

М. Умитжанов, О.Т. Туребеков, Г.К. Омарбекова, Г.Е. Мухитдинова*

*НАО «Казахский Национальный Аграрный Исследовательский Университет»,
г. Алматы, Республика Казахстан, m.umitghanov@mail.ru*, orken_tur@mail.ru,
super.flores@mail.ru, Gulnare-07@mail.ru*

ТЕСТИРОВАНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКОГО СОСТАВА ИНАКТИВИРОВАННОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА ПТИЦ

Аннотация

Полученные данные могут быть использованы при контроле различных живых и неживых вакцин со сложным составом ингредиентов, включающим пролонгаторы, стабилизаторы, сорбенты, иммуностимуляторы и выяснении характера их взаимоотношений в составе конечного продукта, а также для полной характеристики используемой вакцины или же при выяснении вредных и безвредных, иммуногенных, или реактогенных свойств *in vitro*.

Выявлены остатки, способные сохранить в виде фрагментов исходной фибриллярной структуры отдельного биологического субстрата, входящего в состав вакцины в качестве биостимулятора неспецифического фактора иммунитета.

Таким образом, изучение морфологического состава биологических препаратов на модели вакцины против пастереллеза птиц со сложным биохимическим составом показало наличие сохранности многих микроскопических структур, что позволяет судить о первоначальных компонентах нерастворимых частиц и детритов или же их дериватов после сложных биотехнологических и биохимических процессов *in vitro*.

Морфологический состав вакцинного субстрата изучали на цифровом микроскопе LeicaDM-400B.

Существующие до сегодняшнего дня инактивированные вакцины против пастереллеза птиц не тестированы и не изучены, за исключением инактивированной вакцины против пастереллеза птиц, предложенной авторами М. Umitghanov, K. Zh. Kushaliev et. al. [2-3].

В остальных случаях мы не имеем возможность говорить о сохранности микроскопических структур инактивированной вакцины, предложенных другими авторами. Это касается следующих биологических препаратов в частности к разработанным вакцинам Гусева А.А., Русалева В.С., Сосницкий А.И., Гневашева В.М., Прунтовой О.В. Способ изготовления эмульсионной противопастереллезной вакцины; Бородиной О.В. Разработка инактивированной эмульсионной вакцины против пастереллеза птиц; Леонова А.В. Разработка и испытание сухой живой вакцины против пастереллеза птиц; Рождественской Т.Н. Создание комплексной системы профилактики бактериальных болезней птиц в хозяйствах промышленного типа; Новиковой О.Б. Разработка способов профилактики и усовершенствование методов диагностики бактериальных болезней птиц. По вышеуказанным инактивированным вакцинам авторы не описывают морфологический состав, а лишь представляют информацию об их эффективности [4-10].

Ключевые слова: *Тестирование морфологического состава инактивированной вакцины, Pasteurella multocida, 6%-ного геля гидратаоксида алюминия, аминный азот, сыворотка крови лошадей, сахароза, NaCl, двузамещенный фосфорнокислый натрий, 40%-ная глюкоза.*

Введение

Изучение морфологического состава той или иной вакцины необходимо для контроля наличия стабильности в составе добавляемых ингредиентов и после конструирования биопрепарата. Особенно это важно в случаях возникновения побочных поствакцинальных

клинико-морфологических осложнений, в виде выраженных повреждающих действий вредными, токсическими или же несовместимыми для организма компонентами. Многие биологические препараты, имея свои особенности по исходному составу, могут содержать различные по количеству и качеству компоненты, с учетом физико-химических и биологических свойств органического и неорганического характера, неспецифического и специфического иммунного материала. Исследования вакцины требуются не только для объективного контроля, но и для стандартизации биологических препаратов по их качественным и количественным морфологическим характеристикам в конечном продукте.

В этой связи, была поставлена задача изучить макро- и микроморфологический качественный и количественный состав вакцины после сложных физико-химических и биотехнологических процессов, происходящих при совместном взаимодействии, а также совместимость между собой комплекса компонентов перед и после парентерального введения ее птицам с целью выявления возможности проявления синергизма или анэргизма их действий среди компонентов.

Изучая морфоструктурные элементы жидкой инактивированной вакцины, содержащей различные биохимические и химические реагенты, было уделено внимание, прежде всего, протективному антигену, т.е. морфологической характеристике и возможным изменениям после полифакторных воздействий на пастерелл, позволяющее оценить состояние и соотношения компонентов для характеристики иммунологической и эпизоотологической эффективности конечного продукта. Наряду с этим, на светооптическом уровне рассматривали взаимодействие антигена с другими морфологическими структурами вакцинного субстрата, в частности уделяли внимание феномену адгезии микроба к депонирующему субстрату (гидрату окиси алюминия) и другим морфологическим компонентам.

При этом нас интересовала морфология инактивированных пастерелл, различной варибельности их форм, размеров, степени проявления адгезивности к частицам гидроокиси алюминия как адсорбенту, поглощение азуром последним. Одним из аспектов являлся так же характер структур пастерелл оставшихся неповрежденными в морфологическом плане, а также характер их повреждения, чтобы иметь представление о биологическом препарате; на светооптическом уровне исследований определить критерии оценки морфологических проявлений основных компонентов вакцины, а также оценить и сопоставить иммуноморфологические процессы в случае проявления поствакцинальных осложнений.

Методы и материалы

Для изучения поставленных задач из жидкой инактивированной вакцины против пастереллеза птиц, серия №7, контроль №7, сроком годности до июля 2005 года, изготовленной в лаборатории болезней птиц и пчел, приготовили мазки на предметных стеклах. Мазки в дальнейшем были окрашены общеизвестными методами по Романовского-Гимза и по Граму, в качестве контроля готовили мазки из культур вакцинного штамма, а также изучали структуру частиц гидроокиси алюминия и других компонентов вакцины в отдельности.

