшения, если известно число изучаемой популяции [15]. Но это не всегда возможно.

Поэтому в литературе предлагаются различные альтернативные методы расчета размера выборки и доверительных интервалов [16,17]. Например, вместо биномиальной модели предлагается гипергеометрическое распределение [18]. В некоторых случаях, когда предполагается наличие двух биномиальных пропорций, то можно использовать угловое преобразование, где значение p корректируется через: $\phi = 2\arcsin\sqrt{p}$. Формула выглядит так (5).

$$n = \frac{2(z_{\alpha} + z_{\beta})^2}{(\phi_1 - \phi_2)^2} \quad (5)$$

где, z_{α} – критическое значение нормального распределения; ϕ – угловой коэффициент, n – рассчитываемый объем выборки.

Одним из условий применения этого метода соблюдение неравенства $p_1 \neq p_2$ [19].

Среди наиболее простых способов расчета размера выборки это метод непараметрической оценки (6), который определяет – произошло ли событие, например, заражение животного в колонии [16].

$$n = \frac{\log g}{\log P} \quad (6)$$

где, $\beta=1$ - мощность (0,95 или 0,99), доля незараженных объектов $P=1-p$

Важным условием использования этой формулы является то, что разряд десятичной дроби P не сокращается (таблица 1).

Таблица 1

Рассчитанные значения n логарифмическим способом

Значение β	$P=0,9$	$P=0,99$	$P=0,999$
0,95	28	298	2994
0,99	44	458	4603

В тоже время этот способ не учитывает точность определения p . Поэтому может быть применим лишь для оценки размера выборки при наличии ограниченных данных.

Разрабатываются и другие, более сложные методы расчета размера выборки [20]. Также можно использовать доступные онлайн калькуляторы «EPITOOLS», «STATULATOR» и т.д.

Оценка исследуемой выборки является ключевым этапом планирования эксперимента. Правильность её расчетов позволяет достичь поставленных целей, а также рационально использовать человеческие и материальные ресурсы. Но, в силу асимметричности зависимости размера выборки и долей признака невозможно с приемлемой точностью производить расчеты для эпидемиологических и эпизоотологических обследований редких инфекционных заболеваний, когда p намного меньше 0,1. Иногда исследователь и вовсе вынужден отказаться от подробных расчетов выборки в силу экономической целесообразности, опираясь лишь на предыдущий опыт работ.

Работа выполнена в рамках научно-технической программы BR218004/0223 «Совершенствование мер обеспечения биологической безопасности в Казахстане: противодействие опасным и особо опасным инфекциям», финансируемой Министерством науки и высшего образования РК 2023-2025 годы.

ЛИТЕРАТУРА

1. **Bazanów B.A., Paoń J., Gadzała Ł.** et al. Vector and Serologic Survey for Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus in Poland // Vector Borne Zoonotic Dis. – 2017. – 17(7). – P. 510-513. doi: 10.1089/vbz.2016.2075
2. **Martínez-Mesa J., González-Chica D.A., Bastos J.L.** et al. Sample size: how many participants do I need in my research? // An. Bras. Dermatol. – 2014. – 89(4). – P. 609-615. doi: 10.1590/abd1806-4841.20143705
3. **Laurin E., Bradshaw J., Hawley L.** et al. Importance of sample size for estimating prevalence: a case example of infectious hematopoietic necrosis viral RNA detection in mixed-stock Fraser River sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*), British Columbia, Canada // Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. – 2021. – 78(5). – P. 589-598. <https://doi.org/10.1139/cjfas-2020-0279>
4. **Duguma B.E., Tesfaye T., Kassaye A.** et al. Control and Prevention of Epizootic Lymphangitis in Mules: An Integrated Community-Based Intervention, Bahir Dar, Ethiopia // Front Vet Sci. – 2021. – 12(8). – e. 648267. doi: 10.3389/fvets.2021.648267
5. **Serdar C.C., Cihan M., Yücel D., Serdar M.A.** Sample size, power and effect size revisited: simplified and practical approaches in pre-clinical, clinical and laboratory studies // Biochem. Med. (Zagreb). – 2021. – 31(1). – e.010502. doi: 10.11613/BM.2021.010502
6. **Bujang M.A.** A Step-by-Step Process on Sample Size Determination for Medical Research // Malays J Med Sci. – 2021.2 8(2). P. 15-27. doi: 10.21315/mjms2021.28.2.2

