

экспорттауға мүмкіндік бермейді. Сондықтан республикадағы мал шаруашылығының экономикалық рентабельділігін арттыруда аусыл ауруынан жануарлар арасындағы эпизоотиялық жағдайды реттеу жөніндегі зерттеулердің тәжірибелік маңызы жоғары. Эпизоотология, вирусология және серология әдістерін пайдалана отырып, бұл аурудың таралмауына қол жеткізу, өз кезегінде, мониторингтік зерттеулерді пайдалануды, қалыптасқан эпизоотиялық жағдайды белгілеуді, аумақтарды аймақтарға және субаймақтарға бөлуді, аудандастырылған аймақтарда аурумен күресу және оның алдын-алу шараларын әзірлеуді және жүзеге асыруды талап етеді, сондай-ақ жүргізіліп жатқан іс-шаралар мен эпизоотиялық жағдайды жіті бақылауға мүмкіндік береді.

Бұл мақалада аусыл ауруына мониторингтік зерттеулер жүргізудің негізгі критерийлері берілген, олардың дұрыс қолданылуы осы нозологиялық бірлік үшін эпизоотиялық жағдайды ашық бағалаудың кілті болып табылады. Мониторингтің белсенді және пассивті түрлері егжей-тегжейлі жіктелді, іріктеу мөлшерінің есебі берілді, эпизоотиялық бірлік анықталды, эпизоотиялық жағдайды анықтау үшін мониторингтің нақты түріне зерттеуге жататын нысаналы жануарлардың түрлері анықталды.

УДК 615.371:615.015.33
МРНТИ 68.41.35

DOI 10.52578/2305-9397-2024-4-1-306-318

Алпысбаева С.Е., кандидат ветеринарных наук, ассоциированный профессор, **основной автор**, <https://orcid.org/0009-0002-9839-6199>

Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, ул. Б.Момышұлы 15, Н20В1С4, Казахстан, sabira_31@mail.ru

Еспембетов Б. А., кандидат ветеринарных наук, профессор, <https://orcid.org/0000-0003-3312-4045>

Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, ул. Б.Момышұлы 15, Н20В1С4, Казахстан, espembetov@mail.ru

Зинина Н.Н., кандидат ветеринарных наук, <https://orcid.org/0000-0003-3536-5483>

Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, ул. Б.Момышұлы 15, Н20В1С4, Казахстан, zinina1949@mail.ru

Серікбай Е.Б., магистрант, <https://orcid.org/0000-0002-9186-0529>

«Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности», Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, ул. Б.Момышұлы 15, Н20В1С4, Казахстан, y.serikbay@mail.ru

Әбдімұхтар А.Р., научный сотрудник, магистр биотехнологии, <https://orcid.org/0000-0002-4585-7476>

Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, ул. Б.Момышұлы 15, Н20В1С4, Казахстан, azamat_95.96@mail.ru

Мауленбаева М.М., Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, ул. Б.Момышұлы 15, Н20В1С4, Казахстан, Meruyert.maulenbayeva@mail.ru

Баракбаев К.Б., Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, ул. Б.Момышұлы 15, Н20В1С4, Казахстан, k.barakbayev@biosafety.kz

Шораева К.А., Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, ул. Б.Момышұлы 15, Н20В1С4, Казахстан, k.shorayeva@biosafety.kz

Молдагулова С., Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности, Жамбылская область, Кордайский район, пгт. Гвардейский, ул. Б.Момышұлы 15, Н20В1С4, Казахстан, s.moldagulova@biosafety.kz

Alpysbayeva S.E., Candidate of Veterinary Sciences, docent, <https://orcid.org/0009-0002-9839-6199>
Research Institute for Biological Safety Problems, 15 Momyshtuly str., Gvardeyskiy uez of Korday district, Zhambyl region, H20B1C4, Kazakhstan, sabira_31@mail.ru

Yespembetov B.A., Candidate of Veterinary Sciences, Professor, <https://orcid.org/0000-0003-3312-4045>

Research Institute of Biological Safety Problems, Zhambyl region, Kordayskiy district, the village of Gvardeyskiy, 15B. Momyshtuly Street H20B1C4, Kazakhstan, espembetov@mail.ru

Zinina N.N., Candidate of Veterinary Sciences, <https://orcid.org/0000-0003-3536-5483>

Research Institute for Biological Safety Problems, 15 Momyshtuly str., Gvardeyskiy uez of Korday district, Zhambyl region, H20B1C4, Kazakhstan, zinina1949@mail.ru

Serikbay Y.B., Master student, <https://orcid.org/0000-0002-9186-0529>

Research University, 8 Abai Avenue, Medeu district, Almaty, 050010, Republic of Kazakhstan, y.serikbay@mail.ru

Abdimukhtar A.R., research scientist, master of Biology, <https://orcid.org/0000-0002-4585-7476>
Research Institute for Biological Safety Problems, 15 Momyshtuly str., Gvardeyskiy uez of Korday district, Zhambyl region, H20B1C4, Kazakhstan, azamat_95.96@mail.ru

Maulenbayeva M.M., Research Institute for Biological Safety Problems, 15 Momyshtuly str., Gvardeyskiy uez of Korday district, Zhambyl region, H20B1C4, Kazakhstan, sarmyкова.makpal@mail.ru

Barakbayev K.B., Research Institute of Biological Safety Problems, Zhambyl Region, Kordayskiy District, Gvardeyskiy Settlement, B.Momyshtuly Str. 15, H20B1C4, Kazakhstan, k.barakbayev@biosafety.kz