В соответствии с предварительным патентом от 17 февраля 2003 года жидкая инактивированная вакцина против пастереллеза птиц состояла из бактерий *Pasteurella multocida* A 46 № 576 (10 млрд.к. в 1 см³) - 79,0 – 81,0 см³; 6%-ного геля гидрата окиси алюминия – 19,0-21,0 см³, 180 мг% аминного азота на 100 см³ препарата [1]. Кроме основных компонентов, в составе конечного продукта имелась сыворотка крови лошадей, сахара, NaCl, двузамещенный фосфорнокислый натрий, 40%-ная глюкоза.

Морфологический состав вакцинного субстрата изучали на цифровом микроскопе LeicaDM-400B.

Биометрические исследования бактерий (пастерелл) и других морфологических структур в мазках из готовой вакцины проводили с использованием микрометра МОВ-1-15^x. Для сопоставления данных осадок растворов двузамещенного фосфорнокислого натрия (0,9 мас.%), NaCl (0,5 мас.%), 40%-ой глюкозы (0,4 мас.%), раствора сахарозы (4,0

мас.%) подвергали исследованию отдельно в чистом виде, после приготовления с имитацией (выдержкой) биотехнологических параметров, предусмотренных в соответствующей НТД.

Существующие до сегодняшнего дня инактивированные вакцины против пастереллеза птиц не тестированы и не изучены, за исключением инактивированной вакцины против пастереллеза птиц, предложенной авторами М. Umizhanov, K. Zh. Kushaliev et. al. [2-3].

В остальных случаях мы не имеем возможность говорить о сохранности микроскопических структур инактивированной вакцины, предложенных другими авторами. Это касается следующих биологических препаратов:

1. Гусев А.А., Русалеев В.С., Сосницкий А.И., Гневашев В.М., Прунтова О.В. Способ изготовления эмульсионной противопастереллезной вакцины. Патент RU 2 162 339 C1; A61K 39/102, A61L2/16 C 12 N1/00.- 2001

3. Бородина О.В. Разработка инактивированной эмульсионной вакцины против пастереллеза птиц.- Саратов, 2005.- С.20.- Автореф. дисс. к.б.н.

4. Леонов А.В. Разработка и испытание сухой живой вакцины против пастереллеза птиц.- Оболенск, 2005.-С.20.- Автореф. дисс. к.б.н.

5. Рождественская Т.Н. Создание комплексной системы профилактики бактериальных болезней птиц в хозяйствах промышленного типа.- Санкт-Петербург, 2011.-С.52.- Автореф. дисс. д.в.н.

6. Новикова О.Б. Разработка способов профилактики и усовершенствование методов диагностики бактериальных болезней птиц.- Санкт-Петербург, 2021.-С.45.- Автореф. дисс. д.в.н.

По вышеуказанным инактивированным вакцинам авторы не описывают морфологически состав, а лишь представляют информацию об их эффективности [4-10].

Результаты и обсуждение

В качестве руководства и контроля при проведении морфологических исследований использовали наставление по применению, НТД по изготовлению вакцины и предпатент на вакцину для выявления возможных остаточных структур компонентов в биологическом препарате.

Изучение структуры пастерелл в жидкой инактивированной вакцине, содержащей наряду с гидроокисью алюминия и другие компоненты, показало неоднородность форм пастерелл, как основного компонента препарата, вызывающего в организме птиц специфический иммунный ответ. Среди них выявляли как цельные, так и видоизмененные пастереллы, не отличающиеся по морфологии от свежевыделенных или же эталонных культур. При этом различали также нехарактерные изменения для пастерелл со своеобразными морфоструктурными проявлениями. Оба вида пастерелл окрашивались преимущественно в темно-синий цвет, за исключением отдельных бактерий. По их морфоструктурной характеристике различали мелкие, средние и более крупные экземпляры.

Самые мелкие пастереллы размером 0,3 x 0,2 мкм или 0,3 x 0,3 мкм встречались в очень большом количестве среди всех морфологических биологических структур, окрашенные базофильно в темно-синий цвет, чаще изолированно по 1-2 бактерии, а иногда - от 10 до 32 и больше в виде полиморфных крупных агрегатов. Находили шаровидные, палочковидные, округло-овальные и бесформенные экземпляры, агрегированные между собой в результате взаимодействия с другими компонентами вакцины в процессе ее изготовления или в процессе приготовления и окраски мазков. При этом многие из них были с потерей наружной оболочки и отслоением ее в виде детритов, а также в межполюсных просветленных участках с незначительной эозинофилией (на рисунках 1 и 2).

В агрегатах среди большого количества бактериальных клеток доминируют биполяры с одиночным полюсом (на рисунке 3). Они напоминают скопления многочисленных мелкогранулярных структур в поле зрения микроскопа. Размеры скоплений достигали длины от 5 мкм до 10 мкм, а ширина доходила до 0,5 мкм. Среди дезинтегрированных мелкогранулярных образований можно было видеть еще и мелкие с темно-синей окраской образования, по-видимому, являющиеся биохимическими субстратами вакцины. Мелкие и

крупные агрегаты встречались в одном поле зрения в количестве от 1 до 4 (на рисунке 4) с проявлением тенденции гранулярных структур к аккумуляции.