7. **Stevenson M.A.** Sample Size Estimation in Veterinary Epidemiologic Research. *Front. // Vet. Sci.* – 2021. – 17(7). e.539573. doi: 10.3389/fvets.2020.539573
8. **Stark M., Zapf A.** Sample size calculation and re-estimation based on the prevalence in a single-arm confirmatory diagnostic accuracy study // *Stat Methods Med Res.* – 2020. – 29(10). – P. 2958-2971. doi: 10.1177/0962280220913588.
9. **Naing L., Winn T., Rusli B.** Practical Issues in Calculating the Sample Size for Prevalence Studies // *Archives of Orofacial Sciences.* – 2006. – № 1. – P. 9-14.
10. **Perfilyeva Y.V., Shapiyeva Z.Z., Ostapchuk Y.O.** et al. Tick-borne pathogens and their vectors in Kazakhstan - A review. // *Ticks Tick. Borne. Dis.* – 2020. – 11(5). – e.101498. doi: 10.1016/j.ttbdis.2020.101498
11. **Ciculli V., Maitre A., Ayhan N.** et al. Lack of Evidence for Crimean–Congo Hemorrhagic Fever Virus in Ticks Collected from Animals, Corsica, France // *Emerg. Infect. Dis.* – 2022. – 28(5). – P. 1035-1038. <https://doi.org/10.3201/eid2805.211996>
12. **Sánchez-Seco M.P., Sierra M.J., Estrada-Peña A.** et al. Group for CCHFv Research. Widespread Detection of Multiple Strains of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever Virus in Ticks, Spain // *Emerg. Infect. Dis.* – 2021. – 28(2). – P. 394-402. doi: 10.3201/eid2802.211.308
13. **Merrill M.M., Boughton R.K., Lollis L.O.** et al. Epidemiology of Bluetongue Virus and Epizootic Hemorrhagic Disease Virus in Beef Cattle on a Ranch in South-Central Florida // *Vector Borne Zoonotic Dis.* – 2019. – 19(10). – P. 752-757. doi: 10.1089/vbz.2018.2406
14. **Vallejo A., Muniesa A., Ferreira C., de Blas I.** New method to estimate the sample size for calculation of a proportion assuming binomial distribution // *Res. Vet. Sci.* – 2013. – 95(2). – P. 405-409. doi: 10.1016/j.rvsc.2013.04.005
15. **Taddei S., Moreno G., Cabassi C.S.** et al. Leptospira Seroprevalence in Colombian Dairy Herds // *Animals (Basel).* – 2021. – 11(3). – P. 785. doi: 10.3390/ani11030785
16. **Dell R.B., Holleran S., Ramakrishnan R.** Sample size determination // *ILAR J.* – 2002. – 43(4). – P. 207-213. doi: 10.1093/ilar.43.4.207
17. **Tobi H., van den Berg P.B., de Jong-van den Berg L.T.** Small proportions: what to report for confidence intervals? // *Pharmacoepidemiol. Drug Saf.* – 2005. – 14(4). – P. 239-247. doi: 10.1002/pds.1081
18. **Fosgate G.T.** Practical sample size calculations for surveillance and diagnostic investigations // *J. Vet. Diagn. Invest.* – 2009. – 21(1). – P. 3-14. doi: 10.1177/104063870902100102
19. **Chen H.J.** Sample size determinations when two binomial proportions are very small // *Communications in Statistics - Theory and Methods.* – 1984. – (13)21. – P. 2707-2712. doi: 10.1080/03610928408828854
20. **Blaizot S., Herzog S.A., Abrams S.** et al. Sample size calculation for estimating key epidemiological parameters using serological data and mathematical modelling // *BMC Med. Res. Methodol.* – 2019. – 19(1). – P. 51. doi: 10.1186/s12874-019-0692-1

КІШІ ПРОПОРЦІЯЛАРЫ БАР ЕКЛІК ДЕРЕКТЕР ҮШІН ТАҢДАМА ӨЛШЕМІН АНЫҚТАУ

Исламов Р.А.

Сирек белгілерді зерттеуде таңдама өлшемін есептеу қиын. Әсіресе, жағдайлардың таралуын бағалау тіпті белгісіз жағдайларда. Егер зерттелетін белгінің популяцияда таралу көрсеткіші 0,1-ден аз болса, онда қалыпты таралу негізінде таңдама көлемін есептеу әдістері дұрыс емес нәтиже береді. Бұл деректер ондаған және жүздеген мыңға жетеді, оларды жинау техникалық мүмкін емес. Кейбір жағдайларда зерттелетін белгінің таралу фракцияларына қуаттың (β) логарифмдік қатынасы арқылы таңдама өлшемін бағалауға болады. Мақалада талқыланған әдістер толық емес. Мысалдарда сирек кездесетін ауруларды эпидемиологиялық және эпизоотологиялық зерттеулерге арналған репрезентативті таңдамаларды есептеудегі қиындықтар көрсетілген.

SAMPLE SIZE DETERMINATION FOR BINARY DATA WITH SMALL PROPORTIONS

Islamov R.A.

It is difficult to determine the sample size for rare traits. Especially in cases where even estimates of the prevalence of cases are not provided. If the attribute under study has a prevalence in the economy of less than 0.1, then sample size calculation methods based on the normal distribution produce unadjusted results. These values are purchased in tens and hundreds of thousands, the assembly of which is technically not possible. In some cases, it is possible to estimate the sample size of the logarithmic ratio of power (β) to the proportion of prevalence of the trait being studied. The methods discussed in the article are far from exhaustive. Examples illustrate the challenges in calculating representative samples for epidemiological and epidemiological forensic investigations.

УДК 579.24

**ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНТАМИНАЦИИ ПОСТОРОННЕЙ МИКРОФЛОРОЙ
НОВОЙ ОПЫТНО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СЕРИИ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ
БРУЦЕЛЛЕЗА ОВЕЦ И КОЗ**

**Молдагулова С.У., Джекебеков К.К., Қалимолда Э.Ж., Байсеит Т.И., Наханова
Г.Ж., Алпысбаева С.Е., Зинина Н.Н., Шораева К.А., Еспембетов Б.А.**

*(Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности
e-mail: sabina_moldagulova@mail.ru)*

Одним из основных критериев биологической безопасности иммунобиологических препаратов является их стерильность и не контаминированность посторонней микрофлорой. В данной статье представлены результаты оценки опытно-экспериментальной серий живой бруцеллезной вакцины методом прямого посева на наличие посторонних микроорганизмов. А также, представлены результаты микроскопических исследований и морфологии выросших культур. Учитывая специфику живых вакцин, процесс их производства контроля качества должен направляться на исключение возможности контаминации микроорганизмами, отличающимися от производственных штаммов. Испытание и оценка полученных данных исследований проведены в соответствии с ГОСТ 28085-2013 и ГОСТ 32808-2014.

Ключевые слова: живые вакцины, оценка качества, контаминация, отсутствие посторонней микрофлоры, стерильность, безопасность

Введение.

Неотъемлемой составляющей безопасности иммунобиологических препаратов (ИП), к которым относятся препараты из живых и убитых микроорганизмов, а также микробных продуктов, используемых для профилактики или лечения заболеваний (вакцины, анатоксины, фаги, пробиотики, эубиотики) является отсутствие микробной контаминации [1, 2]. Наличие посторонней микрофлоры может не только привести к снижению эффективности препаратов, но и вызывать нежелательные реакции у животных [3].

Технологический контроль производства применения ИП для животных требует особых мер безопасности [4-7]. Гарантией выпуска продукции, исключающей контаминацию чужеродными агентами, является строгое соблюдение правил надлежащей производственной практики, включающей использование адекватных методов контроля [8-11]. Особенное внимание к себе требуют живые бактериальные вакцины, в связи с высоким риском контаминации при культивировании производственных штаммов, вспомога-

ными материалами и питательными средами, а также сложностью ее выявления в готовом препарате [12-16]. Учитывая специфику живых бактериальных вакцин, процесс их производства, в первую очередь, должен быть направлен на исключение возможности контаминации микроорганизмами, отличающимися от производственных штаммов [17-18]. К сожалению, вакцины иногда могут быть загрязнены веществами, которые могут вызвать заболевание у животных.