Shoraeva K.A., Research Institute of Biological Safety Problems, Zhambyl Region, Kordayskiy District, Gvardeyskiy Settlement, B.Momyshtuly Str. 15, H20B1C4, Kazakhstan, k.shorayeva@biosafety.kz

Moldagulova S., Research Institute of Biological Safety Problems, Zhambyl Region, Kordayskiy District, Gvardeyskiy Settlement, B.Momyshtuly Str. 15, H20B1C4, Kazakhstan, s.moldagulova@biosafety.kz

**КОМИССИОННЫЕ ИСПЫТАНИЯ КОНЪЮНКТИВАЛЬНОЙ ЖИВОЙ СУХОЙ
ВАКЦИНЫ ПРОТИВ БРУЦЕЛЛЕЗА ОВЕЦ И КОЗ ИЗ ШТАММА BRUCELLA
MELITENSIS REV-1
COMMISSION TESTS OF CONJUNCTIVAL LIVE DRY VACCINE AGAINST
BRUCELLOSIS OF SHEEP AND GOATS FROM THE STRAIN BRUCELLA MELITENSIS
REV-1**

Аннотация

В статье приведены результаты комиссионного испытания физико-химических и биологических свойств экспериментальной серии вакцины против бруцеллеза овец и коз из штамма *Brucella melitensis* Rev-1. При выполнении исследовательских работ использованы бактериологические методы. Наиболее эффективным способом борьбы с бруцеллезом на сегодняшний день считается вакцинация животных. Результаты комиссионных исследований показали, что вакцина соответствует по своим физико-химическим свойствам всем предъявляемым требованиям и пригодна для специфической профилактики против бруцеллеза овец и коз. Комиссионные испытания физико-химических, биологических свойств конъюнктивальной вакцины, изготовленной из штамма *Brucella melitensis* Rev-1 живой сухой против бруцеллеза овец и коз закончены с положительными результатами и протоколы, акты исследований подписаны членами комиссии ТОО «Научно-исследовательский институт проблем биологической безопасности».

На данную вакцину живую сухую конъюнктивальную, изготовленную из штамма *Brucella melitensis* Rev-1, планируется проводить апробационные испытания в условиях Национального референтного центра по ветеринарии Комитета ветеринарного контроля и надзора Министерства сельского хозяйства Республики Казахстан в дальнейшем регистрировать в реестр и получить регистрационные удостоверения на ветеринарные препараты, и применить в овцеводческих хозяйствах.

ANNOTATION

The article presents the results of a commission test of the physicochemical and biological properties of an experimental series of vaccine against ovine and goat brucellosis from the strain *Brucella melitensis* Rev-1. Bacteriological methods were, used in the research. The most effective way to combat brucellosis today is to vaccinate animals. The results of the commission study showed that the vaccine meets all the requirements for its physicochemical properties and is suitable for specific prevention against sheep and goat brucellosis. Commission tests of the physicochemical and biological properties of the conjunctival vaccine made of the strain *Brucella melitensis* Rev-1 live dry against brucellosis of sheep and goats were completed with positive results and protocols, research reports were signed by members of the commission of the Research Institute for Biological Safety Problems.

For this vaccine, live dry conjunctival made from the strain *Brucella melitensis* Rev-1, it is recommended to conduct approbation tests in the conditions of the National Reference Center for Veterinary Medicine of the Committee for Veterinary Control and Supervision of the Ministry of Agriculture of the Republic of Kazakhstan, then register in the register and obtain registration certificates for veterinary drugs, and then apply in sheep farms.

Ключевые слова: *Brucella melitensis*, штамм, конъюнктивальная вакцина, ресуспендирования, массовая доли влаги.

Key words: *Brucella melitensis*, strain, conjunctival vaccine, resuspension, mass fraction of moisture.

Введение. Несмотря на многочисленные исследования, проведенные с целью искоренения бруцеллезной инфекции во всем мире, эпизоотическая ситуация с бруцеллезом по-прежнему вызывает беспокойство и неоднозначна [1-3]. Бруцеллез - бактериальный зооноз, вызываемый микроорганизмами, принадлежащими к роду *Brucella*. Это различные возбудители домашних и диких млекопитающих, обнаруживаемые внутри хозяина. Бруцеллы могут размножаться в профессиональных и непрофессиональных фагоцитах и вызывать тяжелые экономические потери и многие заболевания у людей. Борьба с бруцеллезом имеет большое значение [4-7].

С начала XX века начались исследования и исследования по производству вакцин против бруцеллеза. При разработке вакцин против бруцеллеза использовались инактивированные, живые и грубо аттенуированные вакцины. Инактивированные вакцины были сначала разработаны для предотвращения заболевания, затем для борьбы с бруцеллезом были заменены живые аттенуированные вакцины, которые более эффективны с точки зрения иммуногенности [8-11].

Ветеринарные службы всех стран, за исключением Грузии, Казахстана и Узбекистана, используют рекомендованную на международном уровне стратегию вакцинации целого стада конъюнктивальной вакциной из штамма Рев-1. Пять стран из семи в значительной степени снизили уровень заболеваемости бруцеллезом среди мелких жвачных. Ветеринарные органы Казахстана намерены провести исследование, в ходе которого будут апробированы различные вакцины из штамма *Brucella* на нескольких частных фермерских хозяйствах, охваченных экспериментальным исследованием [12-15].