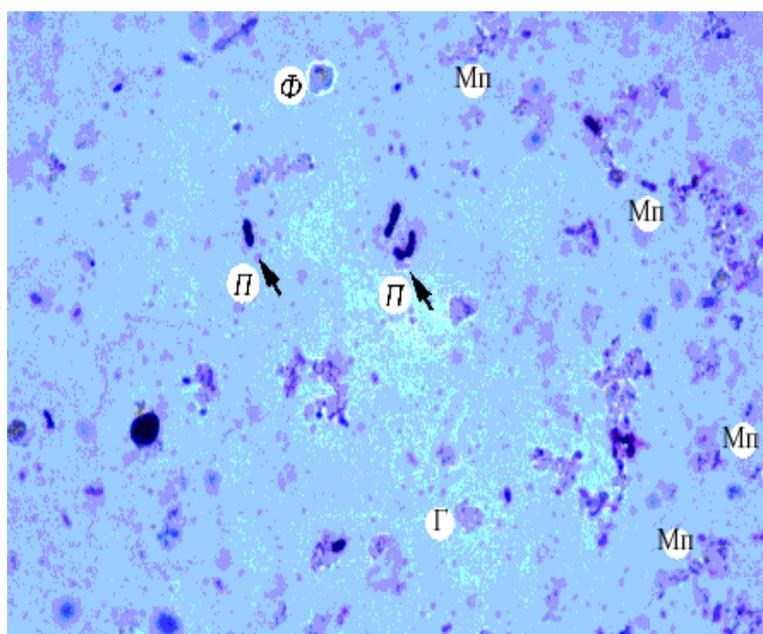


Рисунок 1 - Мазок инактивированной вакцины против пастереллеза птиц. Мелкие («Мп») и средние пастереллы (стрелка «П»), частица двузамещенного фосфорнокислого натрия («Ф»), глобулярная структура геля гидрата окиси алюминия («Г»). Окраска по Романовскому-Гимза. Увеличение 10 x 100, при цифровом швейцарском микроскопе марки LeicaDM 400 В с программным обеспечением «Морфология».

Кроме того, судя по численной популяции разрушенных мелких пастерелл и большому количеству агрегатов, следует указать на наибольшую лабильность их при взаимодействии с различными компонентами в процессе изготовления вакцины и окраски мазков, нежели средние и крупные пастереллы.

Средних размеров пастереллы в цельной, относительно интактной форме (на рисунке 1), идентичны тем, которые обнаруживаются в культурах на питательных средах до изготовления вакцины. Они аналогично окрашивались азуром в синий цвет, размер составил 0,8 x 1,1 мкм, количество их в одном поле зрения от 0 до 7 экземпляров попарно или в виде цепочки. Интенсивность окрашивания азуром была приблизительно одинаковой, в виде мелких пастерелл без цитопатических изменений. Как правило, у таких экземпляров были достаточно выражены контуры без нарушения целостности с сохранением цитоплазмы. Однако, одиночные пастереллы не имели контакта с глобулярными частицами геля гидроокиси алюминия.

Очень редко наблюдали выраженные изменения с нарушением клеточных оболочек и сильным отчетливым набуханием самой клетки с просветлением центральной части ее (на рисунке 3).

Крупные пастереллы с идентичной тинкториальной и с сохраненной целостностью их структур, как и средние, отличались лишь величиной, которая достигала от 2 x 1,1 мкм до 2,4 x 1,2 мкм.

Они чаще локализовались одиночно; в одном поле зрения встречалось от 1 до 2-х пастерелл. Иногда прослеживались резко выраженные морфологические изменения микробной клетки тотального и парциального характера, обнаруживаемые на светооптическом уровне.

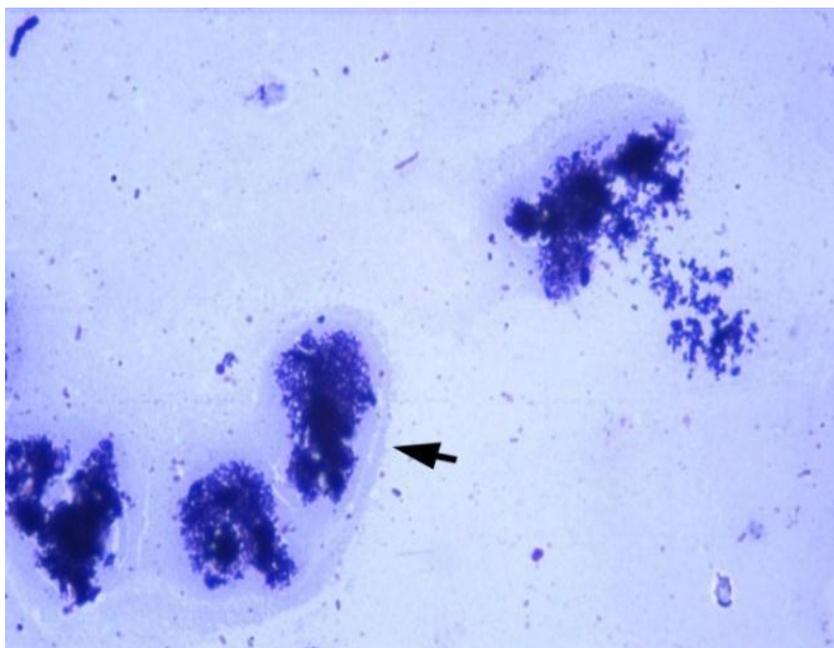


Рисунок 2 - Гранулярные агрегаты из разрушенных пастерелл с гелем (стрелка). Окраска по Романовскому-Гимза. Увеличение 10 x 100, при цифровом швейцарском микроскопе марки LeicaDM 400 B с программным обеспечением «Морфология».