В рамках программы BR218004/0223: «Совершенствование мер обеспечения биологической безопасности в Казахстане: противодействие опасным и особо опасным инфекциям», впервые в НИИПББ была разработана вакцина против бруцеллеза овец и коз из лиофилизированного штамма *Brucella melitensis Rev-1*, который на данный момент проходит этапы контроля качества препарата на соответствия требованиям НД. Так, в данной статье отдельное внимание уделено на параметр качества по определению контаминации посторонней микрофлорой в составе вакцины против бруцеллеза овец и коз из лиофилизированного штамма *Brucella melitensis Rev-1*, с использованием микробиологических методов и с соблюдением правил ветеринарно-санитарного режима.

Материалы и методы

Объекты исследования

Испытуемыми образцами ИП являются опытно-экспериментальная серия вакцины против бруцеллеза овец и коз из лиофилизированного штамма *Brucella melitensis Rev-1* производимые в НИИПББ.

Методы определения контаминации посторонней микрофлорой

Образцы были протестированы методом прямого посева, рост выросших культур окрашенных по Граму в рамках контроля качества с отрицательными результатами [20]. Определение контаминации живой вакцины посторонней микрофлорой проводили в соответствии ГОСТ 32808-2014 «Средства лекарственные для ветеринарного применения. Вакцины против бруцеллеза животных. Технические условия», в данном стандарте на проведение испытания делается ссылка на ГОСТ 28085 - «Средства лекарственные биологические для ветеринарного применения. Метод бактериологического контроля стерильности» [21-22].

Результаты испытаний

Определение ростовых свойств питательных сред

Для определения ростовых свойств питательных сред были посеяны растворы по 10-100 КОЕ/мл тест-штаммов *St. aureus* в мясо-пептонный бульон (МПБ), *S. sporogenes* в среду Китт-Тароцци (МППБ), а *C. albicans* в среду Сабуро бульон, а в тиогликолевую среду все три тест-штамма. Наблюдение проводилось в течение 14 дней при температурах, указанных в таблице 1. Для проверки концентрации КОЕ микроорганизмов и для подтверждения ростовых свойств питательных сред были использованы те же разведения инокулянтов для посева в Сабуро агар и мясо-пептонный агар (МПА), с дальнейшим инкубированием при температурах, указанных в таблице 1 в течение 48 ч. Во всех испытаниях параллельно использованы отрицательные контроли, т.е. питательные среды инкубированы в тех же условиях, только без инокулята [22]. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты определения ростовых свойств бактериальных питательных сред

Наименование штаммов	Анаэробный/аэробный	Окрашивание по Граму	Температура инкубации (°C)	Результаты роста (сутки) +/-
----------------------	---------------------	----------------------	----------------------------	------------------------------

<i>Staphylococcus aureus</i>	аэробный	грамположительные кокки	37 ± 1	2
<i>Clostridium sporogenes</i>	анаэробный	грамположительные палочки	37 ± 1	3
<i>Candida albicans</i>	аэробный	дрожжи	22,5 ± 2,5	2

При визуальном осмотре: в пробах с тест-штаммами наблюдался рост уже на вторые и третьи сутки. Рост бактерий *Staphylococcus aureus* в МПА наблюдался (круглые с ровными краями, золотистого цвета), а в МПБ и Сабуро бульоне наблюдалось равномерная муть. В то время как в Сабуро агар для *Candida albicans* росли обычные дрожжевые культуры (гладкие колонии, белого цвета с гладкой кремовой текстурой). В среде МППБ рост *Clostridium sporogenes* сопровождался помутнением среды и активным газообразованием. При этом отрицательный контроль был отрицательным результатом, так как наблюдалось отсутствие каких-либо помутнений, изменения цвета. Все полученные результаты согласуются с литературными данными [22]. Таким образом, приготовленные бактериальные среды считаются пригодными для определения контаминации посторонней микрофлорой в испытуемых пробах ИП.

Определение контаминации посторонней микрофлорой

Испытание проводили согласно ГОСТ 28085 п.8.2 «Проведение испытания на стерильность лекарственных средств, содержащих инактивированные микроорганизмы, или микробную и грибную контаминацию лекарственных средств, содержащих живые микроорганизмы без тиогликолевой среды» [22].

Три отобранных флаконов вакцины ресуспендировали в физиологическом растворе до первоначального объема, а затем содержимое каждого флакона объединили в общий флакон с соответствующей вместимостью, с внесением физиологического раствора в соотношении 1:3. Из полученного испытуемого образца проводили посев на жидкие питательные среды: Сабуро бульон, МПБ, МППБ и на твердые питательные среды: Сабуро агар и МПА. Для посева использовали по три пробирки и две чашки с питательной средой. Для выявления аэробных микроорганизмов и факультативно-анаэробных микроорганизмов, высевали 0,5 мл посевного материала в одну пробирку, а для выявления анаэробных микроорганизмов - соответственно по 1 мл.

Пробирки и флаконы с посевами на всех средах, кроме среды Сабуро инкубировали в термостате при температуре (37 ± 1) °С. на среде Сабуро - при температуре (22,5 ± 2,5) °С, в течение 7 суток (для анаэробных препаратов -14 суток). По истечении срока сделали пересев, за исключением посевов на МПА. Пересевали пробы на те же питательные среды и в тех же объемах, что и при посеве. Вторичные посевы инкубировали 7 суток (для анаэробных препаратов - 14 суток). Результаты испытания представлены ниже в таблице 2.