Вакцины против бруцеллеза являются важным элементом программ борьбы с ним. С тех пор, как вакцинный штамм *Brucella melitensis* Rev-1 был впервые разработан в середине 1950-х годов, он использовался во всем мире, и его значительная ценность для защиты овец и коз в эндемичных странах признана всеми [16-18].

Основанием выполнения настоящей работы послужила использования различных методов в контроле эпизоотического процесса бруцеллеза, особенно в связи с изменившимися в последние годы в стране эпизоотическими, организационно-хозяйственными и социально-экономическими условиями ведения животноводства, никем комплексно не рассматривалась, что и определило цель и задачи исследований.

Цель исследований. Разработка технологии изготовления из штамма *B. melitensis* Rev-1 конъюнктивальной живой сухой вакцины против бруцеллеза овец и коз, и изучение физико-химических и биологических, испытание и оценка защитных свойств.

Материалы и методы. Для проведения испытания использованы лабораторные оборудования (бокс биологической безопасности, класс II (Сингапур), нано-спектрофотометр

Nabi для измерения концентрации бактерий, белков и др. (Южная Корея), шейкер-инкубатор ES-20/60 (Латвия), счетчик бактерий Quantom TX (Южная Корея), термостат электрический с автоматическим терморегулятором, термостат ТСО-1/80СПУ (Россия), рН-метр/иономер ИТАН (Россия), центрифуга HighSpeed Centrifuge CR22N (Германия), низкотемпературный холодильник UFV 700 (Германия), приобретенных в рамках финансовой поддержке Комитета науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (грант № BR218004/0223).

Определение внешнего вида, цвета, наличия посторонней примеси, плесени, трещин во флаконах (ампулах) вакцины против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма *Brucella melitensis* Rev-1 живая сухая, для конъюнктивного применения проводилась согласно ГОСТ 32808-2014 [19].

Для определения внешнего вида, наличия посторонней примеси, плесени, изменения консистенции, трещин во флаконах проводит визуально в проходящем свете. Одновременно проверяют укупорку и плотность флаконов.

Определение времени ресуспендирования (растворимости) вакцины против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма *Brucella melitensis* Rev-1 живая сухая, для конъюнктивного применения проводилась согласно ГОСТ 32808-2014 [19].

Растворимость вакцины определяют путем добавления в 3 флакона стерильного разбавителя (растворителя) в объеме соответствующей объему лиофилизированной вакцины. Содержимое флаконов должно раствориться в пределах 1-2 минут при температуре внешней среды 8-22°C и представляет собой однородную взвесь без осадка.

Определение концентрации водородных ионов (рН) вакцины против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма *Brucella melitensis* Rev-1 живая сухая, для конъюнктивного применения проводилась согласно ГОСТ 32808-2014 [19].

Сущность метода заключается в измерении разности потенциалов между двумя электродами рН-метра, погруженными в исследуемую пробу.

Определение массовой доли влаги вакцины против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма *Brucella melitensis* Rev-1 живая сухая, для конъюнктивного применения проводилась согласно ГОСТ 24061 [20].

Сушильный шкаф проверяли термометрами на равномерность нагрева не реже одного раза в месяц. Для этого три-четыре максимальных термометра размещали на полке в местах, где ставят бюксы с пробами. Расхождение между показаниями отдельных максимальных термометров допускается не более 2,5°C спустя 10 мин после достижения температуры 105°C. При разнице температур в разных точках полки шкафа более чем на 2,5°C шкафом пользоваться не допускается. Проверку на равномерность нагрева проводили для неаттестованных сушильных шкафов.

При высушивании пробы в бюксах нижняя часть электроконтактного (контрольного) термометра должна находиться на уровне бюкса. Показания контрольного термометра являются определяющими для настройки температуры в шкафу. Вентиляционные отверстия сушильного шкафа при сушке проб должны быть открыты.

Весы должны быть установлены в сухом помещении с постоянной температурой на срочном столе без вибраций. Весы и разновесы (гири) должны быть поверены. Результаты всех взвешиваний регистрируют в граммах с точностью до четвертого десятичного знака.

Нижняя часть эксикатора должна быть заполнена обезвоженным хлористым кальцием или гипсом, или силикагелем. Пришлифованные края эксикатора слегка смазывали вазелином.

Для каждого определения должны быть подготовлены три бюксы одинакового диаметра и высоты. Следует применять бюксы высотой не более 45 мм. Диаметр бюксы выбирали в зависимости от массы пробы.

Бюксы и их крышки должны быть пронумерованы, обезжирены, вымыты, высушены при температуре 100-105°C в течение 30 мин, охлаждены до комнатной температуры и находятся в эксикаторе с влагопоглотителем.

Определение иммуногенной активности вакцины проводилась согласно МЭБ [21].

Для испытания используют две группы из шести самок мышей 5-7 недельного возраста.

Подготовка и проведение испытания

Суспензию, содержащую 10^5 КОЕ исследуемой вакцины (тестируемая вакцина), вводить подкожно каждой из шести мышей первой группы (в объеме 0,1 мл/мышь).

Вторая группа будет служить невакцинированной контрольной группой, которой вводят подкожно 0,1 мл физиологического раствора.

Всех мышей заражают через 30 дней после вакцинации (и сразу после 16-часового голодания) внутрибрюшинно суспензии (0,1 мл на мышь), содержащей 2×10^5 КОЕ штамма *Brucella melitensis* 16-M.

Через 15 дней проводят бактериологические высевы, каждая селезенка иссекается асептически, жир удаляется, селезенка взвешивается и гомогенизируется.