В последнем случае отмечали частичное нарушение всех оболочек, набухание, разволокнение и образование коротких радиальных фибрилл на поверхности пастерелл. При этом также увеличивались контуры пастерелл в 1,5 раза (нежели интактные) как правило, они были лишены биполярности, цитоплазма их была сильно просветленной, с гомогенизацией и приобретением эозинофилии (на рисунке 3). Следует отметить, что средние и более крупные, сравнительно интактные, пастереллы вероятно имеют ультраструктурные изменения, не улавливаемые светооптическим микроскопом, хотя вариабельность циркулирующих в природе и референтных штаммов пастерелл по длине и ширине, также высокая - в пределах 0,4-1,2 мкм длины 0,3-0,4 мкм ширины.

Клеточная стенка измененных пастерелл в 3-4 раза увеличена, разрыхлена, разволокнена по продольной линии и по контуру бактерий перпендикулярно к горизонтальной поверхности оболочки. Оболочка расплывчата, местами или полностью не одинаково отчетлива в той части, где происходила деструкция. Следует отметить, что прилипание этих пастерелл к гелю гидроокиси алюминия, являющегося адсорбентом, нами не обнаружено. Следовательно, гель гидроокиси алюминия в глобулярной форме не проявляет адгезивных свойств к крупным пастереллам (на рисунках 1, 3).

Встречаемые при микроскопии фибриллы в мазках из вакцины можно разделить на две группы. В первой группе следует отметить обнаруживаемые нами остатки рыхлых компонентов состоящих из мышечных или периваскулярных соединительнотканых детритов (фрагментов) с более грубой и сравнительно короткой фибриллярной структурой, возможно возникающих после гидролиза, происходящего при изготовлении питательной среды Хоттингера (на рисунке 4).

В сети таких волокон можно увидеть одиночные, иногда расположенные кучками, пастереллы с различной морфо-тинкториальной характеристикой, что дает основание предполагать о возможности проявления ими пролонгирующего действия после парентеральной инокуляции вакцины на месте инъекции.

Во вторую группу фибриллярных структур можно отнести более длинные, нежные волокна, возможно реструктуризованные при взаимодействии с различными компонентами вакцины.

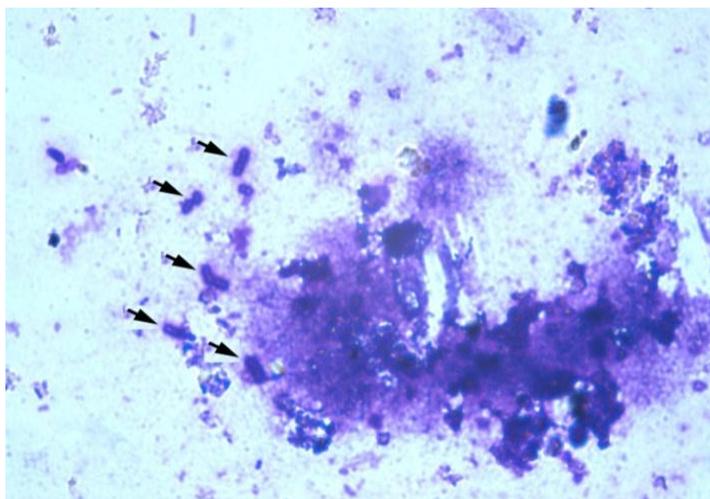


Рисунок 3 - Агрегаты с гелем. Крупные пастереллы в состоянии деструкции (стрелки). Окраска по Романовскому-Гимза. Увеличение 10 x 100, при цифровом швейцарском микроскопе марки LeicaDM 400 B с программным обеспечением «Морфология».

При этом фибриллярная структура тинкториально напоминает эозинфильность соединительной ткани, но, в отличие от первой группы фибриллярных структур, характерна слабой оформленностью структур и способностью к разволокнению и фрагментации. Считаем, что в репродукции и ресинтезе составных элементов фибриллярной структуры второй группы, возможно, также участвует полипотентный композиционный состав, состоящий из многих биохимических веществ тканевой, гуморальной и бактериальной природы. Как правило, они эозинфильны с неоднородной оптической плотностью, достигают длины до 135 мкм с толщиной отдельных волокон - 1 или 2 мкм (на рисунке 4).

В биопрепарате немаловажное значение имеет дисперсность марки гидроокиси алюминия оказывающая влияние на пролонгацию иммуногенеза совместно с другими компонентами. В этой связи правильность подбора депонатора для конструируемой вакцины требует особого внимания.

В мазках, приготовленных из жидкой инактивированной вакцины, и окрашенных по Романовскому-Гимза, самые мелкие частицы глобулярной формы встречались довольно часто среди скопления из бактериальных клеток и фибриллярных структур.

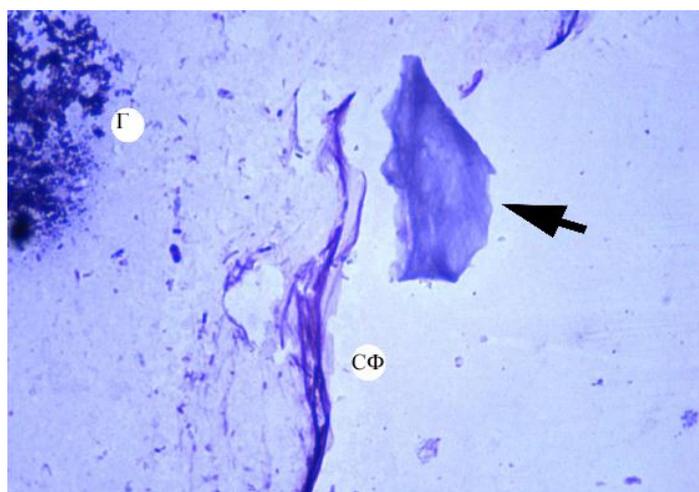


Рисунок 4 - Соединительнотканые фибриллы («СФ»). Частица химического вещества (стрелка) и глобулярное скопление пастерелл («Г»). Окрашено по Романовскому-Гимза. Увеличение 10 x 100, при цифровом швейцарском микроскопе марки LeicaDM 400 B с программным обеспечением «Морфология».