Таблица 2

Результаты определения контаминации посторонней микрофлорой опытно-экспериментальной серии вакцины против бруцеллеза овец и коз из лиофилизированного штамма *Brucella melitensis Rev-1*

Испытуемый материал	№	Бак. среды	Инкубирование посевов образцов на стерильность (сутки)														
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Испытуемая вакцина	1	МППБ	---	---	---	---	---	---	---	---	---	++	++	++	++	++	++
	2	МПБ	---	---	---	---	---	---	---	---	---	++	++	++	++	++	++
	3	МПА	---	---	---	---	---	---	---	---	---	++	++	++	++	++	++
	4	Сабуро ж.	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---

	5	Сабуро тв.	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---
	6	Сабуро тв. ЧП	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
	7	МПА ЧП	--	--	--	--	--	--	--	++	++	++	++	++	++	++
Конт- роль	1	МППБ	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
	2	МПБ	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
	3	МПА	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
	4	Сабуро ж.	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
	5	Сабуро твр.	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
	6	Сабуро тв. ЧП	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
	7	МПА ЧП	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Примечание: минус – нет роста; плюс – есть рост

При визуальном осмотре пробирок, содержащих МППБ на восьмые сутки на дне пробирки вокруг кусочков печени наблюдалось помутнение. На средах МПБ было видно помутнение на дне пробирки, которое при встряхивании поднималось в виде спирали. На МПА были видны изолированные круглые колонии с ровными краями в проходящем свете янтарного цвета. В жидкой и твердой среде Сабуро отсутствует рост культур бактерий и посторонней микрофлоры.

Через 14 суток из всех пробирок сделали мазки и окрашивали по Граму. Мазки просматривали под микроскопом при увеличении 90x10 в 10 полях зрения (рисунок 1).

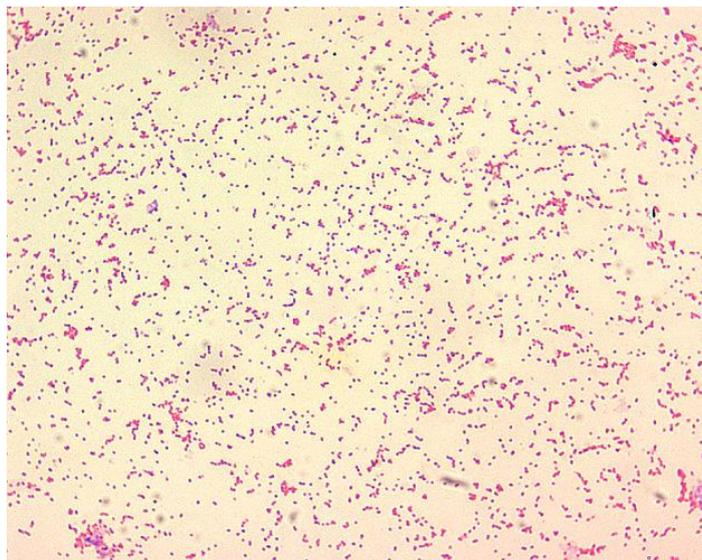


Рисунок 1. Результаты окраски вакцинного штамма *Brucella melitensis* Rev-1 по Граму под микроскопом

В мазке на рисунке 1 присутствует грамотрицательные мелкие коккобациллы без посторонней микрофлоры.

Обсуждение

Процесс изготовления живых бактериальных вакцин связан с повышенным риском контаминации при культивировании производственных штаммов, обусловленной вспомогательными материалами и питательными средами, а также сложностью ее выявления в готовом препарате [23-25]. Учитывая специфику живых бактериальных вакцин, процесс их производства, в первую очередь, должен быть направлен на исключение возможности контаминации микроорганизмами, отличающимися от производственных штаммов. При-

нимая во внимание значимость и сложность оценки контаминации, невозможность определения стерильности бактериальных вакцин, представляющих собой живые микроорганизмы производственных штаммов, а также отсутствие публикаций по данной проблеме, проведение анализа действующих нормативных стандартов по данной проблеме является актуальным [23].

В ходе настоящей работы требовалось решить следующие задачи: провести анализ требований ГОСТ 32808-2014 «Средства лекарственные для ветеринарного применения. Вакцины против бруцеллеза животных. Технические условия» и нормативной документации (НД) к проведению испытания и критериям оценки качества живых бактериальных вакцин при определении наличия посторонних бактерий и грибов и внести предложения по усовершенствованию методики и требований к оценке отсутствия посторонних бактерий и грибов в живых бактериальных вакцинах. В ГОСТ 32808-2014 «Средства лекарственные для ветеринарного применения. Вакцины против бруцеллеза животных. Технические условия», в пункте по определению контаминации посторонней микрофлорой указано что испытание проводится согласно ГОСТ 28085 - «Средства лекарственные биологические для ветеринарного применения. Метод бактериологического контроля стерильности».

Заключение

Таким образом, для подтверждения отсутствия контаминации посторонней микрофлорой новой опытно-экспериментальной серии вакцины против бруцеллеза овец и коз, применяли ГОСТ-ы для оценки качества, позволяющие дифференцировать рост микроорганизмов и контаминантов, вызванных при росте вакцинного штамма.

В настоящее время на территории Республики Казахстан (РК) действует ГОСТ-28085 «Средства лекарственные биологические для ветеринарного применения. Метод бактериологического контроля стерильности», который предназначен для определения стерильности ИП, однако данный ГОСТ не применим для определения контаминации посторонней микрофлоры в живых вакцинах против бруцеллеза животных, в связи с чем в настоящей работе нами было экспериментально применена ГОСТ 32808-2014 «Средства лекарственные для ветеринарного применения. Вакцины против бруцеллеза животных. Технические условия» не действующие в РК.

Согласно ГОСТ-у 32808-2014 «Средства лекарственные для ветеринарного применения. Вакцины против бруцеллеза животных. Технические условия» на средах МПА и МПБ должен быть рост чистой культуры бруцелл, а наличие посторонней микрофлоры не допускается. В мазках, окрашенных по Грамму, должны быть граммотрицательные мелкие коккобациллы. Полученные нами результаты полностью подтверждают заявленные нормы ГОСТ 32808-2014 «Средства лекарственные для ветеринарного применения. Вакцины против бруцеллеза животных. Технические условия». Поэтому, рекомендуется применение вышеуказанного ГОСТа для определения контаминации посторонней микрофлоры в живых вакцинах против бруцеллеза животных.