Также селезенки можно заморозить и хранить при температуре -20°C от 24 часов до 7 недель.

Каждую селезенку гомогенизируют в асептических условиях с помощью гомогенизатора или ступки с пестиком в девятикратном весе физиологического раствора, pH $6,8 \pm 0,2$ и три последовательных десятикратных разведения (1/10, 1/100 и 1/1000) каждого гомогената, приготовленного в том же разбавителе. По 0,2 мл каждого разведения в 4-х чашках с *Brucella* Base Agar и инкубируют в термостате при $37^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 5 дней.

Колонии бруцелл (*Brucella melitensis* 16-M) должны быть перечислены в разведениях, соответствующих чашкам, показывающим менее 300 КОЕ. Когда на чашках, соответствующих разведению 1/10, колонии отсутствуют, считается, что селезенка заражена пятью бактериями. Эти количества бруцелл на селезенку сначала записываются как X и выражаются как Y, после следующего преобразование: $Y = \log (X/\log X)$. Затем вычисляются среднее значение и стандартное отклонение, которые представляют собой реакцию каждой группы из шести мышей.

Учет результатов:

Условия контрольного эксперимента являются удовлетворительными, когда:

- ответ не вакцинированных мышей (среднее из Y) составляет не менее 4,5;
- ответ мышей, привитых маточной культурой *Brucella melitensis* Rev-1 меньше, чем 2,5;
- среднеквадратическое отклонение для каждой группы из шести мышей не превышает 0,8.

Исследуемая вакцина считается удовлетворительной, если значение иммуногенности, полученное для мышей, вакцинированных данной вакциной, будет значительно ниже значения, полученного для невакцинированных контрольных мышей.

Если репрезентативная серия посевного материала показала хорошие результаты в данном тесте, испытание не требуется повторять в отношении других серий посевного материала или серий вакцины, приготовленных из того же посевного штамма с использованием такого же производственного процесса.

Результаты исследований и их обсуждение. Для определения внешнего вида, наличия посторонней примеси, плесени, изменения консистенции, трещин во флаконах проводили визуально в проходящем свете. Одновременно проверяли укупорку и плотность флаконов. Вакцина представляет собой мелкопористой таблетку, серовато-белого или серовато-желтого цвета, без наличия посторонней примеси, плесени и трещин флаконов.

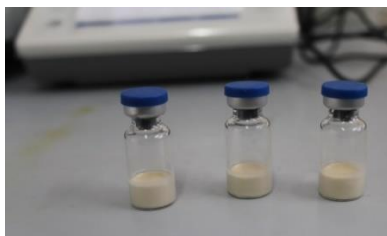


Фото 1 – Внешний вид вакцины против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма *Brucella melitensis* Rev-1 живая сухая, для конъюнктивального применения

Определение времени ресуспендирования (растворимости) и концентрации водородных ионов (pH) вакцины против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма *Brucella melitensis* Rev-1 живая сухая, для конъюнктивального применения проводили следующим образом, растворимость вакцины определяли путем добавления в 3 флакона стерильного растворителя в

объеме, равном объему вакцины до высушивания. Результаты вакцины представлены в таблице 1 и фото 2.



Фото 2 – Определение времени ресуспендирования (растворимости) вакцины против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма *Brucella melitensis* Rev-1 живая сухая, для конъюнктивного применения

Таблица 1 – Результаты растворимости вакцины против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма *Brucella melitensis* Rev-1 живая сухая, для конъюнктивного применения

Наименование вакцины	повторность	раств. t. секунд	Среднее t. секунд	Неопределенность
Вакцина против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма <i>Brucella melitensis</i> Rev-1 живая сухая, для конъюнктивного применения. 10 доз (1 см ³)	1	50		±1,65
	2	52	50	
	3	48		
Вакцина против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма <i>Brucella melitensis</i> Rev-1 живая сухая, для конъюнктивного применения. 25 доз (2 см ³)	1	51		±1,69
	2	50	51	
	3	52		
Вакцина против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма <i>Brucella melitensis</i> Rev-1 живая сухая, для конъюнктивного применения. 50 доз (4 см ³)	1	51		±1,65
	2	49	50	
	3	50		

По результатам проведенных испытаний, растворимость вакцины против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма *Brucella melitensis* Rev-1 живая сухая, для конъюнктивного применения составило 50 -51 мин.

Для испытания определение концентрации водородных ионов (pH) использовали 3 флакона с вакциной и растворителя. Измеряли температуру пробы и устанавливали терморегулятор прибора на полученное значение температуры. Погружали электрод в пробу и через 30 сек. отсчитывали значение pH.

Значение pH устанавливали по трем измерениям каждой пробы, допускаемые расхождения между которыми не должны превышать 0,1 единицы, pH вакцины и растворителя должен быть в пределах 6,9-7,6. Результаты концентрации водородных ионов (pH) лиофилизированной вакцины против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма *Brucella melitensis* Rev-1 живая сухая, для конъюнктивного применения представлены в таблице - 2.