Как правило, эти частицы были лишены тинкториальной активности по отношению к азуру. Это свойство оставалась неизменным и во флаконах, где слой из геля гидроокиси сохранял исходную структуру, однородность и цвет на дне флакона с биопрепаратом. Измерение размеров частиц геля гидроокиси алюминия показало колебания их от 0,8 x 0,8 мкм до 2 мкм.

Для сопоставления морфологических структур геля гидроокиси алюминия добавленного в качестве депонатора в вакцину провели морфологический анализ путем микроскопии нативного порошка.

Нативный мелкодисперсный порошок – гидроокись алюминия $[Al(OH)_3]$ ТУ 6-09-3714-74 Донецкого завода химреактивов визуально представлен безупречно белой, однородной структурой и массой, напоминающей консистенцию муки, а при микроскопии состоял из однородных частиц размером от 1 x 1 мкм до 2 x 1,8 мкм и мелких глобулярных форм величиной 0,8 x 0,8 мкм.

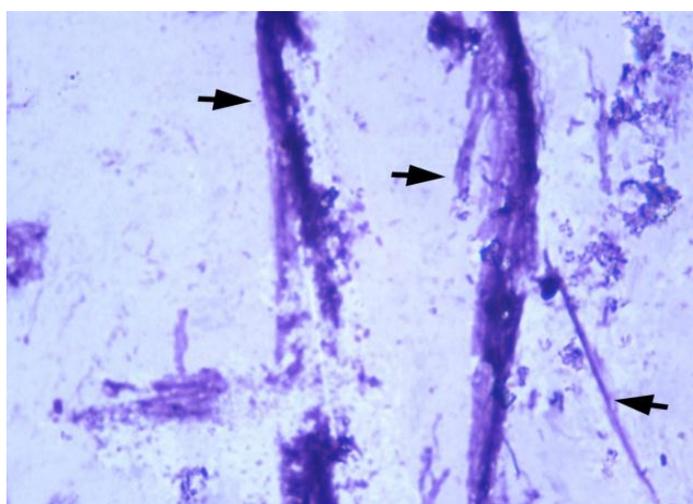


Рисунок 5 - Структуризация фибрилл (стрелки). Окраска по Романовскому-Гимза. Увеличение 10 x 100, при цифровом швейцарском микроскопе марки LeicaDM 400 В с программным обеспечением «Морфология».

В поле зрения они встречались в виде гроздьев, прилипших друг к другу. При увеличении 10 x 100 они выглядят с темным контуром и просветленным центром. Однако, среди них не обнаружено каких-либо других частиц в виде кристаллов, которые были обнаружены в мазках из вакцины.

Адгезивная активность геля гидроокиси алюминия по всей вероятности, проявляется не только с самими мельчайшими пастереллами в различной степени дезинтеграции, но и соединяется со многими биохимическими компонентами: белково-углеводными, липидными (полисахаридными) и другими комплексами, часть которых является продуктами жизнедеятельности пастерелл. На наш взгляд депонирующее и пролонгирующее действия инактивированной вакцины возникает также за счет оптимального количества геля путем механического соприкосновения и задержкой между гелиевыми частицами пастерелл.

Косвенным подтверждением о недостаточной адгезивной активности частиц гидроокиси по отношению цельным пастереллам можно объяснить и скопление слоя белого осадка со слабым сероватым оттенком на дне флакона с вакциной.

В числе солей и других ингредиентов в вакцине хорошей растворимостью обладают NaCl, дрожжевой экстракт, сахароза, глюкоза, двузамещенный фосфорнокислый натрий (12 водный, чда, $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$, ГОСТ 4 (72-76)). Из перечисленных компонентов

следует отметить, что кристаллы некоторых из них могут оставаться в небольшом количестве в готовой вакцине, что и побудило к описанию отдельных частиц.

Предварительной проверкой на растворимость в дистиллированной воде, а также в ходе биотехнологических процессов приготовления неорганических компонентов, растворение этих препаратов визуально было не продолжительным.

Микроскопия нативного порошка или осадка раствора двузамещенного фосфорнокислого натрия (0,9 мас.%) показала неоднородность частиц по размеру, по форме и блеску. Крупинки вещества были рассмотрены в двух вариантах освещенности естественным и искусственным светом с матовым фильтром. В первом случае различие по величине доминирующему количеству частицы с безупречно чистым и однородно белым цветом напоминают пушистый снег с мелкозернистой поверхностью со слабо заметным блеском. В тоже время, иногда встречаются кристаллоподобные, полиморфные, более прозрачные, укрупненные, иногда визуально выглядевшие как мелкокораздробленный лед, цвет и консистенция которых напоминает «тонкий прозрачный лед на горной речке».

При искусственном освещении описываемые микро- и макроструктуры обладали свойством аутолюминесценции: «снежные» - темно-синие, а «ледяные» - прозрачно-синие и при более высокой освещенности – черно-синие оттенки.

Таким образом, частицы двузамещенного фосфорнокислого натрия при микроскопировании с искусственным освещением были более темные, иногда с синеватым оттенком и различной величины. Более плотные из них, возможно, являются «ледяными», которые трудно растворяются в сложной по составу вакцине. В приготовленном 0,5%-ном растворе его на горячей воде на дне посуды оставался опалесцирующий рыхлый осадок. Дериваты его частиц через 4 часа после приготовления раствора представлены в форме перекрещенных иголок с острыми концами, а также «ледяных» форм, что свидетельствует об идентичных описанных в исходном нативном материале размерах, соответственно - 1 x 110 мкм и 2,5 x 6,3 мкм.