Работа выполнена в рамках программы BR218004/0223: «Совершенствование мер обеспечения биологической безопасности в Казахстане: противодействие опасным и особо опасным инфекциям» при финансовой поддержке МЗ РК и АО «Национальный холдинг «QazBioPharm» 2023-2025.

ЛИТЕРАТУРА

1. Суханова С.М., Саяпина Л.В., Бердникова З.Е., Тихонова А.С., Климов В.И. Проблемы оценки «стерильности» живых бактериальных вакцин // Проблемы особо опасных инфекций. – 2019. – Вып.3. – С. 87–93. DOI: 10.21055/0370-1069-2019-3-87-93.
2. WHO, Vaccine Standardization. 2019. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.whois.com/biologicals/vaccines/en/>.

3. **Еремина И.А., Лузина Н.И., Кригер О.В.** «Микробиология продуктов растительного происхождения» // Кемеровский технологический институт пищевой промышленности. – 2003. – С. 87.
4. **Lolas A.** The role of microbiology in the design and development of pharmaceutical manufacturing processes // *Pharm. Bioprocess.* – 2014. – Vol 2(2). – P. 125–8.
5. **Суханова С.М., Бердникова З.Е., Захарова Н.Е., Меркулов В.А.** Испытание на стерильность иммунобиологических лекарственных препаратов в России. История вопроса и современные требования // *Профилактика, диагностика, лечение.* – 2018. – Вып. 18 (Ч.1). С. 5–15. <http://doi:10.30895/2221-996X-2018-18-1-5-15>.
6. **Winkler D., Lukaszewicz V.** Long-term analysis of sterility testing of immunobiological preparations // *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* – 1989. – Vol. 33:3. – P.317-322.
7. **England M.R., Stock F., Gebo J.E., Frank K.M., Lau A.F.** Comprehensive Evaluation of Compendial USP <71>, BacT/Alert Dual-T, and Bactec FX for Detection of Product Sterility Testing Contaminants // *J.Clin.Microbiol.* – 2019. – Vol. 57:2. – P. 1548-18. <http://doi:10.1128/JCM.01548-18>.
8. Производство стерильных лекарственных средств. Приложение N 1 к Правилам надлежащей производственной практики (GMP) Евразийского экономического союза [Электрон. ресурс]. URL:- <https://pharmacopoeia.ru/pravila-nadlezhashhej-proizvodstvennoj-praktiki-evrazijskogo-ekonomicheskogo-soyuza>
9. **England M.R., Stock F., Gebo J.E., Frank K.M., Lau A.F.** Comprehensive Evaluation of Compendial USP <71>, BacT/Alert Dual-T, and Bactec FX for Detection of Product Sterility Testing Contaminants // *J.Clin.Microbiol.* – 2019. – Vol. 57:2. – P. 1548-18. <http://doi:10.1128/JCM.01548-18>.
10. **Shiota T.** Microbiology // *J.Am. Dent. Assoc.* – 1956. – Vol. 52:4. – P. 409-11. <http://doi:10.14219/jada.archive.1956.007>
11. **Winkler D., Lukaszewicz V.** Long-term analysis of sterility testing of immunobiological preparations // *J. Hyg. Epidemiol. Microbiol. Immunol.* – 1989. – Vol. 33:3. – P.317-322
12. **Kharitonov DV, Dobriyan EI, П'ина AM.** Study of microbiological background of herbal ingredients and dairyvegetable compositions // *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies.* 2016;69(3):159–163. (In Russ.). <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2016-3-159-163>.
13. **Shur PZ, Zaitseva NV.** Health risk assessment when giving grounds for hygienic criteria of food products safety // *Health Risk Analysis.* 2018;(4):43–56. (In Russ.). <https://doi.org/10.21668/health.risk/2018.4.05>.
14. **Карпова М.Р., Муштоватова Л.С., Бочкарева О.П., Попова Е.В., Зверева И.Ф., Грицута А.В.** // *Методы микробиологического контроля лекарственных средств: учебное пособие.* – Томск: Изд-во СибГМУ, 2017. С. 249.
15. ГОСТ Р 52249-2009 Правила производства и контроля качества лекарственных средств [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/gost-r-52249-2009>.
16. ГОСТ ИСО 14644-1-2002 Чистые помещения и связанные с ними контролируемые среды [Электронный ресурс]. – Режим доступа: http://ohranatruda.ru/ot_biblio/normativ/data_normativ/40/40425/
17. **Nunnally B.K., Turula V.E., Sitrin R.D.,** editors. *Vaccine Analyses: Strategies, Principles, and Control* // Springer-Verlag Berlin Heidelberg; 2015. 665 p. DOI: 10.1007/978-3-662-45024-6.
18. **Sukhanova S.M., Zakharova N.E.** [Microbial Quality of Dehydrated Media Used in the Sterility Testing of Immunobiological Medicinal Products] // *Biopreparaty. Profilaktika, Diagnostika, Lechenie* [BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment].

19. **Kuehn B.M.** FDA: Benefits of rotavirus vaccination outweigh potential contamination risk // JAMA 2010, 304(1), 30-1.
20. **Moyes R.B., Reynolds J., Breakwell D.P.** Differential staining of bacteria: gram stain // J.Curr. Protoc. Microbiol. – 2009. – Vol. 3:3. – P. 3. <http://doi:10.1002/9780471729259.mca03cs15>
21. ГОСТ 32808-2014 «Средства лекарственные для ветеринарного применения. Вакцины против бруцеллеза животных. Технические условия» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://rosgos.ru/file/gost/11/220/gost_32808-2014.pdf
22. ГОСТ 28085—2013 Средства лекарственные биологические для ветеринарного применения. Метод бактериологического контроля стерильности [Электронный ресурс]. – Режим доступа: https://rosgos.ru/11/220/gost_28085-2013.
23. **Мельников В. Л., Митрофанова Н. Н.** Вакцины, вакцинопрофилактика // Учебное пособие. – Пенза: Изд-во ПГУ, 2015. – С. 76
24. **Milstien, J.B.** «Regulation of vaccines: strengthening the science base,» // Journal Public Health Policy. – 2004: 25(2):173–189.
25. **Baylor NW, Midthun K.** «Regulation and testing of vaccines,» In: Plotkin S, Orenstein W, Offit P.A. // Vaccines, 5th edition, Philadelphia: Saunders, 2008