Таблица 2 – Результаты концентрации водородных ионов (pH) вакцины против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма *Brucella melitensis* Rev-1 живая сухая, для конъюнктивального применения

Наименование вакцины	повторность	pH	Ср. знач. pH	Неопределенность
Вакцина против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма <i>Brucella melitensis</i> Rev-1 живая сухая, для конъюнктивального применения. 10 доз (1 см ³)	1	7,00		±0,00262
	2	7,01	7,00	
	3	6,99		
Вакцина против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма <i>Brucella melitensis</i> Rev-1 живая сухая, для конъюнктивального применения. 25 доз (2 см ³)	1	7,03		±0,00263
	2	7,05	7,03	
	3	7,02		
Вакцина против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма <i>Brucella melitensis</i> Rev-1 живая сухая, для конъюнктивального применения. 50 доз (4 см ³)	1	7,04		±0,00263
	2	7,00	7,03	
	3	7,05		
Растворитель	1	7,35		±0,00275
	2	7,33	7,30	
	3	7,34		

По результатам испытания концентрации водородных ионов (pH) вакцины против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма *Brucella melitensis* Rev-1 живая сухая, для конъюнктивального применения во флаконах составило – 7,0-7,3.

Определение массовой доли влаги проводили в трех повторностях, для этого использовали три флакона. В помещении с относительной влажностью не более 50% отобранной пробы помещали в фарфоровую ступку и с помощью пестика доводили до порошкообразного состояния, затем помещали ровным слоем в предварительно взвешенную с крышкой бюксу. Бюксы с пробами закрывали крышками, взвешивали, снимали с них крышки и устанавливали в сушильный шкаф на полку. Началом сушки следует считать время достижения температуры 105°C по контрольному термометру. Продолжительность сушки должна составлять 60 мин.

После окончания сушки бюксы быстро закрывали крышками и переносили их в эксикатор для охлаждения до комнатной температуры не менее 30 мин. после чего бюксы взвешивали и результаты взвешивания записывали с точностью до четвертого десятичного знака. Результаты массовой доли влаги вакцины против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма *Brucella melitensis* Rev-1 живая сухая, для конъюнктивального применения представлены в таблице 3.

Массовую долю влаги X, %, вычисляли по формуле:

$$X = \frac{M_1 - M_2}{M_1 - M_0} * 100 \quad (1)$$

где M_1 - масса бюксы с пробой до высушивания, г;

M_2 - масса бюксы с пробой после высушивания, г;

M_0 - масса бюксы без пробы, г.

Вычисления проводили до четвертого десятичного знака.
Массовая доля влаги должна быть 1,5-3,0 %

Таблица 3 – Результаты массовой доли влаги вакцины против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма *Brucella melitensis* Rev-1 живая сухая, для конъюнктивального применения

Наименование вакцины	повторность	Массовая доля влаги	Ср. знач.	Неопределенность
Вакцина против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма <i>Brucella melitensis</i> Rev-1 живая сухая, для конъюнктивального применения. 10 доз (1 см ³)	1	2,2099448		±0,00961
	2	2,2556391	2,2	
	3	2,2556391		
Вакцина против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма <i>Brucella melitensis</i> Rev-1 живая сухая, для конъюнктивального применения. 25 доз (2 см ³)	1	2,869288		±0,00804
	2	2,7044855	2,8	
	3	2,9239766		
Вакцина против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма <i>Brucella melitensis</i> Rev-1 живая сухая, для конъюнктивального применения. 50 доз (4 см ³)	1	2,431866	2,6	±0,00762
	2	2,64436		
	3	2,696629		

По результатам проведенных испытаний, массовая доля влаги вакцины против бруцеллеза овец и коз изготовленная из штамма *Brucella melitensis* Rev-1 живая сухая, для конъюнктивального применения составило - 2,2 % - 2,8 %.

Определение иммуногенной активности вакцины. Для испытания использовали две группы из шести самок мышей 5-7 недельного возраста. Суспензию, содержащую 10⁵ КОЕ исследуемой вакцины (тестируемая вакцина), вводили подкожно каждой из шести мышей первой группы (в объеме 0,1 мл/мышь), 0,1 мл физиологического раствора вводили подкожно невакцинированной контрольной второй группе. Затем через 30 дней после вакцинации (и сразу после 16-часового голодания) всех мышей заражали внутрибрюшинно суспензией (0,1 мл на мышь), содержащей 2 × 10⁵ КОЕ штамма *Brucella melitensis* 16-М.

Через 15 дней проводили бактериологические высевы. После чего, селезенку каждой мыши брали в асептических условиях, удаляя жир, взвешивая и каждую селезенку гомогенизируем с помощью ступки и пестиком и стерильным песком, добавляя физиологический раствор в девятикратном весе, с pH 6,8 ± 0,2 и делаем три последовательных десятикратных разведения (1/10, 1/100 и 1/1000) каждого гомогената, приготовленного в том же разбавителе. Затем полученную суспензию распределяем по 0,2 мл каждого разведения в 4-е чашки с *Brucella* Agar Base с добавками и инкубировали в термостате при 37°C ± 2°C в течение 5 дней. Через 5 дней учитывали результаты выросших колоний. В первой опытной группе выросло 54 бруцеллезных колонии из селезенки. Выросшие изолированные колонии пересеивали на плотную питательную среду ВАВ с добавками. Посевной материал вновь помещали в термостат при температуре 37,0 °C на 2 дня. Из изолированных колоний по истечению 48 часов готовили суспензию на физиологическом растворе (0,9 %) содержащие в 1 см³ 1 млрд. м.к. (по стандарту мутности). Полученную бруцеллезную суспензию из 54

изолированных колоний посадили в чашки Петри с плотной питательной средой ВАВ содержащие антибиотики пенициллин, стрептомицин в дозах 2,5-5 ЕД/см³, а также провели посев суспензии на контрольную среду ВАВ без антибиотиков. Посевные материалы вновь поместили термостат при температуре 37,0 °С. Через 5 суток инкубирования посевов при визуальной осмотре отмечали типичный рост бруцелл на плотной питательной среде ВАВ не содержащий антибиотиков (контроль), и на плотной питательной среде ВАВ содержащий 2,5-5 ЕД/см³ стрептомицин. А на среде содержащий пенициллин 2,5-5 ЕД/см³ - рост бруцеллезных культур отсутствовал. По результатам проведенных исследований установлено, что выделенные изолированные колоний от животных опытных групп подтверждают исходные типовые свойства вакцинного штамма *Brucella melitensis* Rev-1. Результаты выросших колоний приведены в таблице 4.