Из числа обследованных солей и соединений (NaCl, 40%-ая глюкоза, сахароза (4,0 мас.%) микроскопией реструктуризацию в виде кристаллов отличали только в высушенном состоянии хлористого натрия (0,5 мас.%). При этом отличали образования иголок, кубиков и крупных пирамид – кристаллов, которых не могли найти в вакцине. Морфоструктура иголок-кристаллов была идентичной, как и в растворе двузамещенного фосфорнокислого натрия.

Среди многообразия морфологических структур изучаемой вакцины встречались более крупные и плотные частицы двузамещенного фосфорнокислого натрия с многогранностью их поверхности. Этот препарат добавляют в качестве буфера в состав питательной среды в биопрепарате. Обнаруживаемые довольно редко частицы в исследуемых мазках из вакцины характеризовались неравномерной поверхностью, различной величиной - от 23 до 25 мкм, а иногда кристаллоподобностью и прозрачностью частиц, достигающих до 50 x 70 мкм. Углы частиц - чаще притупленные, часть их окрашивались азуром от светло-синего до темно-синего цвета, наличием на их поверхности в различной стадии дезинтеграции, очень мелких пастерелл с феноменом адсорбции (на рисунке 5). Наряду с описанными выше свойствами частиц имели место также более светлые частицы, почти не окрашенные азуром, идентичные по структуре кристаллам, следовательно, с отсутствием у них феномена адгезии к азур и пастереллам (на рисунке 6).

Эти данные свидетельствуют, что не все частицы двузамещенного фосфорнокислого натрия в вакцине, под действием каких-то факторов, остаются не растворенными полностью. Предположительно можно сказать, что мелкие частицы имеют более плотную и сильно вариабельную структуру.

Что касается исходного материала из чего был приготовлен дрожжевой экстракт, то при микроскопии он состоял из мелких, средних и крупных, однородных по структуре целых дрожжевых клеток от светло-серого до светло-зеленоватого оттенков. Крупные клетки из их числа имели двухконтурную оболочку. В мазках из вакцины нам не удалось их обнаружить, так как они остаются на фильтре после фильтрации исходного материала. В ходе

светооптического исследования морфологического состава вакцины в поле зрения иногда обнаруживали также наличие темно-желтых полиморфных частиц, напоминающих остатки желатина или агаровых детритов.

Кроме того, в процессе контроля серий препарата возникает необходимость проверки его на наличие посторонней микрофлоры путем микроскопии мазков из вакцинного субстрата, так как эта часть биологического контроля не может быть решена другими методами с учетом того, что конечный продукт перед разливом во флаконы подвергают автоклавированию при температуре 120 °С в течение 30 минут.

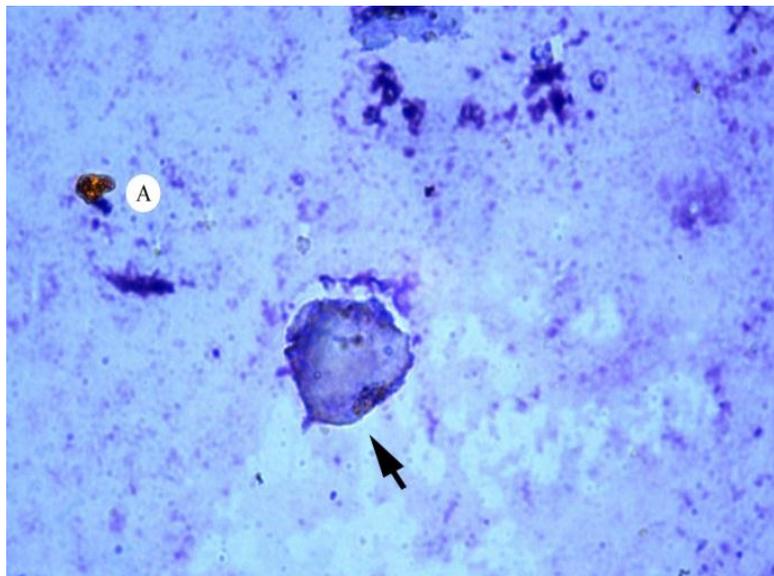


Рисунок 6 - Частица кристалла двузамещенного фосфорнокислого натрия (стрелка). Детрит агара («А») на фоне гелевых структур. Окрашено по Романовскому-Гимза. Увеличение 10 x 100, при цифровом швейцарском микроскопе марки LeicaDM 400 В с программным обеспечением «Морфология».

Выводы

Полученные данные могут быть использованы при контроле различных живых и неживых вакцин со сложным составом ингредиентов, включающим пролонгаторы, стабилизаторы, сорбенты, иммуностимуляторы и выяснении характера их взаимоотношений в составе конечного продукта, а также для полной характеристики используемой вакцины или же при выяснении вредных и безвредных, иммуногенных, или реактогенных свойств *in vitro*.

Выявлены остатки, способные сохранить в виде фрагментов исходной фибриллярной структуры отдельного биологического субстрата, входящего в состав вакцины в качестве биостимулятора неспецифического фактора иммунитета.

Таким образом, изучение морфологического состава биологических препаратов на модели вакцины против пастереллеза птиц со сложным биохимическим составом показало наличие сохранности многих микроскопических структур, что позволяет судить о первоначальных компонентах нерастворимых частиц и детритов или же их дериватов после сложных биотехнологических и биохимических процессов *in vitro*.

Список литературы

1. Умитжанов М., Даутпаева З.Ж., М.С. Джубандыкова. Инактивированная вакцина против пастереллеза птиц. Предварительный патент Республики Казахстан № 12708, от 17. 02. 2003, Бюл. № 2.- 4 с.