ТІРІ БРУЦЕЛЛЕЗДІК ВАКЦИНАНЫҢ ЭКСПЕРИМЕНТТІК СЕРИЯЛАРЫНЫҢ БӨГДЕ
МИКРОФЛОРАМЕН ЛАСТАНУЫН АНЫҚТАУ

**Молдагулова С.У., Джекебеков К.К., Калимолда Э.Ж., Байseit Т.И., Наханова Г.Ж.,
Алпысбаева С.Е., Зинина Н.Н., Еспембетов Б., Шораяева К.А.**

Иммунобиологиялық препараттардың биологиялық қауіпсіздігінің негізгі критерийлерінің бірі олардың стерильділігі және бөгде микрофлорамен ластануы болып табылады. Бұл мақалада тірі бруцеллездік вакцинаның эксперименттік серияларын бөгде микроорганизмдердің болуына тікелей себу әдісімен бағалау нәтижелері келтірілген. Сондай-ақ, өсірілген дақылдардың микроскопиялық зерттеулері мен морфологиясының нәтижелері ұсынылған. Тірі вакциналардың ерекшелігін ескере отырып, олардың сапасын бақылау процесі өндірістік штаммдардан ерекшеленетін микроорганизмдермен ластану мүмкіндігін болдырмауға бағытталуы керек. Зерттеу деректерін сынау және бағалау МЕМСТ 28085-2013 және МЕМСТ 32808-2014 сәйкес жүргізілді.

DETERMINATION OF CONTAMINATION OF EXPERIMENTAL SERIES OF LIVE BRUCELLOSIS
VACCINE WITH FOREIGN MICROFLORA

**Moldagulova S.U., Jekebekov K.K., Kalimolda E. Zh., Baiseit T.I., Nakhanova G. Zh., Alpybaeva S.
E., Espembetov B.A., Zinina N. N., Shorayeva K.A.**

One of the main criteria for the biological safety of immunobiological preparations is their sterility and contamination by extraneous microflora. This article presents the results of the evaluation of the experimental series of live brucellosis vaccine by direct inoculation for the presence of extraneous microorganisms. Also, the results of microscopic examination and morphology of grown crops are presented. Taking into account the specifics of live vaccines, the process of their production of quality control should be aimed at eliminating the possibility of contamination by microorganisms other than production strains. The test and evaluation of the obtained research data were carried out in accordance with GOST 28085-2013 and GOST 32808-2014.