Приведенные данные из таблицы 4 выросших колоний бруцелл *Brucella melitensis* Rev-1 и *Brucella melitensis* 16-M вычисляли по формуле:

$$Y = \log (X/\log X).$$

I опытная группа (B.melitensis Rev-1)

Среднее значение первой группы в разведении 1/10

$$Y = \log (9/\log 9)$$

$$Y = 0,97$$

Среднее значение первой группы в разведении 1/100

$$Y = \log (5/\log 5)$$

$$Y = 0,85$$

Среднее значение первой группы в разведении 1/1000

$$Y = \log (2/\log 2)$$

$$Y = 0,82$$

II контрольная группа (B.melitensis 16 M)

Среднее значение второй группы в разведении 1/10

$$Y = \log (1200000/\log 1200000)$$

$$Y = 5,29$$

Среднее значение второй группы в разведении 1/100

$$Y = \log (871000/\log 871000)$$

$$Y = 5,16$$

Среднее значение второй группы в разведении 1/1000

$$Y = \log (584000/\log 584000)$$

$$Y = 5,00$$

По завершению эксперимента после заражения опытных животных показатель среднего значение Y эталонного штамма *Brucella melitensis* 16 M у не вакцинированных мышей составляло – 5,15.

А у привитых мышей вакциной *Brucella melitensis* Rev-1 показатель среднего Y показало – 0,88.

Среднеквадратическое отклонение для каждой группы из шести мышей не превышало – 0,8.

Анализ данных литературы свидетельствует о том, что вакцинация является одним из наиболее эффективных средств защиты человека и животных от бруцеллеза. Живые вакцины против бруцеллы считаются эффективными для животных.

Таблица 4 – Результаты выросших колоний из посевного материала от опытной и контрольной группы животных

п/н жи вот ных	Количество выросших колоний, разведения (1/10; 1/100; 1/1000) и номер чашки Петри														
	1/10				среднее значение	1/100				среднее значение	1/1000				среднее значение
	1	2	3	4		1	2	3	4		1	2	3	4	
I опытная группа (B.melitensis Rev-1)															
1	3	2	2	2	9	1	2	-	2	5	1	1	-	1	2
2	2	2	1	1		2	2	1	1		-	1	1	-	
3	4	5	2	6		1	-	2	-		1	-	1	-	
4	1	3	4	5		1	1	2	-		1	-	-	-	
5	2	2	-	1		2	1	-	1		-	-	-	1	
6	-	1	3	-		-	1	2	-		-	1	2	-	
II контрольная группа (B.melitensis 16 M)															
1	47321	46928	53428	51365	1200000	33613	33220	39720	37657	871000	21655	21262	27762	25699	584000
2	43766	48128	46184	45582		30058	34420	32476	31874		18100	22462	20518	19916	
3	45899	52181	47384	45780		32191	38473	33676	32072		20233	26515	21718	20114	
4	44553	56801	54585	53673		30845	43093	40877	39965		18887	31135	28919	28007	
5	43752	50282	44726	45928		30044	36574	31018	32220		18086	24616	19052	20262	
6	55535	60282	56796	59141		41827	46574	43080	45433		29869	34616	31122	33475	

Полученные результаты свидетельствуют, что вакцины против бруцеллеза овец и коз из штамма *Brucella melitensis* Rev-1 живой сухой во флаконах все параметры соответствуют требованиям. Таким образом, достигнута цель научно-исследовательской работы по изготовлению вакцины из штамма *Brucella melitensis* Rev-1.

В данной работе были изучены влияния физико-химических факторов на биологическую активность вакцины изготовленная из штамма *Brucella melitensis* Rev-1. Следовательно, отработанные параметры может использоваться для изготовления вакцины живой сухой против бруцеллеза овец и коз.