2. Umizhanov M., Kushaliev K.Zh. et al. Testing morphological composition of inactivated vaccine against avian pasteurellosis Life Science Journal Том.11, №9, 2014; Introduction; ISSN:1097-8135; Impact Factor 2012:0.165.-С.363-368
3. Umizhanov M., Kushaliev K.Zh. et al. Microstructural changes in the body of chickens in response to the introduction of liquid inactivated vaccine against pasteurellosis of birds. Life Science Journal Том.11, №5, 2014; Introduction; ISSN:1097-8135; Impact Factor 2012:0.165.-С.251-254
4. Гусев А.А., Русалеев В.С., Сосницкий А.И., Гневашев В.М., Прунтова О.В. Способ изготовления эмульсионной противопастереллезной вакцины. Патент RU 2 162 339 С1; А61К 39/102, А61L2/16 С 12 N1/00.- 2001
5. Бородина О.В. Разработка инактивированной эмульсионной вакцины против пастереллеза птиц.- Саратов, 2005.- С.20.-Авторыф. дисс. к.б.н.
6. Леонов А.В. Разработка и испытание сухой живой вакцины против пастереллеза птиц.- Оболенск, 2005.-С.20.- Авторыф. дисс. к.б.н.
7. Рождественская Т.Н. Создание комплексной системы профилактики бактериальных болезней птиц в хозяйствах промышленного типа.- Санкт-Петербург, 2011.-С.52.- Авторыф. дисс. д.в.н.
8. Новикова О.Б. Разработка способов профилактики и усовершенствование методов диагностики бактериальных болезней птиц.- Санкт-Петербург, 2021.-С.45.- Авторыф. дисс. д.в.н.
9. Brito J.B., Piffer I.A., Wentz I., Brito M.A. Capsular types and toxin producing by strain of *P.multocida* isolated from pigs in Southern Brazil// Ref. micrbiol., 1993 v.24 N2 p.94-97.
10. Омарбекова У.Ж., Эбутәліп Ә., Айтқұлова А., Әбиев М. Бруцеллезге қарсы *B.abortus* 19 вакцинасымен егілген әртүрлі жастағы қашарлардың иммунологиялық жауабы.- Изденістер, Нәтижелер, 2020.-№2.-С.57-59

References

1. Umizhanov M., Dautpaeva Z.ZH., M.S. Dzhubandykova. Inaktivirovannaya vaksina protiv pasterelleza ptits. Predvaritel'nyj patent Respubliki Kazakhstan № 12708, ot 17. 02. 2003, Byul. № 2.- 4 s.
2. Umizhanov M., Kushaliev K.Zh. et al. Testing morphological composition of inactivated vaccine against avian pasteurellosis Life Science Journal Том.11, №9, 2014; Introduction; ISSN:1097-8135; Impact Factor 2012:0.165.-S.363-368
3. Umizhanov M., Kushaliev K.Zh. et al. Microstructural changes in the body of chickens in response to the introduction of liquid inactivated vaccine against pasteurellosis of birds. Life Science Journal Том.11, №5, 2014; Introduction; ISSN:1097-8135; Impact Factor 2012:0.165.-S.251-254
4. Gusev A.A., Rusaleev V.S., Sosnitskij A.I., Gnevashev V.M., Pruntova O.V. Sposob izgotovleniya ehmul'sinovej protivopasterelleznoj vaksiny. Patent RU 2 162 339 S1; A61K 39/102, A61L2/16 S 12 N1/00.- 2001
5. Borodina O.V. Razrabotka inaktivirovannoj ehmul'sionnoj vaksiny protiv pasterelleza ptits.- Saratov, 2005.- S.20.-Avtoref. diss. k.b.n.
6. Leonov A.V. Razrabotka i ispytanie sukhoy zhivoj vaksiny protiv pasterelleza ptits.- Obolensk, 2005.-S.20.- Avtoref. diss. k.b.n.
7. Rozhdestvenskaya T.N. Sozdanie kompleksnoj sistemy profilaktiki bakterial'nykh boleznej ptits v khozyajstvakh promyshlennogo tipa.- Sankt-Peterburg, 2011.-S.52.- Avtoref. diss. d.v.n.
8. Novikova O.B. Razrabotka sposobov profilaktiki i usovershenstvovanie metodov diagnostiki bakterial'nykh boleznej ptits.- Sankt-Peterburg, 2021.-S.45.- Avtoref. diss. d.v.n.
9. Brito J.B., Piffer I.A., Wentz I., Brito M.A. Capsular types and toxin producing by strain of *P.multocida* isolated from pigs in Southern Brazil// Ref. micrbiol., 1993 v.24 N2 p.94-97.
10. Omarbekova U.ZH., Abutalip A., Ajtkulova A., Abiev M. Brutsellezge karsy *B.abortus* 19 vaksinasymen egilgen arturli zhastagy kasharlardyn immunologiyalyk zhauaby.-Izdenister, Natizheler, 2020.-№2.-S.57-59

М. Умитжанов, О.Т. Туребеков, Г.К. Омарбекова, Г.Е. Мухитдинова*
Қазақ ұлттық аграрлық зерттеу университеті, Алматы қ. Қазақстан Республикасы,
m.umitzhanov@mail.ru, orken_tur@mail.ru, super.flores@mail.ru, Gulnare-07@mail.ru*

ҚҰСТАРДЫҢ ПАСТЕРЕЛЛЕЗІНЕ ҚАРСЫ БЕЛСЕНДІЛІГІ ЖОЙЫЛҒАН ВАКЦИНАНЫҢ МОРФОЛОГИЯЛЫҚ ҚҰРАМЫН ТЕСТІЛЕУ

Аңдатпа

Алынған деректер пролонгаторларды, тұрақтандырғыштарды, сорбенттерді, иммуностимуляторларды қамтитын ингредиенттердің күрделі құрамы бар әртүрлі тірі және тірі емес вакциналарды бақылау және олардың түпкілікті өнім құрамындағы өзара қарым-қатынасының сипатын анықтау кезінде, сондай-ақ пайдаланылатын вакцинаның толық сипаттамасы үшін немесе *in vitro*-ның зиянды және зиянсыз, иммуногендік немесе реактогендік қасиеттерін анықтау кезінде пайдаланылуы мүмкін.