МАЗМҰНЫ	
Остапчук Е.О., Жигайлова А.В., Перфильева Ю.В., Бисенбай А.О., Мамадалиев С.М., Скиба Ю.А. ҚАЗАҚСТАНДА ҚОЙ МЕН ЕШКІ ШЕШЕГІНІҢ ТАРАЛУЫН БАҚЫЛАУ ЖӨНІНДЕГІ ІС-ШАРАЛАР МЕН БОЛЖАУ ӘДІСТЕРІ	4
Сущих В.Ю., Айтжанов Б.Д., Канатов Б., Каримов А.А., Юсупов М.Р. 2021 ЖЫЛДАН 2023 ЖЫЛҒА ДЕЙІНГІ КЕЗЕҢДЕ ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНДА СІБІР ЖАРАСЫ БОЙЫНША ЭПИЗООТИЯЛЫҚ ЖАҒДАЙ	15
Ибрагимова Н.А., Искакбаева Ж.А., Жумабаева С.М., Красноштанов А.В., Гапурхаева Т.Э. КҮРДЕЛІ КОВИДТІК ПНЕВМОНИЯНЫҢ НЕГІЗГІ ҚОЗДЫРҒЫШЫ РЕТІНДЕ <i>STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE</i> ТУДЫРАТЫН БАКТЕРИЯЛЫҚ ПНЕВМОНИЯНЫ ЕМДЕУДЕ АНТИБИОТИКТИ КҮШЕЙТКІШТІҢ ЭКСПЕРИМЕНТТІК НЕГІЗДЕМЕСІ	22
Мырзахметов Е.Т., Рыскельдинова Ш.Ж., Кожамкулов Е.М., Майлыбаева А.М., Сагимбаева А.М., Акмырзаев Н.Ж., Яманова Е.С., Сидихов Р.Б., Асанжанова Н.Н. ҚР ТҮРЛІ Өңірлеріндегі құс тұмауының серопреваленттілігі	33
Сырым Н.С., Мауленбай А.Д., Султанкулова К.Т., Анарабекова А., Еспембетов Б.А. ЕСКАРЕ ПАТОГЕНДЕРІНДЕГІ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТТІЛІКТІҢ ГЕНОТИПТІК МАРКЕРЛЕРІ: БАКТЕРИОФАГ ТЕРАПИЯСЫН ӨЗІРЛЕУДЕГІ МАҢЫЗЫ	38
Есимбекова Н.Б., Исмагамбетов Б.М., Кайсенов Д.Н., Ершебулов З.Д. БЛУТАНГ ІНДЕТІН ЗЕРТХАНАЛЫҚ ЖАҒДАЙДА БАЛАМАЛАУ ӘДІСТЕРІ	45
Темирбекова А.Ж., Амирханова Н.Т., Аскарлов А.М., Бисенова Г.Н., Текебаева Ж.Б., Бекшин Ж.М. ӘЛЕМДЕГІ ЖӘНЕ ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫНДАҒЫ ЖОҒАРЫ ПАТОГЕНДІ ҚҰС ТҰМАУЫ ЭПИДЕМИОЛОГИЯЛЫҚ ЖӘНЕ ЭПИЗООТОЛОГИЯЛЫҚ ЖАҒДАЙЫ	52
Седова Е.С., Кулатай Т.Ж., Зауатбаева Г.М., Іңірбай Б., Кеер В.В., Шахманова Ж.И., Ларичев В.Ф., Шустов А.В. ВИРУСТЫҚ КОЛЛЕКЦИЯЛАР ҮШІН РЕФЕРЕНТТІК ВИРУСТЫҚ ШТАММДАРДЫ ҚАЛАЙ АЛУҒА БОЛАДЫ? ГЕНДІК ИНЖЕНЕРИЯ ӘДІСІМЕН ТАРИХИ ШТАММДЫ ЖАСАУ ҮЛГІСІН ҰСЫНАМЫЗ	65
Исламов Р.А. КІШІ ПРОПОРЦИЯЛАРЫ БАР ЕКІЛІК ДЕРЕКТЕР ҮШІН ТАҢДАМА ӨЛШЕМІН АНЫҚТАУ	77
Молдагулова С.У., Джекебеков К.К., Қалимолда Э.Ж., Байсент Т.И., Наханова Г.Ж., Алпысбаева С.Е., Зинина Н.Н., Еспембетов Б., Шораева К.А. ТІРІ БРУЦЕЛЛЕЗДІК ВАКЦИНАНЫҢ ЭКСПЕРИМЕНТТІК СЕРИЯЛАРЫНЫҢ БӨГДЕ МИКРОФЛОРАМЕН ЛАСТАНУЫН АНЫҚТАУ	82
СОДЕРЖАНИЕ	
Остапчук Е.О., Жигайлова А.В., Перфильева Ю.В., Бисенбай А.О., Мамадалиев С.М., Скиба Ю.А. МЕТОДИКИ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ВСПЫШЕК И МЕРЫ ПО КОНТРОЛЮ РАСПРОСТРАНЕНИЯ ОСПЫ ОВЕЦ И КОЗ В КАЗАХСТАНЕ	4
Сущих В.Ю., Айтжанов Б.Д., Канатов Б., Каримов А.А., Юсупов М.Р. ЭПИЗООТИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО СИБИРСКОЙ ЯЗВЕ В РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН В ПЕРИОД С 2021 ПО 2023 ГОДЫ	15
Ибрагимова Н.А., Искакбаева Ж.А., Жумабаева С.М., Красноштанов А.В., Гапурхаева Т.Э. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПОТЕНЦИАТОРА АНТИБИОТИКОВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ ПНЕВМОНИИ, ВЫЗВАННОЙ <i>STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE</i>, КАК ОСНОВНОГО ПАТОГЕНА ПРИ ОСЛОЖНЕННОЙ КОВИДНОЙ ПНЕВМОНИИ	22
Мырзахметов Е.Т., Рыскельдинова Ш.Ж., Кожамкулов Е.М., Майлыбаева А.М., Сагимбаева А.М., Акмырзаев Н.Ж., Яманова Е.С., Сидихов Р.Б., Асанжанова Н.Н. СЕРОПРЕВАЛЕНТНОСТЬ ГРИППА ПТИЦ В РАЗНЫХ РЕГИОНАХ РК	33
Сырым Н.С., Мауленбай А.Д., Султанкулова К.Т., Анарабекова А., Еспембетов Б.А. ГЕНОТИПИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ У ПАТОГЕНОВ ЕСКАРЕ: ЗНАЧЕНИЕ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ БАКТЕРИОФАГОВОЙ ТЕРАПИИ	38
Есимбекова Н.Б., Исмагамбетов Б.М., Кайсенов Д.Н., Ершебулов З.Д. МЕТОДЫ ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ БЛУТАНГА	45
Темирбекова А.Ж., Амирханова Н.Т., Аскарлов А.М., Бисенова Г.Н., Текебаева Ж.Б., Бекшин Ж.М. ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКАЯ И ЭПИЗООТОЛОГИЧЕСКАЯ СИТУАЦИЯ ПО ВЫСОКОПАТОГЕННОМУ ПТИЧЬЕМУ ГРИППУ В МИРЕ И РЕСПУБЛИКЕ КАЗАХСТАН	52
Седова Е.С., Кулатай Т.Ж., Зауатбаева Г.М., Иңірбай Б., Кеер В.В., Шахманова Ж.И., Ларичев В.Ф., Шустов А.В. КАК ПОЛУЧИТЬ РЕФЕРЕНСНЫЕ ВИРУСНЫЕ ШТАММЫ ДЛЯ ПОПОЛНЕНИЯ КОЛЛЕКЦИЙ? ПРИМЕР ПОЛУЧЕНИЯ ИСТОРИЧЕСКОГО ШТАММА ПУТЁМ ГЕНЕТИЧЕСКОГО	65