Финансирование: Исследование выполнено при финансовой поддержке Комитета науки Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (грант № BR218004/0223).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Page, M.J. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews [Text] / M.J. Page // BMJ 2021, 372, 71. [CrossRef] [PubMed]
- 2 Verdiguél-Fernández, L. *Brucella melitensis* omp31 mutant is attenuated and confers protection against virulent *Brucella melitensis* challenge in BALB [Text] / L. Verdiguél-Fernández // Microbiol. Biotechnol. 2020, 30, 497-504. [CrossRef]
- 3 Li, Z. Development and evaluation of in murine model, of an improved live-vaccine candidate against brucellosis from to *Brucella melitensis* vjbR deletion mutant. [Text] / Z. Li et al. // Microb. Pathog. 2018, 124, 250–257. [CrossRef]
- 4 ФАО/ВОЗ //Региональное совещание по борьбе с бруцеллёзом в Центральной Азии и Восточной Европе [Текст] // ФАО/ВОЗ, 09-11 апреля 2013 г., - Измир, Турция.
- 5 Menachem Banai Control of small ruminant brucellosis by use of *Brucella melitensis* Rev.1 vaccine: Laboratory aspects and field observations. January 2003. [Text] / Menachem Banai Veterinary Microbiology 90(1-4):497-519. DOI: 10.1016/S0378-1135(02)00231-6. Source PubMed.
- 6 Zhang, J. The *Brucella melitensis* M5-90ΔmanB live vaccine candidate is safer than M5-90 and confers protection against wild-type challenge in BALB/c mice [Text] / J. Zhang // Microb. Pathog. 2017, 112, 148–155. [CrossRef]
- 7 Verdiguél-Fernández, L. *Brucella melitensis* virulent challenge in BALB [Text] / Verdiguél- L. Fernández //Microbiol. Biotechnol. 2020, 30, 497–504. [CrossRef]
- 8 Jacob, J.M. Characterization of *Brucella abortus* S19 as a challenge strain for use in a mouse model of brucellosis [Text] / J.M. Jacob // Microbes Infect. 2021, 23, 104809. [CrossRef]
- 9 Sadeghi, Z. Mannosylated chitosan nanoparticles loaded with FliC antigen as a novel vaccine candidate against *Brucella melitensis* and *Brucella abortus* infection [Text] / Z. Sadeghi // Biotechnol. 2020, 310, 89–96. [CrossRef]
- 10 Abkar, M. Oral immunization of mice with Omp31-loaded N-trimethyl chitosan nanoparticles induces high protection against *Brucella melitensis* infection [Text]/ M. Abkar //Fasihi-Ramandi, M.; Kooshki, H.; Lotfi, A.S. Int. J. Nanomed. 2017, 12, 8769. [CrossRef]
- 11 Maleki, M. Preparation of a nanovaccine against *Brucella melitensis* M16 based on PLGA nanoparticles and oligopolysaccharide antigen [Text] / M. Maleki // Cells Nanomed. Biotechnol. 2019, 47, 4248–4256. [CrossRef]
- 12 Golshani, M. Evaluation of Poly (I: C) and combination of CpG ODN plus Montanide ISA adjuvants to enhance the efficacy of outer membrane vesicles as an acellular vaccine against *Brucella melitensis* infection in mice [Text] / M. Golshani // Int. Immunopharmacol. 2020, 84, 106573. [CrossRef] [PubMed]
- 13 Zhu L. Comparison of immune effects between *Brucella* recombinant Omp10-Omp28-L7/L1 proteins expressed in eukaryotic and prokaryotic systems [Text]/ Zhu // Vet. Sci. 2020, 7, 576. [CrossRef] [PubMed]
- 14 Laine, C.G. Global Estimate of Human Brucellosis Incidence [Text] / C.G. Laine //Emerg. Infect. Dis. 2023, 29, 1789–1797. [CrossRef]
- 15 Franco, M. Human brucellosis [Text] / M. Franco // Infect. Dis. 2007, 7, 775–786. [CrossRef]
- 16 Hou H. The advances in brucellosis vaccines [Text]: // Hou, H.; Liu, X.; Peng, Q. Vaccine 2019, 37, 3981–3988. [CrossRef]
- 17 Gomez, L. Multivalent Fusion DNA Vaccine against *Brucella abortus* [Text] / L. Gomez // Int. 2017, 2017, 6535479. [CrossRef]

- 18 Moreno, E. The role of neutrophils in brucellosis [Text]/ E. Moreno // Mol. Biol. Rev. 2020, 84, e00048-e20. [CrossRef] [PubMed]
- 19 ГОСТ 32808- 2014 Средства лекарственные для ветеринарного применения. Вакцины против бруцеллеза животных. Технические условия.
- 20 ГОСТ 24061 - 2012 Средства лекарственные биологические лиофилизированные для ветеринарного применения. Метод определения массовой доли влаги.
- 21 WOAH Terrestrial Manual 2022. BRUCELLOSIS (INFECTION WITH B. ABORTUS, B. MELITENSIS AND B. SUI. CHAPTER 3 .1. 4 . P. 36-37.