Иммунитеттің спецификалық емес факторының биостимуляторы ретінде вакцинаның құрамына кіретін жеке биологиялық субстраттың бастапқы фибриллярлық құрылымының фрагменттері түрінде сақталатын қалдықтар анықталды.

Осылайша, күрделі биохимиялық құрамы бар құстардың пастереллезіне қарсы вакцина моделіндегі биологиялық препараттардың морфологиялық құрамын зерттеу көптеген микроскопиялық құрылымдардың сақталуын көрсетті, бұл *in vitro* күрделі биотехнологиялық және биохимиялық процестерінен кейін ерімейтін бөлшектер мен детриттердің немесе олардың туындыларының бастапқы компоненттерін бағалауға мүмкіндік береді.

Вакциналық субстраттың морфологиялық құрамы Leicadm-400V сандық микроскопында зерттелді.

Бүгінгі күнге дейін құстардың пастереллезіне қарсы белсенді емес вакциналар тексерілмеген және зерттелмеген, тек қана М.Умитжанов және К.Ж.Күшаліев т.б. ұсынған вакциналарын қоспағанда [2-3].

Басқа жағдайларда біз басқа авторлар ұсынған белсенді емес вакцинаның микроскопиялық құрылымдарының қауіпсіздігі туралы айтуға мүмкіндігіміз жоқ. Бұл келесі биологиялық препараттарға қатысты, атап айтқанда А.А.Гусевтің, В.С.Русалеевтың, А.И.Сосниқидің, В.М.Гневашеваның, О.В.Прунтованың «Пастереллезге қарсы эмульсиялық вакцинаны жасау әдісі»; О.В.Бородинаның «Құстардың пастереллезіне қарсы белсенді емес эмульсиялық вакцинаны жасау»; А.В.Леоновтың «Құстардың пастереллезіне қарсы құрғақ тірі вакцинаны жасау және сынау»; Т.Н. Рождественскаяның «Өнеркәсіптік типтегі фермаларда құстардың бактериялық ауруларының алдын алудың кешенді жүйесін құру»; О.Б.Новикованың «Құстардың бактериялық ауруларының алдын алу әдістерін жасау және жетілдіру» вакциналарын айтуға болады. Жоғарыда аталған авторлар белсенді емес вакциналар бойынша морфологиялық құрамын сипаттамайды, тек олардың тиімділігі туралы ақпараттар ұсынған [4-10].

Кілт сөздер: белсенділігі жойылған вакцинаның морфологиялық құрамын тестілеу, *Pasteurella multocida*, 6% алюминий гидратаоксиді гелі, амин азоты, жылқы қанының сарысуы, сахароза, NaCl, екі алмастырылған натрий фосфор қышқылы, 40% глюкоза.

М. Umitzhanov, O.T. Turebekov, G.K. Omarbekova, G.Ye. Mukhitdinova*
Kazakh national agrarian research university, Almaty, Republic of Kazakhstan,
m.umitzhanov@mail.ru, orken_tur@mail.ru, super.flores@mail.ru, Gulnare-07@mail.ru*

TESTING OF MORPHOLOGICAL COMPOSITION OF INACTIVATED AVIAN PASTEURELLOSIS VACCINE

Abstract

The obtained data can be used in the control of various live and inanimate vaccines with a complex composition of ingredients, including prolongators, stabilizers, sorbents,

immunostimulants and to clarify the nature of their relationships in the composition of the final product, as well as for the full characteristics of the vaccine used or in the clarification of harmful and harmless, immunogenic, or reactogenic properties in vitro.

Residues capable of preserving in the form of fragments of the initial fibrillar structure of a separate biological substrate included in the vaccine as a biostimulator of a nonspecific immunity factor were identified.

Thus, the study of the morphological composition of biological preparations on the model of a vaccine against avian pasteurellosis with a complex biochemical composition has shown the preservation of many microscopic structures, which allows us to judge the initial components of insoluble particles and detritus or their derivatives after complex biotechnological and biochemical processes in vitro.

The morphological composition of the vaccine substrate was studied using a Leica DM-400B digital microscope.

The inactivated vaccines against avian pasteurellosis that exist to date have not been tested and studied, with the exception of the inactivated vaccine against avian pasteurellosis proposed by the authors M.Umitzhanov, K.Zh.Kushaliev et. al. [2-3].

In other cases, we do not have the opportunity to talk about the preservation of microscopic structures of the inactivated vaccine proposed by other authors. This applies to the following biological preparations, in particular to the developed vaccines Gusev A.A., Rusaleev V.S., Sosnitsky A.I., Gnevashev V.M., Pruntova O.V.; Borodina O.V.; Leonova A.V.; Rozhdestvenskaya T.N.; Novikova O.B. For the above-mentioned inactivated vaccines, the authors do not describe morphologically the composition, but only provide information on their effectiveness [4-10].

Key words: Testing of morphological composition of inactivated vaccine, *Pasteurellamultocida*, 6% aluminum oxide hydrate gel, amine nitrogen, equine blood serum, sucrose, NaCl, sodium bicarbonate, 40% glucose.