КОНСТРУИРОВАНИЯ	
Исламов Р.А. ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАЗМЕРА ВЫБОРКИ ДЛЯ БИНАРНЫХ ДАННЫХ С МАЛЫМИ ПРОПОРЦИЯМИ	77
Молдагулова С.У., Джекебеков К.К., Қалимолда Э.Ж., Байсеит Т.И., Наханова Г.Ж., Алпысбаева С.Е., Зинина Н.Н., Шораева К.А., Еспембетов Б.А. ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОНТАМИНАЦИИ ПОСТОРОННЕЙ МИКРОФЛОРОЙ НОВОЙ ОПЫТНО-ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ СЕРИИ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БРУЦЕЛЛЕЗА ОВЕЦ И КОЗ	82
CONTENT	
Ostapchuk Y.O., Zhigailov A.V., Perfilyeva Y.V., Bissenbay A.O., Mamadaliyev S.M. , Скиба Ю.А. OUTBREAK PREDICTION METHODS AND MEASURES TO CONTROL THE SPREAD OF SHEEP AND GOAT POX IN KAZAKHSTAN	4
Suchshikh V.Y., B.D. Aitzhanov, B. Kanatov, A.A. Karimov, M.R. Yusupov THE EPIZOOTIC SITUATION OF ANTHRAX IN THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN IN THE PERIOD FROM 2021 TO 2023	15
Ibragimova N.A., Iskakbaeva Zh.A., Zhumabaeva S.M., , Krasnoshtanov A.V., Gapurkhaeva T.E. EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION OF AN ANTIBIOTIC POTENTIATOR IN THE TREATMENT OF BACTERIAL PNEUMONIA CAUSED BY <i>STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE</i> AS THE MAIN PATHOGEN IN COMPLICATED COVID PNEUMONIA	22
Myrzakhmetov E.T., Ryskeldinova Sh.Zh., Kozhamkulov E.M., Mailybaeva A.M., Sagimbayeva A.M., Akmyrzaev N.Zh., Yamanova E.S., Sidikhov R.B., Asanzhanova N. N. SEROPREVALENCE OF AVIAN INFLUENZA IN DIFFERENT REGIONS OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN	33
Syrym N.S., Maulenbay A.D., Sultankulova K.T., Anarbekova A. Yespembetov B.A GENOTYPIC MARKERS OF ANTIBIOTIC RESISTANCE IN ESKAPE PATHOGENS: IMPLICATIONS FOR BACTERIOPHAGE DEVELOPMENT	38
Yessimbekova N., Ismagambetov B., Kaysenov D., Yershebulov Z. METHODS OF LABORATORY DIAGNOSTICS OF BLUETONGUE	45
Temirbekova A.Zh., Amirkhanova N.T., Askarov A.M., Bisenova G.N., Temirkhanov A.Zh., Bekshin Zh.M. EPIDEMIOLOGICAL AND EPIZOOTIOLOGICAL SITUATION OF HIGHLY PATHOGENIC AVIAN INFLUENZA WORLDWIDE AND IN THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN	52
Sedova E.S., Kulatay T.Zh., Zauatbayeva G.M., Ingirbay B., Keyer V.V., Shakhmanova Zh.I., Larichev V.F., Shustov A.V. HOW TO OBTAIN REFERENCE VIRAL STRAINS FOR VIRAL COLLECTIONS? PRESENTING AN EXAMPLE OF CREATING A HISTORICAL STRAIN BY GENETIC ENGINEERING	65
Islamov R.A. SAMPLE SIZE DETERMINATION FOR BINARY DATA WITH SMALL PROPORTIONS	77
Moldagulova S.U., Jekebekov K.K., Kalimolda E. Zh., Baiseit T.I., Nakhanova G. Zh., Alpysbaeva S. E., Espembetov B.A., Zinina N. N., Shorayeva K.A. DETERMINATION OF CONTAMINATION OF EXPERIMENTAL SERIES OF LIVE BRUCELLOSIS VACCINE WITH FOREIGN MICROFLORA	82

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Научно-практический журнал «Особо опасные инфекции и биологическая безопасность» - преемник журнала «Карантинные и зоонозные инфекции в Казахстане», посвященный вопросам эпизоотологии, эпидемиологии, микробиологии, вирусологии, бактериальным особо опасным инфекциям, их мониторингу, обеспечению биологической безопасности. Работы публикуются на языке оригинала (русский, казахский, английский). Рукописи должны соответствовать следующим требованиям:

1. Набор текста в редакторе Microsoft Word версии 6,0 и выше, формат А4, поля – 3 см слева, 1,5 см справа, 2 см снизу и сверху, шрифт Times New Roman, кегль 12, одинарный интервал между строками. Объем рукописей не должен превышать 15 страниц.

2. Рукописи присылаются по электронной почте. Представление работ в электронном варианте **обязательно**. При направлении статьи по электронной почте ее название и авторский коллектив должны быть подтверждены сканированным письмом руководителя учреждения.

3. В рукописи приводятся индекс УДК и ключевые слова, **место работы и e-mail первого автора**, место работы остальных авторов; к ней прилагается резюме (50-100 слов) на языке оригинала и двух других языках издания (допускается представление резюме только на русском языке для последующего перевода в редакции; в этом случае дается перевод использованных узкоспециальных терминов на английский и казахский языки).

4. В оригинальных статьях обязательно указывается характер и объем первичных материалов, а также методика их получения и обработки.

5. Таблицы и рисунки (черно-белые или цветные) должны быть простыми, наглядными и не превышать размеров стандартной страницы А4 **в книжном формате**. Их располагают в тексте работы. Названия таблиц приводятся сверху, а подписи к рисункам снизу. Величина кегля шрифта подписей и обозначений в поле рисунка должна быть, как правило, не меньшего размера, чем кегль шрифта текста рукописи. Минимальный их кегль – 10. Диаграммы приводятся в тексте как вставной элемент Microsoft Excel, таблицы – только в Microsoft Word. Повторение цифровых данных в таблицах, рисунках и тексте не допускается.

6. В перечне использованной литературы желательны ссылки преимущественно на источники приоритетного или обобщающего характера. В тексте рукописи указывается номер источника по списку в квадратных скобках, а не фамилия автора и год

7. В списке литературы (в оригинальных статьях – не более 25 источников, проблемных и обзоров – не более 60, кратких сообщениях – не более 10) приводятся работы отечественных и зарубежных авторов (желательно за последние 10 лет, в порядке упоминания в тексте (независимо от языка, на котором дана работа), а не по алфавиту).

8. Библиографическое описание приводится в следующем порядке: Ф. И. О. авторов (при количестве авторов более 4, приводят не более 3 фамилий), название работы, наименование сборника или журнала, город и издательство, год, номер выпуска, страницы. Ссылки на рукописные источники (диссертации, отчеты) нежелательны и допускаются только с указанием места их нахождения. Наличие транслитерированного (переведенного) списка литературы, следующего за русскоязычным списком.

9. Сокращения в тексте работ, кроме общепринятых, даются отдельным списком или расшифровываются при первом упоминании.

10. Латинские названия животных и растений при первом упоминании приводятся полностью; в последующем они употребляются в кратком варианте. В резюме, с учетом необходимости его перевода на другие языки, следует давать только латинские названия живых организмов.

Редколлегия оставляет за собой право редакции и сокращения присланных работ без согласования с авторами, публикации их в виде кратких сообщений, а также отклонения рукописей, не соответствующих настоящим правилам.

Адрес редколлегии: 050054, Республика Казахстан, г. Алматы, ул. 050054, Казахстан, г. Алматы, Жахангер, 14, ННЦООИ им. М. Айкимбаева, тел. (8727) 2233821, e-mail: основной – NNSCEDI -1@nscedi.kz (с пометкой статья в журнал).