REFERENCES

- 1 Page, M.J. The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews [Text] / M.J. Page // BMJ 2021, 372, 71. [CrossRef] [PubMed]
- 2 Verdiguél-Fernández, L. Brucella melitensis omp31 mutant is attenuated and confers protection against virulent Brucella melitensis challenge in BALB [Text] / L. Verdiguél-Fernández // Microbiol. Biotechnol. 2020, 30, 497-504. [CrossRef]
- 3 Li, Z. Development and evaluation of in murine model, of an improved live-vaccine candidate against brucellosis from to Brucella melitensis vjbR deletion mutant. [Text] / Z. Li et al. // Microb. Pathog. 2018, 124, 250–257. [CrossRef]
- 4 FAO/VOZ //Regional'noe soveshchanie po bor'be s brucellyozom v Central'noj Azii i Vostochnoj Evrope [Tekst] // FAO/VOZ, 09-11 aprelya 2013 g., - Izmir, Turkiya.
- 5 Menachem Banai Control of small ruminant brucellosis by use of Brucella melitensis Rev.1 vaccine: Laboratory aspects and field observations. January 2003. [Text] / Menachem Banai Veterinary Microbiology 90(1-4):497-519. DOI: 10.1016/S0378-1135(02)00231-6. Source PubMed.
- 6 Zhang, J. The Brucella melitensis M5-90ΔmanB live vaccine candidate is safer than M5-90 and confers protection against wild-type challenge in BALB/c mice [Text] / J. Zhang // Microb. Pathog. 2017, 112, 148–155. [CrossRef]
- 7 Verdiguél-Fernández, L. Brucella melitensis virulent challenge in BALB [Text] / Verdiguél- L. Fernández //Microbiol. Biotechnol. 2020, 30, 497–504. [CrossRef]
- 8 Jacob, J.M. Characterization of Brucella abortus S19 as a challenge strain for use in a mouse model of brucellosis [Text] / J.M. Jacob // Microbes Infect. 2021, 23, 104809. [CrossRef]
- 9 Sadeghi, Z. Mannosylated chitosan nanoparticles loaded with FliC antigen as a novel vaccine candidate against Brucella melitensis and Brucella abortus infection [Text] / Z. Sadeghi // Biotechnol. 2020, 310, 89–96. [CrossRef]
- 10 Abkar, M. Oral immunization of mice with Omp31-loaded N-trimethyl chitosan nanoparticles induces high protection against Brucella melitensis infection [Text]/ M. Abkar //Fasihi-Ramandi, M.; Kooshki, H.; Lotfi, A.S. Int. J. Nanomed. 2017, 12, 8769. [CrossRef]
- 11 Maleki, M. Preparation of a nanovaccine against Brucella melitensis M16 based on PLGA nanoparticles and oligopolysaccharide antigen [Text] / M. Maleki // Cells Nanomed. Biotechnol. 2019, 47, 4248–4256. [CrossRef]
- 12 Golshani, M. Evaluation of Poly (I: C) and combination of CpG ODN plus Montanide ISA adjuvants to enhance the efficacy of outer membrane vesicles as an acellular vaccine against Brucella melitensis infection in mice [Text] / M. Golshani // Int. Immunopharmacol. 2020, 84, 106573. [CrossRef] [PubMed]
- 13 Zhu L. Comparison of immune effects between Brucella recombinant Omp10-Omp28-L7/L1 proteins expressed in eukaryotic and prokaryotic systems [Text]/ Zhu // Vet. Sci. 2020, 7, 576. [CrossRef] [PubMed]
- 14 Laine, C.G. Global Estimate of Human Brucellosis Incidence [Text] / C.G. Laine //Emerg. Infect. Dis. 2023, 29, 1789–1797. [CrossRef]
- 15 Franco, M. Human brucellosis [Text] / M. Franco // Infect. Dis. 2007, 7, 775–786. [CrossRef]
- 16 Hou H. The advances in brucellosis vaccines [Text]: // Hou, H.; Liu, X.; Peng, Q. Vaccine 2019, 37, 3981–3988. [CrossRef]
- 17 Gomez, L. Multivalent Fusion DNA Vaccine against Brucella abortus [Text] / L. Gomez // Int. 2017, 2017, 6535479. [CrossRef]
- 18 Moreno, E. The role of neutrophils in brucellosis [Text]/ E. Moreno // Mol. Biol. Rev. 2020, 84, e00048-e20. [CrossRef] [PubMed]

19 GOST 32808- 2014 Sredstva lekarstvennyye dlya veterinarnogo primeneniya. Vakciny protiv brucelleza zhivotnyh. Tekhnicheskie usloviya.

20 GOST 24061 - 2012 Sredstva lekarstvennyye biologicheskie liofilizirovannye dlya veterinarnogo primeneniya. Metod opredeleniya massovoj doli vlagi.

21 WOAH Terrestrial Manual 2022. BRUCELLOSIS (INFECTION WITH B. ABORTUS, B. MELITENSIS AND B. SUISS. CHAPTER 3 .1. 4 . R. 36-37.

ТҮЙІН

Мақалада, *Brucella melitensis* Rev-1 штаммынан қой мен ешкінің бруцеллезіне қарсы вакцинаның эксперименттік сериясының физикалық-химиялық және биологиялық қасиеттерін комиссиялық сынау нәтижелері келтірілген. Зерттеу жұмыстарын орындау кезінде бактериологиялық әдістер пайдаланылды. Бүгінгі таңда бруцеллезбен күресудің неғұрлым тиімді тәсілі жануарларды вакцинациялау болып табылады. Комиссиялық зерттеулердің нәтижелері вакцина өзінің физикалық-химиялық қасиеттері бойынша барлық қойылатын талаптарға сәйкес келетінін және қой мен ешкінің бруцеллезіне қарсы ерекше профилактикаға жарамды екенін көрсетті. Қойлар мен ешкілердің бруцеллезіне қарсы құрғақ тірі Rev-1 *Brucella melitensis* штаммынан жасалған конъюнктивальдық вакцинаның физикалық-химиялық, биологиялық қасиеттерін комиссиялық сынау оң нәтижелермен аяқталды және хаттамалар, зерттеу актілеріне «Биологиялық қауіпсіздік проблемалары ғылыми-зерттеу институты» ЖШС комиссиясының мүшелері қол қойылды.

Brucella melitensis Rev-1 штаммынан дайындалған осы тірі құрғақ конъюнктивальды вакцинаға Қазақстан Республикасы Ауыл шаруашылығы министрлігі Ветеринариялық бақылау және қадағалау комитетінің Ветеринария жөніндегі ұлттық референттік орталығы жағдайында апробациялық сынақтар жүргізу, одан әрі тізілімге тіркеп, ветеринариялық препараттарға тіркеу куәліктерін алып, қой шаруашылығында қолдануға мүмкіндіктеріне қол жеткіздіру болып табылады.